

**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE**  
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové  
Katedra farmakologie a toxikologie

**Platinová cytostatika ve farmakoterapii nádorů**

Diplomová práce

**Vedoucí diplomové práce: PharmDr. Martina Čečková, Ph.D.**

Hradec Králové 2012

Gleb Kritman

## Prohlášení

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpal, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Tato práce nebyla použita k získání jiného či stejného titulu.

V Hradci Králové dne \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_ podpis studenta

## Poděkování

Rád bych na tomto místě poděkoval své vedoucí PharmDr. Martině Čečkové, Ph.D. za odborné vedení diplomové práce a čas strávený při konzultacích.

Univerzita Karlova v Praze

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmakologie a toxikologie

Student: Gleb Kritman

Školitel: PharmDr. Martina Čečková, Ph.D.

Název diplomové práce: Platinová cytostatika ve farmakoterapii nádorů

Platinová cytostatika se v současné době řadí k nejpoužívanějším protinádorovým léčivům. V mnoha indikacích jsou základem chemoterapeutických režimů. Cisplatina, jakožto první objevená látka z této skupiny cytostatik, byla původně registrována pro léčbu zhoubného nádoru varlat a vaječníků, ale v současné době je využívána v mnoha dalších indikacích. Omezujícím faktorem spojeným s podáním cisplatiny jsou nežádoucí účinky a rozvoj rezistence v původně citlivých nádorových buňkách. Tyto faktory podnítily další výzkum na poli platinových cytostatik s cílem vytvořit látky s podobným mechanismem účinku, ale s lepšími vlastnostmi. Do dnešního dne více než třicet látek vstoupilo do klinických studií, ale pouze dvě z nich jsou používány celosvětově – karboplatina a oxaliplatina. Cílem této práce je vytvořit publikaci, která shrnuje poznatky o platinových cytostaticích, která jsou v současné době využívána ve farmakoterapii nádorů. Tato práce se zaměřuje především na porovnání jednotlivých zástupců mezi sebou podle několika měřítek (mechanismy účinku, mechanismy rezistence, farmakokinetika, rozvoj nežádoucích účinků a terapeutické zařazení). Pochopení souvislosti mezi strukturou látek, buněčnými pochody, mechanismy rezistence a výsledného terapeutického zařazení platinových cytostatik je důležité pro budoucí výzkum, který může být zaměřen na překonání rezistence, zmírnění nežádoucích účinků a zvýšení účinnosti platinových sloučenin ve farmakoterapii nádorů.

Charles University in Prague

Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of Pharmacology & Toxicology

Student: Gleb Kritman

Supervisor: PharmDr. Martina Čečková, Ph.D.

Title of diploma thesis: Platinum cytostatics in the pharmacotherapy of cancer

Platinum cytostatics belong currently to the most widely used anticancer drugs. They are involved as a part of chemotherapy regimens in many indications. Cisplatin, as a first substance discovered in this group of cytostatics, was originally registered for the treatment of testicular cancer and ovarian cancer, but it is currently used in many other indications. The limiting factor associated with the administration of cisplatin is represented by adverse effects and the development of resistance in previously sensitive tumor cells. These factors stimulated further research in the field of platinum compounds in order to create a substance with similar mechanism of action, but better properties. To date, more than thirty agents entered clinical trials, but only two of them are used worldwide - carboplatin and oxaliplatin. The aim of this thesis is to create a publication that summarizes current knowledge on platinum cytostatics, which are used in the pharmacotherapy of cancer. This work focuses especially on the comparison between the various representatives under several scales (modes of action, mechanisms of resistance, pharmacokinetics, adverse effects and application in therapy). Understanding the relation between the structure of substances, cellular processes, mechanisms of resistance and therapeutic use of platinum drugs is important for the future research that may be focused on overcoming of resistance, minimization of adverse effects and increase of the efficiency of platinum compounds in pharmacotherapy of tumors.

## Obsah

I. Tabulka zkratk.....	1
II. Úvod a cíle práce .....	2
III. Teoretická část.....	3
1. Vývoj platinových cytostatik od objevení po současnost.....	3
2. Mechanismus účinku platinových cytostatik.....	9
2.1 Intracelulární aktivace .....	9
2.2 Vazba platinových cytostatik na cílové struktury v buňce.....	10
2.3 Buněčná odpověď .....	12
3. Farmakokinetika platinových cytostatik.....	17
3.1 Absorpce .....	17
3.2 Distribuce .....	17
3.3 Eliminace.....	20
4. Nežádoucí účinky spojené s léčbou platinovými cytostatiky .....	22
4.1 Nefrotoxicita .....	22
4.2 Neurotoxicita .....	25
4.3 Ototoxicita .....	28
4.4 Nausea a zvracení .....	29
4.5 Myelotoxicita .....	31
5. Mechanismus rezistence nádorových buněk vůči platinovým cytostatikům.....	33
5.1 Snížení akumulace platinových cytostatik v buňce .....	33
5.2 Zvýšená inaktivace platinových cytostatik.....	34
5.3 Zvýšení opravy poškozené DNA .....	36
5.4 Zvýšená tolerance vůči DNA poškození.....	38
5.5 Vliv p53 na rezistenci .....	39

5.6	Inhibice apoptózy .....	40
6.	Indikace platinových cytostatik.....	43
6.1	Zhoubné nádory varlat .....	43
6.2	Nádor vaječníků .....	45
6.3	Další gynekologické nádory .....	47
6.4	Kolorektální karcinom.....	48
6.5	Zhoubné nádory plic.....	50
6.6	Ostatní nádory.....	51
IV.	Diskuse .....	53
V.	Závěr.....	55
VI.	Seznam použité literatury.....	57

## I. Tabulka zkratk

<b>ATP7A/ATP7B</b>	–	efluxní transportéry mědi
<b>Ctr1</b>	–	influxní transportér mědi
<b>DACH</b>	–	diaminocyklohexanová skupina
<b>ESMO</b>	–	Evropská společnost klinické onkologie
<b>HMGB</b>	–	z angl. High-mobility group box, proteiny, které rozpoznávají adukt, součást mechanismu účinku platinových cytostatik
<b>hMut<math>\alpha</math></b>	–	heterodimér účastnící se MMR, rozpoznává adukty
<b>MAPK</b>	–	z angl. mitogen-activated protein kinases, rodina kináz, které se účastní mnoha buněčných pochodů
<b>MATE</b>	–	z angl. multidrug and toxin extrusion, efluxní kationový transportér z rodiny SLC
<b>MMR</b>	–	z angl. mismatch repair, mechanismus korekce špatně spárovaných bází
<b>MRP</b>	–	z angl. multidrug resistance-associated proteins, C podskupina ATP-vazebných membránových transportérů (zahrnuje členy MRP1-9)
<b>NER</b>	–	nukleotidová excizní oprava
<b>NF-<math>\kappa</math>B</b>	–	nukleární faktor kappa B, protein účastnící se apoptózy
<b>NSCLC</b>	–	nemalobuněčný karcinom plic
<b>OCT</b>	–	z angl. organic cation transporter, influxní kationové transportéry z rodiny SLC (zahrnují členy OCT1-OCT3)
<b>ROS</b>	–	reaktivní formy kyslíku
<b>SCLC</b>	–	malobuněčný karcinom plic
<b>SLC</b>	–	z angl. solute carriers, rodina transportních proteinů včetně OCT a MATE transportérů
<b>XIAP</b>	–	z angl. X-linked intracellular anti-apoptotic proteins, protiapoptický protein



## II. Úvod a cíle práce

Novotvary jsou druhou nejčastější příčinou úmrtí ve světě hned po nemocech oběhové soustavy. Nádorové bujení je výsledkem deregulace buněčných pochodů vedoucích ke spouštění apoptózy. Použití látky, která by byla schopna svým účinkem apoptózu spustit, vede k zastavení nekontrolovatelného množení. Mechanismus účinku platinových cytostatik je založen na tvorbě aduktů, tedy vazby centrálního atomu platiny s DNA. Tento adukt způsobuje konformační změny ve struktuře DNA a blokuje transkripci a replikaci. Takto poškozená DNA spouští signální kaskádu, jejímž výsledkem je apoptóza.

Objev cisplatin, jakožto prvního platinového cytostatika, výrazně zlepšil prognózu pacientů s některými typy nádorů. I přes nesporný úspěch cisplatin existují faktory, které omezují její používání. Jedním z faktorů je rozvoj závažných nežádoucích účinků v průběhu léčby nebo po jejím ukončení. Dalším faktorem je vrozená nebo získaná rezistence nádorových buněk vůči ní. Vývoj platinových cytostatik se tedy v průběhu let zaměřoval na odstranění nežádoucích účinků a překonání rezistence. Historie platinových cytostatik je více než čtyřicet let stará, ovšem v současné době jsou v ČR registrovány léčivé přípravky s obsahem pouze tří látek ze skupiny platinových cytostatik: cisplatina, karboplatina a oxaliplatina. Tato platinová cytostatika jsou základem chemoterapeutických režimů v mnoha indikacích, kde se používají buď v monoterapii, nebo i v terapii kombinované. Účinnost těchto režimů se výrazně liší podle typu nádoru a klinického stadia onemocnění.

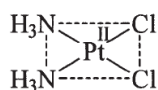
Cílem této práce je vytvořit publikaci, která shrnuje poznatky o platinových cytostaticích, které jsou v současné době využívány ve farmakoterapii nádorů. Tato práce se zaměřuje na porovnání jednotlivých zástupců mezi sebou podle několika měřítek (mechanismy účinku, mechanismy rezistence, farmakokinetika, rozvoj nežádoucích účinků a terapeutické zařazení). Shromáždění těchto informací v jedné publikaci může vést k lepšímu pochopení spojitosti mezi jednotlivými kroky vedoucími k odlišným odpovědím při léčbě platinovými cytostatiky.

### III. Teoretická část

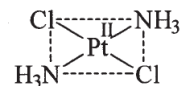
#### 1. Vývoj platinových cytostatik od objevení po současnost

##### *Cisplatina*

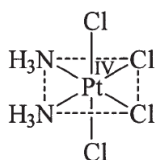
Cytotoxická aktivita platinových cytostatik byla objevena v průběhu pokusu, ve kterém se zkoumal vliv elektrického pole na růst *E. Coli* za použití platinové elektrody. Zjistilo se, že během pokusu vlivem elektrochemické reakce došlo k tvorbě sloučeniny s chemickým vzorcem  $[\text{Pt}^{\text{IV}}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_4]$ , která způsobovala hynutí buněk. V průběhu dalšího výzkumu se zjistilo, že tato sloučenina se vyskytuje ve dvou stereoizomerech *cis* a *trans*, z nichž účinný je *cis*-izomer. Od výše uvedené čtyřvalentní sloučeniny byla odvozena i dvouvalentní sloučenina s geometrickým uspořádáním *cis*, která měla obdobné účinky jako její předchůdce (1). Strukturální vzorce stereoizomerů jsou uvedeny na obr. 1.



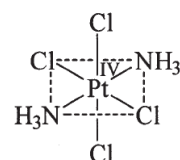
**cis-diamminedichloroplatina**



**trans-diamminedichloroplatina**



**cis-tetrachlorodiammineplatina**



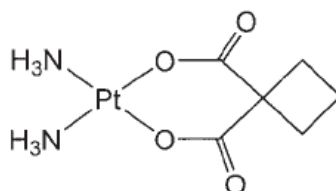
**trans-tetrachlorodiammineplatina**

**Obr. 1: Strukturální vzorce *cis*- a *trans*-izomerů sloučenin platiny.**

Další výzkum byl zaměřen na účinnost těchto látek vůči nádorovým buňkám. Zjistilo se, že sloučeniny platiny potlačují růst buněk myšního sarkomu S-180 a myších leukemických buněk L1210 (2). Následovala řada studií a pokusů na savčích buňkách a výsledkem byla registrace cisplatiny u FDA (Food and Drug Administration) v roce 1978 pod názvem Platinol<sup>®</sup>, a to v indikacích: metastazující rakovina vaječníků a varlat (3).

### **Karboplatina**

Podání cisplatiny bohužel s sebou nese i určitá úskalí v podobě závažných nežádoucích účinků (nefro-, neuro-, ototoxicita, silná nauzea a zvracení) viz kapitola 4. Právě tato skutečnost vedla ke snaze vyvinout cytostatikum odvozené od cisplatiny, které by bylo bezpečnější, ale srovnatelně účinné. Předpokládalo se, že čím rychleji probíhá hydrolyza odstupující skupiny, tím větší je výsledná toxicita látky. Vývoj nového platinového cytostatika proto směřoval k tomu, aby odstupující skupina byla hydrolyzována pomaleji než v případě cisplatiny (4), což se podařilo zavedením cyklobutandikarboxylu na místo odstupující skupiny (5) viz obr. 2. Tato látka byla vyvinuta v osmdesátých letech v ICR (Institute of Cancer Research) v Londýně (4) a následně byla v roce 1983 představena na symposiu ISPC (International Symposia on Platinum Coordination Compounds in Cancer Chemotherapy) v Burlingtoně pod názvem karboplatina (6). V porovnání s cisplatinou je karboplatina méně nefro- i neurotoxická než cisplatinou, bohužel je ale mnohem více myelotoxická, viz kapitola 4.5 (7). Karboplatina byla schválena k léčbě nádoru vaječnicků v roce 1985 ve Velké Británii a Kanadě, a následně v roce 1988 v USA (8).

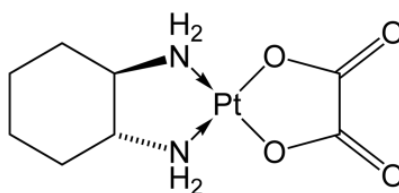


**Obr. 2: Strukturní vzorec karboplatiny.**

### **Oxaliplatin**

Cisplatinu se používá v mnoha indikacích jako lék první volby. Bohužel při léčbě nádorů, které nereagují na cisplatinu, nebo v případě relapsu a vzniku rezistence na ní je použití cisplatinu neefektivní a prognóza je špatná (9). Vývoj platinových cytostatik směřoval tedy nejen k omezení nežádoucích účinků, které se vyskytují při podání cisplatinu, ale i k tomu, aby nově vyvinuté léky dokázaly překonat rezistenci nádorových buněk vůči cisplatině a také karboplatině, která s ní má zkříženou rezistenci (10). První látkou, která byla schválena k použití a nemá

zkříženou rezistenci s cisplatinou je oxaliplatina. Oxaliplatina patří do tzv. DACH rodiny platinových cytostatik (odvozeno od diaminocyklohexanové skupiny). První syntetizované látky patřící do této rodiny měly slibnou protinádorovou aktivitu, ovšem klinické použití bylo omezeno z důvodu jejich malé rozpustnosti ve vodě. Úpravami prototypů byla odvozena oxaliplatina, která vykazovala dobrou protinádorovou aktivitu, a dostatečnou rozpustnost ve vodě (9). Poprvé byla oxaliplatina připravena v roce 1979 profesorem Yoshinori Kidani z Nagoya City University, Japonsko (8). První registrace oxaliplatiny proběhla ve Francii v roce 1996, následně v USA v roce 2002 a v Japonsku v roce 2005 pod názvem Eloxatin<sup>®</sup> – Sanofi-Aventis (5).

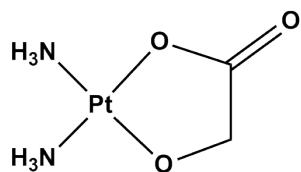


**Obr. 3: Strukturní vzorec oxaliplatiny.**

Snaha o vylepšení vlastností cisplatinu vedla k vývoji mnoha dalších látek odvozených od tohoto léku. Více než 30 z nich vstoupilo do klinických studií (11), pouze dvě (karboplatina a oxaliplatina) jsou globálně schváleny k použití a další tři (nedaplatina, lobaplatina, heptaplatina) jsou schváleny pouze v jedné zemi (5).

### ***Nedaplatina***

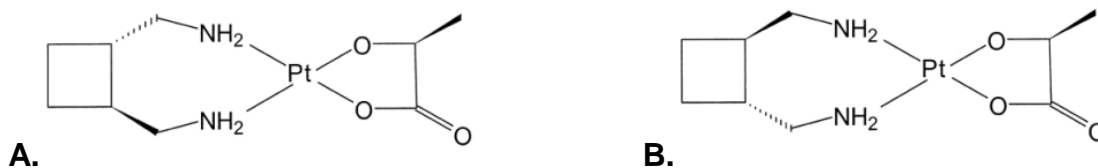
Nedaplatina patří do druhé generace platinových cytostatik a strukturně se podobá karboplatině viz obr. 4. Vyvinuta byla v Japonsku a zde je také registrována (5). Její cytotoxický potenciál se zdá být srovnatelný s cisplatinou. Kromě toho je nedaplatina méně nefrotoxická. Nedaplatina může proto být vhodnou substitucí za cisplatinu a být i lepší volbou v kombinované terapii (12). Například dle retrospektivní studie (13) u pokročilého karcinomu děložního čípku poskytuje nedaplatina v kombinaci s paclitaxelem lepší výsledky než kombinace cisplatinu s paclitaxelem.



Obr. 4: Strukturální vzorec nedaplatiny.

### **Lobaplatina**

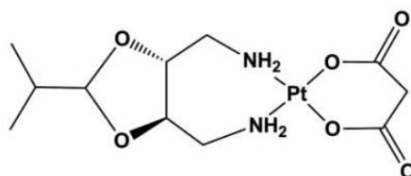
Lobaplatina patří do třetí generace platinových cytostatik. Jedná se o směs diastereoizomerů SS a RR konfigurace na aniontovém ligandu viz obr. 5. Je registrovaná v Číně pro léčbu chronické myeloidní leukemie, neoperabilního nádoru prsu a malobuněčného nádoru plic (5). Lobaplatina byla účinná i v potlačení proliferace u buněčné linie LOVO kolorektálního karcinomu (14).



Obr. 5: Strukturální vzorec lobaplatiny: A. SS konfigurace B. RR konfigurace (převzato z ref. 15)

### **Heptaplatina**

Heptaplatina je další látkou ze skupiny platinových cytostatik, která patří do třetí generace. Její strukturální vzorec je uveden na obr. 6. Schválena je k použití v Korejské republice (pod obchodním názvem Sunpla) (16). Heptaplatina má cytotoxicitu srovnatelnou s cisplatinou. Kromě toho vykazovala i aktivitu proti řadám buněk, které jsou rezistentní vůči cisplatině. Heptaplatina se používá v léčbě nádoru žaludku (5). V této indikaci vykazovala podobnou účinnost jako cisplatin, obě látky byly kombinované s 5-FU (16).



Obr. 6: Strukturální vzorec heptaplatiny.

### **Látky registrované v ČR**

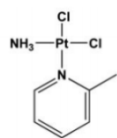
Podle ATC klasifikace jsou platinová cytostatika zařazeny do skupiny L01XA. V současnosti je tedy 6 klinicky ověřených léčiv ze skupiny platinových cytostatik, které jsou již schváleny k používání alespoň v jedné zemi. V ČR jsou registrovány pouze léčivé přípravky s obsahem tří látek. První registrace cisplatinu na území ČR proběhla v roce 1981 pod obchodním názvem PLATIDIAM, karboplatiny v roce 1988 pod obchodním názvem CYCLOPLATIN a oxaliplatinu v roce 2004 pod obchodním názvem OXALIPLATIN LACHEMA, viz tab. 1 (17).

**Tab. 1: Přehled aktuálně registrovaných léčivých přípravků s obsahem léčivých látek ze skupiny platinových cytostatik v ČR**

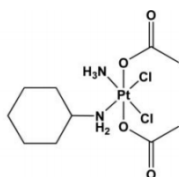
<b>Látka</b>	<b>ATC</b>	<b>Rok první registrace</b>	<b>Aktuálně registrované léčivé přípravky</b>
<b>Cisplatin</b>	L01XA01	1981	CISPLATIN "EBEWE", CISPLATIN, HOSPIRA, PLATIDIAM
<b>Karboplatina</b>	L01XA02	1988	CARBOMEDAC, CARBOPLATIN "EBEWE", CARBOPLATIN ACCORD, CARBOPLATIN HOSPIRA, CARBOSOL, CYCLOPLATIN
<b>Oxaliplatin</b>	L01XA03	2004	ELOXATIN, OXALIPLATIN "EBEWE", OXALIPLATIN ACCORD, OXALIPLATIN ACTAVIS, OXALIPLATIN HOSPIRA, OXALIPLATIN KABI, OXALIPLATIN STADA, OXALIPLATIN WINTHROP, OXALIPLATIN-TEVA, OXALIPLATINA MYLAN, OXALIPLATINUM MEDAC, OXALIQUID, PLATOX, REZIDOL

### **Látky v klinickém zkoušení**

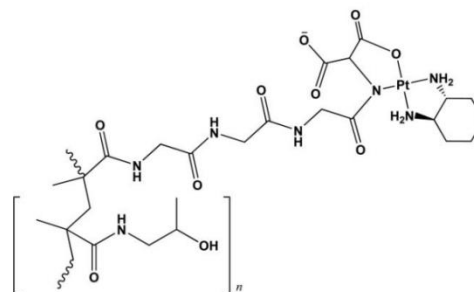
Řada nových látek ze skupiny platinových cytostatik jsou nyní v klinických studiích, viz obr. 7, ve kterých se zkoumají jejich vlastnosti a možnosti využití. Výzkum těchto látek nebyl zaměřen pouze na zmírnění nežádoucích účinků a překonání rezistence (picoplatina), ale i na vývoj nových formulací, které by umožnily perorální podání (satraplatina), lepší průnik cytostatika do nádorových buněk nebo zacílení a zlepšení akumulace těchto látek v nádorových buňkách (ProLindac<sup>TM</sup>, Lipoplatin<sup>TM</sup>) (5).



Picoplatina



Satraplatina



ProLindac™

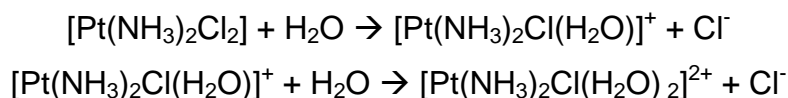
Obr. 7: Platinová cytostatika, která jsou v současnosti v klinických studiích.

## 2. Mechanismus účinku platinových cytostatik

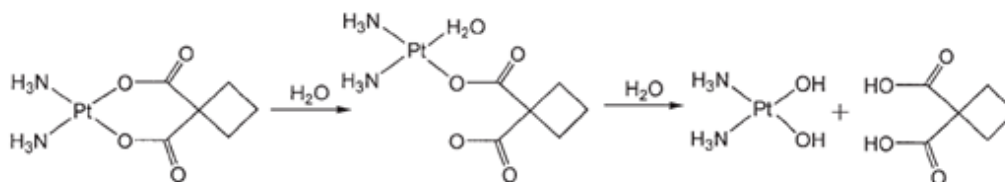
Mechanismus účinku platinových cytostatik se skládá z intracelulární aktivace látky, vazby na cílové struktury a buněčné odpovědi.

### 2.1 Intracelulární aktivace

Intracelulární aktivaci platinových cytostatik předchází jejich influx do buňky, který je popsán v kapitole 3.2. Aktivací rozumíme odštěpení donorového ligandu (neboli odstupující skupiny) a jeho náhradu vodou. Tato reakce probíhá až uvnitř buňky kvůli tomu, že v extracelulárním prostoru se koncentrace chloridových iontu pohybuje kolem 100 mM, což zamezuje odštěpení donorového ligandu. Po vstupu látky do buňky dojde vlivem snížené koncentrace chloridových iontů (4-20mM) k odštěpení ligandu a navázání vody. Touto reakcí vznikají mono či disubstituované metabolity (5). V případě cisplatiny se dá reakce znázornit následujícími vzorci:



Odstupující skupinou v případě karboplatiny je cyklobutan-1,1-dikarboxyl. Dvoustupňová reakce znázorňující otevření kruhu a následně oštěpení odstupující skupiny je uvedena na obr. 8. V případě oxaliplatiny je odstupující skupinou oxalát (18).



Obr. 8: Dvoustupňová hydrolýza karboplatiny (převzato z ref. 19).

Takto vzniklé metabolity jsou reaktivnější (voda je mnohem lepší odstupující skupina než chloridový iont) a mohou se vázat na cílové struktury v buňce (20).



## **2.2 Vazba platinových cytostatik na cílové struktury v buňce**

Hlavní cílovou strukturou v buňce, na kterou se vážou platinová cytostatika, je DNA. Kromě ní se však mohou vázat i na jiné buněčné struktury a to na RNA, proteiny, které obsahují thiolovou skupinu, nebo na fosfolipidy v buněčné membráně. Tyto vazby na jiné struktury než DNA mohou přispívat jak k rezistenci vůči platinovým cytostatikům, tak i k jejich cytotoxicitě, avšak právě vazba na DNA je rozhodující pro cytotoxicitu platinových cytostatik (20).

Vazba aktivních metabolitů na DNA se vytváří převážně s dusíkem v poloze 7 guaninu a v menší míře i adeninu. Vytvořením vazeb k DNA vznikají různé adukty (komplex sloučeniny platiny s DNA), které vyvolávají deformaci sekundární struktury DNA v okolí vazby. Adukty můžeme rozdělit na monofunkční (pouze jedna vazba mezi atomem platiny a nukleotidem) a bifunkční (atom platiny je vázán na dva nukleotidy). Bifunkční adukty se mohou tvořit buď na stejném řetězci dvoušroubovice, v tomto případě se jedná o vnitřetězcový můstek, nebo vzniká adukt vazbou na nukleotid z obou vláken dvoušroubovice, a v tomto případě se jedná o meziřetězcový můstek (20).

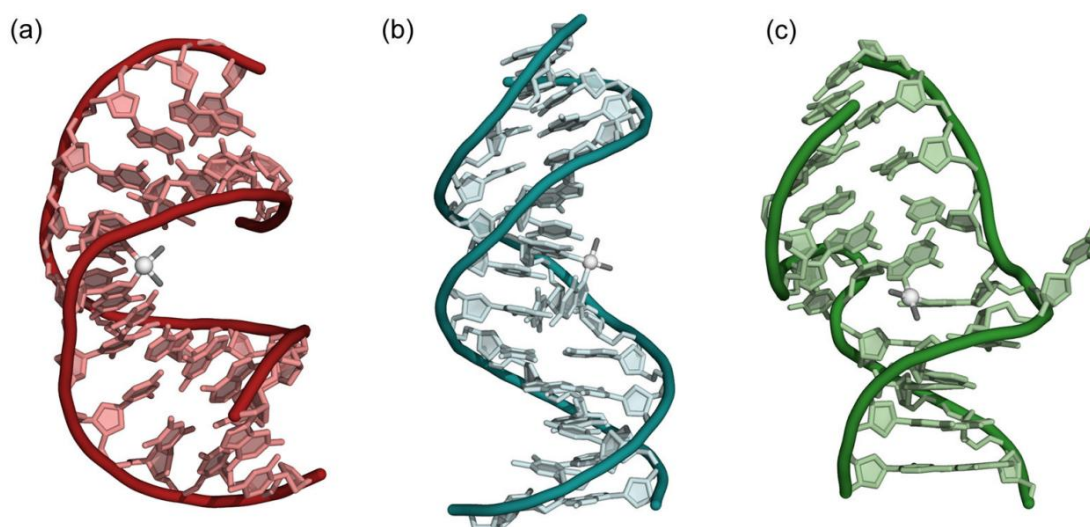
Hlavním aduktem (až v 65%), který vzniká působením cisplatiny, je 1,2-GG vnitřetězcový můstek, což je spojení mezi dvěma sousedními guaniny. Mezi další adukty, které může tvořit cisplatina, patří vnitřetězcové můstky 1,2-AG (20-25%) a 1,3-GTG (5-10%), kde T znamená thymin mezi dvěma guaniny, ke kterým je vázaná cisplatina. V menší míře pak vznikají i meziřetězcové a monofunkční můstky (21). Struktury výše popsaných aduktů jsou zobrazeny na obr. 9.

1,2-GG adukty způsobují ohnutí DNA směrem k velkému žlábků o 30-60° a odvinutí helixu až o 23° (5). Udává se i hodnota ohnutí 80° směrem k velkému žlábků (22). Tento vliv na strukturu DNA způsobuje rozšíření a oploštění malého žlábků naproti navázané cisplatině. Kromě toho byly hlášeny i charakteristiky helixu v okolí aduktu, které odpovídají A-formě DNA. Porušení vodíkových můstku mezi páry bází pozorováno nebylo (23).

1,3-GTG vnitřetězcový můstek sdílí některé deformační vlastnosti s 1,2-GG můstkem. Například lokální odvinutí helixu a ohnutí DNA směrem k velkému žlábků až o 30°. Naopak v porovnání s 1,2-GG aduktem je B-forma DNA více

deformovaná (23). Vodíkové můstky mezi 5'-G-C a T-A jsou přerušené a thymin je vystrčen z malého žlábků. Tyto rozdíly s velkou pravděpodobností způsobují nižší afinitu DNA-vazebných proteinů, což umožňuje lepší excizní reparaci těchto aduktů a tím i jejich menší význam v cytotoxicitě cisplatinu (21,23).

Meziřetězcový můstek vzniká v malém žlábků mezi guaniny. Dvoušroubovice je odvíjena o 110° a ohnuta o 47° směrem k malému žlábků. Tyto změny způsobují, že cytosiny, které jsou komplementární k těmto guaninům, směřují ven ze šroubovice (21).

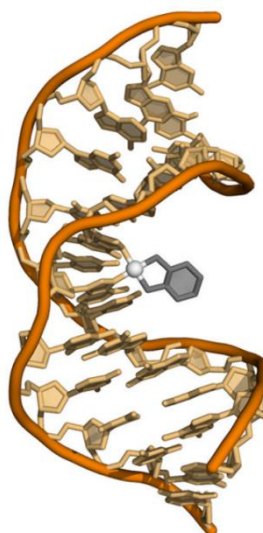


**Obr. 9: Struktura aduktů s cisplatinou (převzato z ref. 21).**

- A. Vnitrořetězcový 1,2-GG můstek
- B. Vnitrořetězcový 1,3-GTG můstek
- C. Meziřetězcový můstek mezi dvěma guaniny

Karboplatina tvoří stejné adukty jako cisplatinu. Je to dáno tím, že po odštěpení odstupující skupiny zůstává  $(\text{NH}_3)_2\text{Pt}^{2+}$ , což je část molekuly, která je shodná s cisplatinou a která se váže na DNA. I když formované adukty jsou stejné, jejich procentuální zastoupení je jiné. Největší zastoupení má G-Pt-G adukt (až 36%) dále 1,2-GG (30%) a 1,2-AG (16%) a v malém množství i monofunkční adukty (21). Tyto adukty se ovšem formují mnohem pomaleji v porovnání s cisplatinou kvůli cyklobutan-1,1-dikarboxylu na místě odstupující skupiny. Zjistilo se, že stejná úroveň platinace DNA v buňkách L1210 v případě použití karboplatiny je dosažena o 6-12h později než v případě cisplatinu (24).

Oxaliplatina tvoří monofunkční, vnitro- a meziřetězcové adukty po odštěpení oxalátové skupiny. Tyto adukty jsou identické s těmi, které tvoří cisplatina a jejich procentuální zastoupení je přibližně stejné (22). Rozdíl v 1,2-GG vnitrořetězcovém aduktu (obr. 10) je v tom, že adukt s oxaliplatinou ohýbá dvoušroubovici směrem k velkému žlábků jen o  $31^\circ$  v porovnání s až  $80^\circ$  v případě cisplatin. Kromě toho NH-skupina z DACH může potenciálně tvořit vodíkový můstek s  $O^7$  atomem na 3'-guaninu (21). Experimentálně bylo prokázáno, že celkové množství Pt-DNA aduktů bylo v případě oxaliplatin významně nižší než v případě cisplatin při stejné cytotoxicitě nebo při ekvimolárním množství (25).



Obr. 10: Struktura aduktů s oxaliplatinou: 1,2-GG můstek (převzato z ref. 30)

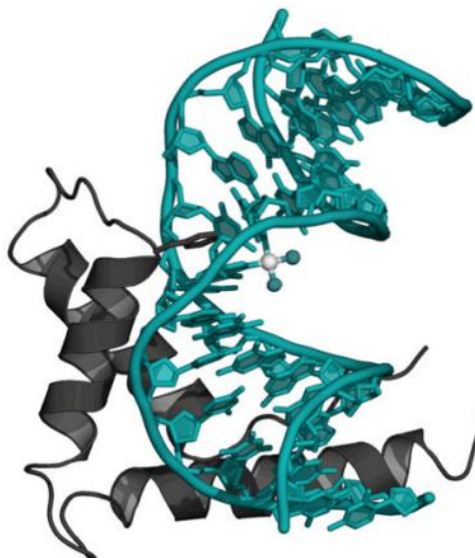
### **2.3 Buněčná odpověď**

Výše popsané interakce platinových cytostatik s DNA mohou blokovat její replikaci a transkripci, ovlivňují řadu signálních drah v buňce, a ve finále mohou způsobit buď smrt buňky, nebo opravu poškozené DNA viz obr. 12. Zjistilo se, že intenzita blokace transkripce je závislá jak na typu aduktu, tak i na typu vlákna dvoušroubovice, na kterém se tento adukt nachází. RNA-polymeráza II, která odpovídá za transkripci DNA v eukaryotických buňkách, je nejvíc blokována adukty 1,2-GG a 1,2-AG, pokud se tyto adukty nachází na komplementárním řetězci. 1,3-GTG adukt blokuje transkripci poměrně dobře a to i v případě, že se nachází

na kódujícím řetězci. Naproti tomu monofunkční adukty neinhibují transkripci téměř vůbec (21).

Je známo, že existují proteiny, které mají schopnost rozpoznávat DNA poškozené platinovými cytostatiky a vázat se na to místo. Odhaduje se, že jejich počet je kolem 20 a mezi tyto proteiny můžeme zařadit: TBP (TATA-binding protein), hMutS $\alpha$  (jedna z proteinových komponent MMR), HMGB1 (High-mobility group box 1), hUBF (the human RNA polymerase I transcription upstream binding factor) (26).

Rozpoznání aduktu se považuje za jeden z prvních ze sledu kroků v cytotoxické odpovědi na platinová cytostatika. Tyto proteiny jsou primárně zodpovědné za iniciaci signální kaskády, která následně vede k zániku buněk. Mimo jiné interakce vazebných proteinů mají i další účinky, které hrají roli v cytotoxicitě. Tak například vazba HMGB1 na DNA, která je poškozená 1,2-GG aduktem cisplatiny, je schopna zabránit NER (nuclear excision repair) v její opravě (20,26). HMGB1 se vyznačuje tím, že je schopno se vázat na DNA, která je ohnutá nebo odvinutá a hraje významnou roli ve fyziologických pochodech buňky: transkripce, replikace a oprava DNA (27). HMGB1 má dvě domény A a B, z nichž vyšší afinitu k aduktům cisplatiny má doména A (21). Tato vazba je zobrazena na obr. 11. Fyziologická funkce hUBF a TBP proteinů je iniciace transkripce pomocí RNA polymerázy 1. Jejich odklon od této primární funkce tím, že jsou navázané na adukt, může přispívat k cytotoxicitě (20,21).



**Obr. 11: Struktura HMGB domény A navázané na 1,2-GG adukt cisplatiny (převzato z ref. 21)**

Poškození DNA platinovými cytostatiky ovlivňuje několik signálních drah, z nichž mezi nejvíce prozkoumanými jsou dráhy zahrnující: AKT (v-akt murine thymoma viral oncogene homologue), c-ABL (v-abl Abelson murine leukaemia viral oncogene homologue 1), p53, MAPK.

Dráha zahrnující AKT zasahuje do cytotoxicity cisplatinou ovlivněním protiapoptického proteinu XIAP (X-linked intracellular anti-apoptotic proteins) tím, že ho stabilizuje a podporuje jeho činnost. Tento efekt je způsoben inhibicí auto- i cisplatinou indukované ubikvitinace tohoto proteinu (20). Role XIAP v apoptóze zahrnuje přímou inhibici kaspázy 3, 7 a 9 (28). Kaspáza 9 hraje důležitou roli ve tvorbě apoptozómu a tedy i v mechanismu vnitřní cesty aktivace apoptózy (29). Kromě toho AKT se účastní i aktivace nukleárního faktoru kappa B (NF- $\kappa$ B), který má rovněž vliv na apoptózu (18).

c-ABL je protein, který reaguje na poškození DNA. Tento protein je schopen předat signál o jejím poškození z jádra do cytoplazmy a je nezbytný pro aktivaci apoptózy při cisplatinou indukovaném poškození DNA. Tato skutečnost byla prokázána tím, že buňky myšího fibroblastu s absencí c-ABL byly rezistentní vůči cisplatině a staly se citlivé po znovuzavedení funkční c-ABL (20). c-ABL je rovněž nutná pro aktivaci členů z rodiny MAPK – p38 a JNK (c-Jun N-terminal kinases)

(18). c-ABL je nejen nezbytný pro aktivaci apoptózy, ale hraje i roli v pozastavení buněčného cyklu v závislosti na p53 proteinu, kde má význam v jeho aktivaci (20).

Protein p53 se považuje za jeden z hlavních transkripčních faktorů, který se účastní obrany buňky proti změnám vedoucím k nádorům. V 50% nádorových buněk je gen pro tento protein (TP53) zmutován (18), což vede ke ztrátě jeho funkcí a tím i ke ztrátě autoregulace proliferace buněk. Tento protein hraje roli v opravě DNA, pozastavení buněčného cyklu a ve spouštění apoptózy, a má tedy důležité postavení v cytotoxické aktivitě cisplatin. Fosforylace p53 pomocí specifických kináz zprostředkovává jeho aktivaci. Patří sem i ERK (extracellular signal-regulated kinases), který je členem rodiny MAPK (26). Rovněž HMGB1 interaguje s p53 a zvyšuje jeho vazebnost vůči DNA (27). Jedná se o názorný příklad propojení rozpoznávacích proteinů a signálních molekul. Blokáce transkripce způsobená adukty platinových cytostatik hraje důležitou roli v aktivaci p53 a tím i v pozastavení buněčného cyklu (18).

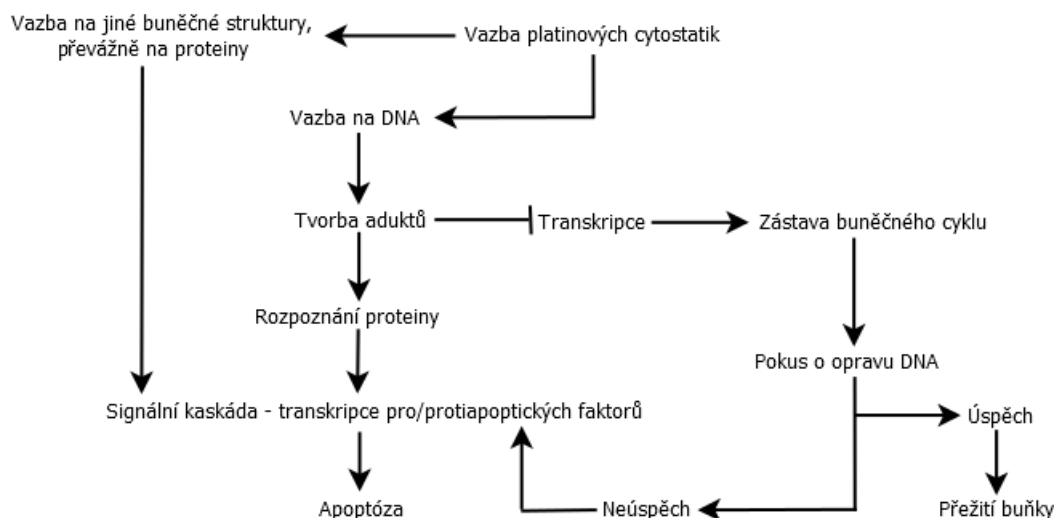
Mezi MAPK rodinu tedy patří ERK, JNK a p38. Tyto proteiny jsou zodpovědné za přenos signálů z extracelulárního prostoru a jejich integraci do buněčné regulace (proliferace, diferenciace a buněčná smrt). Jsou tedy součástí drah ovlivňující spouštění apoptózy a jsou aktivovány cisplatinou. Zda je tato aktivace pro- či protiapoptická záleží jednak na typu proteinu, kdy p38 je pouze proapoptický a JNK/ERK mohou fungovat jako pro- i protiapoptické faktory, a jednak na typu buňky. Doba aktivace hraje podstatnou roli ve výsledné cytotoxicitě a například v buňkách lidského karcinomu ovarii rozhoduje o tom, zda tato buňka bude citlivá či rezistentní vůči cisplatině (30).

Výše popsané děje vedou buď k apoptóze nebo k pozastavení buněčného cyklu a následné opravě DNA. Oprava poškozené DNA probíhá několika způsoby, z nichž nejvýznamnější je nukleární excizní oprava (NER). Jedná se o komplex proteinů, které jsou schopny rozeznat 1,2-vnitřetězcové můstky a následně vystříhnout část řetězce o délce cca 30 nukleotidů, které jsou následně dosyntetizovány (18).

MMR neboli mismatch repair je další systém opravy DNA. Rozeznává a opravuje místa, která vůbec nejsou nebo jsou chybně spárovaná. Rozpoznání

aduktů 1,2-GG probíhá pomocí hMutS $\alpha$ . Poté dojde k marnému pokusu o vsunutí „správného“ nukleotidu do nepoškozeného řetězce mezi komplementární báze guaninů, které jsou platinované, což následně vede ke spouštění apoptózy. MMR je tedy součástí cytotoxického účinku cisplatiny (26).

Je důležité si uvědomit, že uvedené rozpoznávací proteiny nemají stejnou afinitu k aduktům cisplatiny a oxaliplatiny. Je známo, že rodina proteinů s HMG-doménou rozpoznává a váže se s větší afinitou k aduktům, které jsou tvořeny cisplatinou. Mezi tyto proteiny můžeme zařadit HMGB1, hUBF a TBP (31). Stejně tak komponenta MMR – hMutS $\alpha$  se váže na adukty oxaliplatiny mnohem hůře než na adukty cisplatiny a tudíž tento mechanismus nehraje hlavní roli v její cytotoxicitě. Tyto rozdíly ve vazbách proteinů se vysvětlují tím, že DACH je rozměrnější a více hydrofobní aniontový ligand (32). Vyšší hydrofobie DACH může přispívat k cytotoxicitě oxaliplatiny odlišné od cisplatiny tím, že je schopná se vázat na thiolové skupiny proteinů, které se nachází v hydrofobní části molekuly, což je v případě cisplatiny, která je polarizovaná, nemožné (25).



**Obr. 12: Schéma buněčné odpovědi na platinová cytostatika**

### **3. Farmakokinetika platinových cytostatik**

Rozdíly v chemické struktuře platinových cytostatik způsobují mimo jiné i odlišnosti ve farmakokinetických parametrech.

#### **3.1 Absorpce**

Cisplatina, karboplatina i oxaliplatina jsou podávány intravenózně. Vzhledem k jejich chemické struktuře se objevují rozdíly ve složení infuzních roztoků. Infuzní roztok v případě cisplatiny obsahuje chloridové ionty na rozdíl od infuzních roztoků karboplatiny i oxaliplatin. V obou případech se jedná o snahu zachovat stabilitu látky. V případě cisplatiny slouží chloridové ionty k tomu, aby nedocházelo k hydrolyze chloridových ligandů. V případě karboplatiny a oxaliplatin by přítomnost chloridových iontů v roztocích vedla k substituci odstupujících skupin chloridy (33).

#### **3.2 Distribuce**

Rozdíly mezi těmito látkami jsou i v případě vazby na plazmatické proteiny. Zjistilo se, že čím stabilnější je odstupující skupina, tím menší je podíl navázané látky. Cisplatina se váže na plazmatické proteiny z více než 90%. Následuje oxaliplatina s 85% a za ní karboplatina s 24-50%. Cisplatina v menší a oxaliplatina ve větší míře se navíc váží ireverzibilně na erythrocyty (34). Lipofilnější struktura oxaliplatin souvisí s jejím větším distribučním objemem 338L v porovnání s 17L v případě cisplatin a 19L v případě karboplatiny (35). Plazmatický poločas je velmi krátký a v případě cisplatin se pohybuje kolem 25-50 minut a kolem 17 minut v případě oxaliplatin (36), a 23 minut v případě karboplatiny (37). Takto krátký poločas je způsoben jednak vysokou reaktivitou vůči plazmatickým bílkovinám a jednak rychlou distribucí do tkání. Vysoké koncentrace cisplatin můžeme najít v ledvinách, játrech, střevech a varlatech (36).

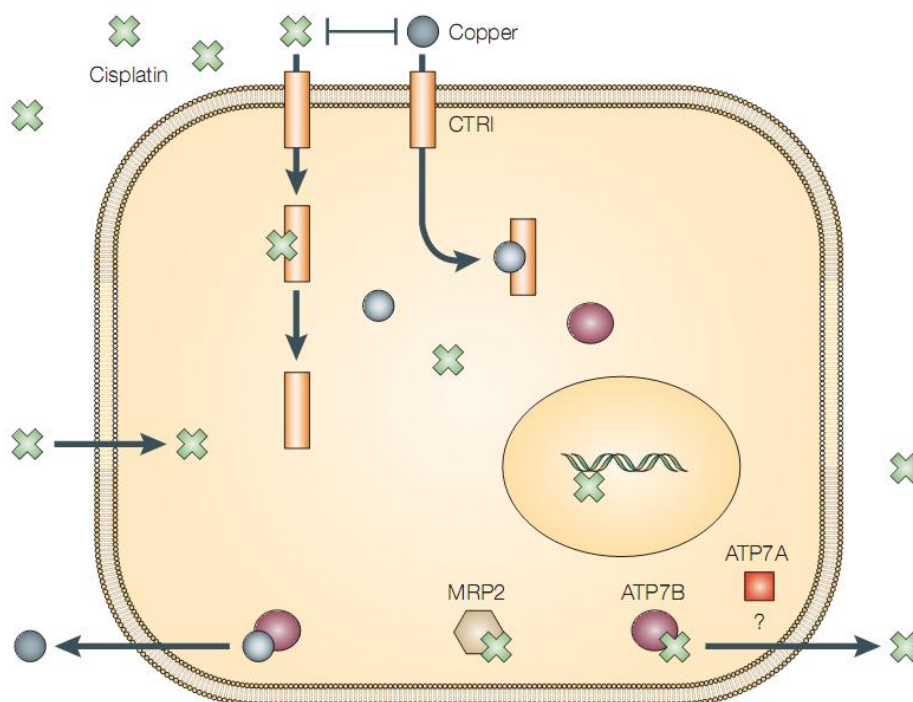
#### ***Influx a eflux platinových cytostatik a jejich akumulace v buňce***

Influx platinových cytostatik do buňky probíhá buď pasivní difúzí anebo aktivně pomocí přenašečů viz obr. 13 a obr. 14. Vstup pasivní difúzí jak se zdá hraje



menší roli v influxu než aktivní transport. Je to způsobený tím, že všechny tři hlavní látky ze skupiny platinových cytostatik (cisplatina, karboplatina a oxaliplatina) jsou poměrně polární (38).

Souvislost mezi koncentrací mědi a cisplatinou v buňce vyvolala předpoklad, že sdílejí transportní systém, kterým je CTR1 (copper influx transporter) (20). Tato skutečnost byla potvrzena na buňkách kvasnic, které byly zbaveny genu pro CTR1, což vedlo ke snížení vstupu cisplatinu do buňky a tím i ke snížení akumulace cisplatinu (39). Tento přenašeč umožňuje vstup nejen cisplatinu, ale též karboplatiny i oxaliplatinu (11).

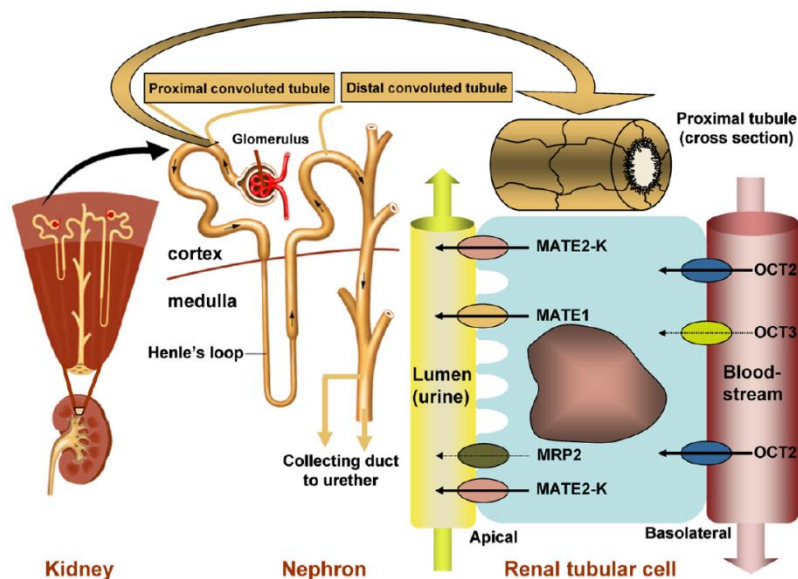


**Obr. 13: Mechanismy ovlivňující akumulaci cisplatinu v buňce (převzato z ref. 18).**  
Poznámka: V práci nejsou zohledněny SLC transportéry.

Mezi další přenašeče, které se účastní vstupu platinových cytostatik do buňky, můžeme zařadit rodinu SLC (solute carriers) a její podrodinu OCT (organic cation transporter), která obsahuje tři členy a to OCT1, který exprimován převážně v játrech, OCT2 - expimace převážně v ledvinách a OCT3, který se exprimuje jak v játrech a ledvinách tak i v kosterním svalstvu, placentě či v srdci (40). Ukázalo se, že podání cisplatinu inhibuje transport jiných substrátů OCT2

(např. TEA), což značí jejich společnou transportní cestu (38). Navíc podání cimetidinu, který je také substrátem OCT2, snížilo vstup cisplatinu do buněk a její cytotoxicitu *in vitro* (41). Z celé rodiny OCT má největší vliv na influx platinových cytostatik právě OCT2 (11). Afinita platinových cytostatik k tomuto receptoru je rozdílná. Oxaliplatina je ze tří hlavních platinových cytostatik nejlepším substrátem. Cisplatinu má menší afinitu k OCT2 než oxaliplatina a influx karboplatiny není zprostředkován tímto transportérem (40). Cisplatinu je také transportována pomocí OCT1 a oxaliplatina pomocí OCT3, i když v obou případech má tento transport menší význam v porovnání s OCT2 (42).

Akumulace platinových cytostatik není ovlivněna pouze jejich influxem do buňky, ale i efluxem, který je také zprostředkován přenašeči, viz obr.13. Mezi tyto přenašeče můžeme zařadit efluxní transportéry mědi (ATP7A a ATP7B). Mezi efluxní transportéry můžeme dále zařadit MRP (multidrug resistance-associated proteins), které jsou schopny odstraňovat cisplatinu konjugovanou s glutationem z buňky, a podrodinu MATE (multidrug and toxin extrusion) patřící stejně jako OCT do rodiny SLC (11).



**Obr. 14: Transport platinových cytostatik pomocí OCT/MATE v buňkách proximálního tubulu (převzato z ref. 11)**

Expres přenašečů a afinita platinových cytostatik k nim hraje důležitou roli v cytotoxicitě těchto látek. Tyto přenašeče mají vliv na vznik rezistence nádorových

buněk vůči platinovým cytostatikům a v neposlední řadě hrají také roli ve vzniku, a lokalizaci nežádoucích účinků (11). Přehled přenašečů a jejich substrátů je uveden v tab.2.

**Tab. 2: Přehled přenašečů účastnících se transportu platinových cytostatik**

Přenašeč	Orgánová exprese	Preferované platinové cytostatikum	Eflux/Influx
Ctrl	všudypřítomný	cisplatina, karboplatina, oxaliplatina	influx
OCT1	játra	cisplatina (slabě)	influx
OCT2	ledviny	cisplatina, oxaliplatina	influx
OCT3	všudypřítomný	oxaliplatina (slabě)	influx
MATE1 I	ledviny, játra	cisplatina (slabě), oxaliplatina	eflux
MATE2-K	ledviny	oxaliplatina	eflux
ATP7A/7B	všudypřítomné	cisplatina, karboplatina	eflux

### 3.3 *Eliminace*

Je známo, že hlavním orgánem, kterým se eliminují platinová cytostatika, jsou ledviny. Eliminace játry je naopak minimální (36). Na vylučování se podílí dva procesy: glomerulární filtrace a tubulární sekrece. V případě eliminace rozdíl mezi jednotlivými zástupci platinových cytostatik vychází z rozdílné afinity k transportním proteinům (OCT). Cisplatina a oxaliplatina, na rozdíl od karboplatiny, jsou těmito transportéry přenášeny (11). V případě karboplatiny největší význam má eliminace glomerulární filtrací, tubulární sekrece je naopak zanedbatelná. Proto byla doporučena a v současné době je rutinně využívána metoda stanovení terapeutické dávky karboplatiny v závislosti na glomerulární filtraci (34). Nejčastěji používanou rovnicí ke stanovení potřebné dávky je tzv. Calvertova rovnice: dávka karboplatiny [mg] = AUC [mg/ml/min] x (GFR [ml/min] + 25). GFR se měří za pomoci clearance <sup>51</sup>Cr-EDTA (42). AUC velmi dobře koreluje s myelotoxicitou karboplatiny (34). Cílová AUC se pohybuje mezi 5-7 min/mg/ml (36).

Exkrece platiny ledvinami v průběhu prvních 24h léčby je největší v případě karboplatiny, což je způsobeno nejmenším procentuálním podílem na bílkoviny vázané části v porovnání s ostatními platinovými cytostatiky. V případě

karboplatiny tato exkrece činí až 77% z podaného množství, v případě oxaliplatiny 37-54% a v případě silně vázané cisplatiny 28% (35, 37).

**Tab. 3: Srovnání farmakokinetických parametrů platinových cytostatik**

<b>Parametr</b>	<b>Cisplatina</b>	<b>Karboplatina</b>	<b>Oxaliplatina</b>
Distribuční objem (L)	17	19	338
Renální exkrece po 24h (%)	28	77	37-54
Vazba na plaz. bílkoviny (%)	>90	24-50	85
Plazmatický $t_{1/2}$ (min)	25-50	23	17

## 4. Nežádoucí účinky spojené s léčbou platinovými cytostatiky

Nežádoucí účinky jsou v případě platinových cytostatik limitujícím prvkem, ale na druhou stranu i hnací silou ve vývoji nových derivátů s lepšími vlastnostmi. Projevy a intenzita nežádoucích účinků se značně liší mezi jednotlivými zástupci. Nejčastější a nejzávažnější jsou projevy nefrotoxicity, neurotoxicity a myelotoxicity. Podání platinových cytostatik může dále způsobovat i silnou emetogenezi a nauzeu. Přehled nežádoucích účinků spojených s podáním platinových cytostatik je uveden v tab. 5.

### 4.1 Nefrotoxicita

Nefrotoxicita je nejčastější příčinou, která limituje velikost dávky v případě cisplatiny. Může se projevovat několika způsoby. Mezi nejčastější projevy patří hypomagnezémie, která se vyskytuje ve 40-100% pacientů. Nejnebezpečnější a poměrně frekventovaný (20-30%) projev je akutní renální selhání. Jedná se o závažné poškození ledvin, které může ohrozit na životě. Riziko nefrotoxicity se zvyšuje s velikostí jednotlivé dávky, frekvencí aplikace a s celkovou kumulativní dávkou (41).

#### *Cisplatina*

Mechanismus nefrotoxicity spojené s podáním cisplatiny úzce souvisí s její akumulací v buňkách proximálního tubulu. Tato akumulace je zprostředkována transportéry. Influx je způsoben aktivitou OCT a eflux aktivitou MATE (11). Bohužel v případě cisplatiny dochází k mnohem většímu influxu než efluxu a tedy k akumulaci cisplatiny v buňce. Vliv OCT na nefrotoxicitu cisplatiny byl potvrzen v experimentu na myších. Byly srovnávány dvě skupiny. V první skupině, ve které byla normální exprese OCT1 a OCT2 došlo k rozvoji prudké nefrotoxicity. Ve druhé skupině myší, kterým byl odstraněn gen pro tyto transportery, docházelo ke sníženému vylučování cisplatiny močí a nedocházelo k rozvoji nefrotoxicity (44). Akumulace cisplatiny v buňkách proximálního tubulu vyvolává apoptózu či nekrózu v závislosti na koncentraci. Apoptózu způsobuje dlouhé vystavení cisplatině v její malé koncentraci, naproti tomu krátké vystavení velké koncentraci cisplatiny

vyvolává nekrózu (45). Dalším mechanismem, kterým se vysvětluje nefrotoxicita, je silná zánětlivá odpověď na kumulaci cisplatiny. Hlavní roli v rozvoji zánětu má cytokin TNF $\alpha$  (41).

### ***Karboplatina***

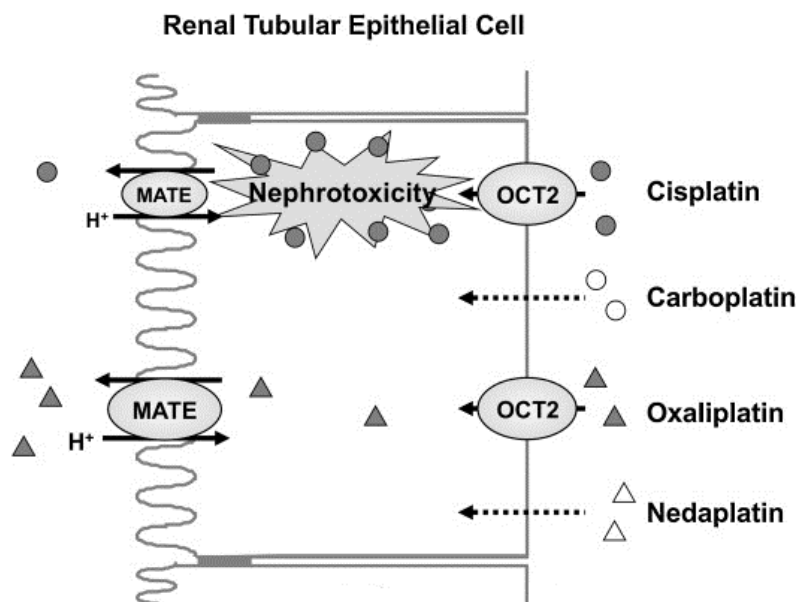
Karboplatina v běžných dávkách nevyvolává nefrotoxicitu. Riziko nefrotoxocity se ovšem zvyšuje se zvětšující se dávkou (34). Předpokládaný mechanismus spočívá v oxidativním stresu, který vzniká deplecí zásob glutationu, což následně vede ke snížení eliminace ROS (reaktivní formy kyslíku). Kromě toho karboplatina způsobuje snížení aktivity antioxidačních enzymů (superoxid dismutáza a kataláza) v ledvinách, což vede k zvýšení množství ROS (46).

### ***Oxaliplatina***

Použití oxaliplatiny nezpůsobuje nefrotoxicitu. Na rozdíl od cisplatiny je oxaliplatina dobrým substrátem pro transpotéry OCT i MATE. Z tohoto důvodu nedochází k její akumulaci v buňce (42).

### ***Nedaplatina***

Nedaplatina je vedle karboplatiny další látkou ze skupiny platinových cytostatik, která není substrátem pro OCT transportéry viz obr. 15 (42). Ovšem tento fakt nezaručuje absenci nefrotoxocity v případě léčby nedaplatinou. V porovnání s cisplatinou je nedaplatina mnohem méně nefrotoxická, ovšem může postihnout více struktur v ledvině a to i v dávce, která je pro nedaplatinu terapeutická. Nedaplatina vyvolává apoptózu či nekrózu v buňkách proximálního tubulu, distálního tubulu a sběracího kanálku. V závažných případech může způsobit i nekrózu papil (12). Během studie, která se zabývala srovnáním kombinace nedaplatina + paclitaxel (NP) a cisplatina + paclitaxel (CP) u pokročilého karcinomu děložního čípku se zjistilo, že podání NP je spojeno s mnohem menším výskytem nežádoucích účinků. Tato studie byla provedena na 252 pacientech, z nichž kombinace NP byla použita u 104 pacientů. Celkový výskyt nežádoucích účinků 3. a 4. stupně v případě léčby CP byl 81,41% a v případě NP 32,69%. Nefrotoxicita nebyla v režimu NP přítomna (13).



Obr. 15: Rozdíl v transportu platinových cytostatik pomocí OCT/MATE v proximálním tubulu (převzato z ref. 42)

### ***Prevence nefrotoxicity***

Vzhledem k tomu, že cisplatin je účinná při léčbě mnoha typu nádorů (36), hledají se cesty jak zmírnit nefrotoxicitu a tím i zlepšit průběh léčby. ESCP (European Society of Clinical Pharmacy) schválila doporučení týkající se podání cisplatin vzhledem k prevenci nefrotoxicity. Základem prevence je hydratace pomocí 0,9% roztoku NaCl ještě před samotným podáním cisplatin. Diuréza by se měla pohybovat mezi 3-4l/24h v průběhu 2-3 dnů po podání, ovšem použití diuretik (mannitol, furosemid) se neukázalo být prospěšné. Po 4-5 dnech od podání by se měl stanovit sérový kreatinin. Doporučuje se i průběžný monitoring hladin hořčíku, který by se měl v případě hypomagnezémie suplementovat. Mezi další doporučení patří dle možností nepodání jiných nefrotoxicích látek (kontrastní látka, aminoglykosidy) (47).

FDA schválila použití amifostinu k prevenci nefrotoxicity při léčbě pokročilého nádoru vaječnicků cisplatinou. Jeho účinek se vysvětluje tím, že dokáže vychytávat aktivní metabolity cisplatin díky své thiolové skupině. Amifostin taktéž funguje jako scavenger volných radikálů (48).

Bohužel i přes všechny opatření může docházet k rozvoji renální insuficience (20-30%). Proto se hledají další strategie k prevenci tohoto nežádoucího účinku (41). Mezi ně můžeme zahrnout:

- Snížení akumulace cisplatiny v buňkách proximálního tubulu: OCT2 inhibitory, Ctr1 inhibitory, lipozomální enkapsulace
- Antioxidanty: N-acetylcystein, selen, vitamín E
- Protizánětlivé látky: antagonisté TNF- $\alpha$ , IL10
- Protiapoptické látky: inhibitory p53, inhibitory kaspáz

Je třeba ovšem mít na paměti, že kromě ochrany ledvin před nefrotoxitou je nutné myslet i na účinnost cisplatiny v nádorových buňkách, tedy aby ochranné mechanismy neochránily samotný cíl podání cisplatiny.

## **4.2 Neurotoxicita**

Neurotoxicita je dalším z nežádoucích účinků, který komplikuje léčbu platinovými cytostatiky. V mnoha případech se jedná i o dávku limitující NÚ, který významně zhoršuje kvalitu života nejen v průběhu léčby, ale i po jejím ukončení.

### ***Cisplatina***

Cisplatina nemůže pronikat hematoencefalickou bariérou (36) a nezpůsobuje tedy centrální neuropatii. Naopak periferní neuropatie je vedle nefrotoxicity jedním z nejvýznamnějších nežádoucích účinků, který limituje velikost dávky cisplatiny. Jsou ovlivněny především horní a dolní končetiny. Mezi neuropatické symptomy můžeme řadit ztrátu vibračního cití, ztrátu propriocepce, parestézii a třes (49).

Nástup symptomů nebývá akutní. Ihned po ukončení léčby jsou tyto symptomy patrné jen u menší části pacientů. Po 3-4 měsících od ukončení léčby je poměr pacientů s projevy periferní neuropatie mnohem vyšší. V průběhu 12 měsíců od ukončení podání dochází ke zmírnění projevů, ovšem symptomy mohou být i trvalého rázu (50). Nástup prvních symptomů je spojen s velikostí dávky, kdy hranicí je kumulativní dávka 300mg/m<sup>2</sup>. Neuropatie se projevuje téměř u všech pacientů při kumulativní dávce již 500-600 mg/m<sup>2</sup> (51).



Mechanismus, který se podílí na vzniku neuropatie indukované cisplatinou, není přesně objasněn, ale zdá se, že apoptóza v buňkách spinálních ganglií hraje nejdůležitější roli. Mechanismus apoptózy se vysvětluje několika teoriemi zahrnujícími aktivaci p53 nebo oxidativní stres (51). Jiná teorie je založena na tom, že cisplatina může fungovat jako blokátor kalciových kanálů, čímž způsobuje rozvrat v homeostáze vápníku, a právě to vede až k apoptóze (34). Terapie kombinovaná s taxany může vyvolávat těžší formy neuropatie, dokonce i při nižší kumulativní dávce cisplatin (51).

### ***Karboplatina***

Karboplatina vyvolává neuropatii jen u malého procenta pacientů (4-6%). Neuropatie se objevuje hlavně po podání vysokých dávek nebo v případě kombinace s jinými látkami, které jsou neurotoxické, např. taxany (49).

### ***Oxaliplatin***

V případě oxaliplatin je periferní neuropatie hlavním nežádoucím účinkem, který limituje dávkování. Můžeme ji rozdělit na dva typy. První je tzv. akutní neurotoxicita. Jedná se o periferní neuropatii, která se může objevit několik hodin až dnů po podání. Projevuje se hlavně paresteziemi, dysesteziemi a hypoesteziemi chodidel, dlaní, perorální a laryngofaryngeální oblasti. Tyto projevy se zhoršují působením chladu. Akutní neurotoxicita se vyskytuje přibližně u 85-95% pacientů léčených oxaliplatinou. Symptomy většinou odezní v průběhu 14 dnů (65). Vzácný případ akutní neurotoxicity je přechodná laryngofaryngeální dysestezie, která je spojena s pocitem obtížného dýchání nebo neschopností polykat. Tato dysestezie se projeví u 1-2% pacientů (35). Prevence laryngofaryngeálního spasmu spočívá v prodloužení doby podávání infúze. Riziko akutní neuropatie je nižší, pokud je oxaliplatin podávána v dávce  $85\text{mg}/\text{m}^2$  každé dva týdny, než pokud je podávána v dávce  $130\text{mg}/\text{m}^2$  každé tři týdny (63). Předpokládá se, že rozvoj akutní neuropatie souvisí s inhibicí napěťově řízených sodíkových kanálů. Inhibice těchto kanálů může být způsobena chelační aktivitou oxalátového ligandu vůči vápníku a následnou hypokalcemií (50). Navozená hypokalcemie může mimo jiné vyvolávat křeče a tetanické spazmy v čelistech, i když tyto projevy jsou méně časté (53).

Druhý typ je tzv. chronická neurotoxicita, která se projevuje neuropatií končetin (punčochový a rukavicový typ) a poruchou jemné motoriky. Poruchy jemné motoriky zasahují do běžného života (zapínání knoflíků od oblečení, psaní) a snižují tak jeho kvalitu. Nástup symptomů je závislý na kumulativní dávce oxaliplatin. Při kumulativní dávce  $780 \text{ mg/m}^2$  byla pozorována neurotoxicita třetího stupně u 10% pacientů, při dávce  $1170 \text{ mg/m}^2$  již u 50% pacientů (35). Mechanismus chronické neurotoxicky se zdá být podobný jako v případě cisplatin. Jedná se o postupnou kumulaci platiny v buňkách spinálních ganglií a tím ovlivnění buněčného metabolismu a spouštění apoptózy (54). Tato neuropatie je reverzibilní a její projevy postupně slábnou po ukončení léčby. Po 3-5 měsících dochází ke zmírnění symptomů (ze stupně 3 na stupeň 1) u 75% pacientů (35).

Při kumulativních dávkách oxaliplatin nad  $1000 \text{ mg/m}^2$  se mohou vyskytovat i atypické neuropatické projevy. Jedná se buď o retenci moči nebo o tzv. Lhermittův příznak (49). Lhermittův příznak je popisován tak, že pacient cítí elektrický impuls v dolních končetinách při maximálním předklonu hlavy.

### ***Prevence neurotoxicity***

Zkoušely se různé strategie pro prevenci neurotoxicity vyvolané cisplatinou. Mezi prvními byly thiolové deriváty (glutathion a amifostin). Výsledky byly velmi rozporuplné a není tedy jasno, zda jsou tyto sloučeniny efektivní v prevenci neurotoxických účinků platinových cytostatik. Navíc se ukázalo, že vyšší koncentrace glutathionu souvisí s vyšší rezistencí nádorových buněk. Podání vitamínu E v dávce  $400 \text{ mg/m}^2$  v případě cisplatin snižovalo riziko rozvoje symptomů (49). Jediný jistý mechanismus, kterým se dá zmírnit neuropatie, která je spojena s podáním cisplatin, je zmenšení dávek a prodloužení doby mezi cykly (51).

V případě oxaliplatinou indukované periferní neuropatie se zkoušelo antikonvulzivum pregabalin, které bylo úspěšné v mírnění projevů chronické neuropatie (49). Vzhledem k předpokladu, že oxalátový ligand je schopný vychytávat  $\text{Ca}^{2+}$  a tím ovlivňovat napěťově řízené sodíkové kanály, byla zkoušena strategie, která předpokládala zmírnění symptomů neuropatie suplementací vápníku. Suplementace se prováděla infuzí  $\text{Ca}^{2+}$  a  $\text{Mg}^{2+}$ . V jedné ze studií (55) se

pozitivní vliv této metody na riziko výskytu chronické či akutní neuropatie neprokázal. Naproti tomu výsledky retrospektivní studie (56) poukázaly na významné snížení pravděpodobnosti výskytu symptomů (zvláště prvního stupně) akutní i chronické neuropatie. Použití  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$  infuzí k prevenci periferní neuropatie je tedy kontroverzní.

### **4.3 Ototoxicita**

Ototoxicita je nežádoucí účinek, který je spojen (v případě platinových cytostatik) hlavně s cisplatinou. Může se projevovat tinnitem, ztrátou sluchu nebo bolesti v uších. Ztráta sluchu často bývá ireverzibilní a bilaterálně symetrická. Mezi rizikové faktory můžeme řadit mladší věk, velkou kumulativní dávku, léčbu dalšími ototoxickými léky a předpokládá se i genetická predispozice. Rozvoj ototoxicity je často opožděný a rozvíjí se postupně (57).

Ukázalo se, že cisplatina interaguje se třemi strukturami ve vnitřním uchu: Cortiho orgán, ganglion cochleare, stria vascularis. Vzhledem k tomu, že cochlea je poměrně uzavřený systém, dochází jen těžko k odstraňování toxinů, tedy i cisplatinu. Kumulace cisplatinu ve vláskových buňkách Cortiho orgánu vyvolává tvorbu velkého množství reaktivních forem kyslíku (ROS). V případě, že antioxidantní schopnosti buněčných enzymů nebudou dostačovat k likvidaci ROS, dojde k poškození buňky a následně i spuštění apoptózy. Mezi enzymy, které mají antioxidantní funkci, můžeme řadit superoxid dismutázu, katalázu, glutathion peroxidázu a glutathion reductázu. Nedostatečná antioxidantní aktivita těchto enzymů může být způsobena jejich inhibicí. Enzymy mohou být inaktivovány přímou vazbou cisplatinu na S-skupinu enzymů. Mezi další mechanismy inhibice můžeme zařadit depleci selenu a mědi, které jsou nepostradatelné pro funkci superoxid dismutázy a glutathion peroxidázy, nebo vyčerpání glutathionu, potřebného pro funkci glutathion peroxidázy a glutathion reductázy (58). Předpokládaný mechanismus vstupu cisplatinu do buněk vnitřního ucha zahrnuje hlavně OCT2 transportér (11).

Existuje několik postupů a látek, které jsou testovány v klinických studiích, u nichž se předpokládá pozitivní vliv na prevenci ototoxicity. Mezi tyto látky řadíme

thiolové sloučeniny (glutathion, amifostin), které mají velkou schopnost vázat cisplatinu. Užití glutathionu nemělo prokazatelný vliv na prevenci ototoxicity. Naopak podání amifostinu před infúzí cisplatinou významně snížilo výskyt ototoxických projevů (34). Vывázání cisplatinou zaručuje protekci buněk před ní, ovšem také způsobuje sníženou protinádorovou aktivitu. Řešením by mohlo být injekční podání thiolových derivátů přímo do středního ucha. Použití agonisty A1 receptoru vyvolává zvýšení aktivity glutathion peroxidázy a superoxid dismutázy, ovšem podání musí být provedeno přes kruhové okénko do vnitřního ucha. Subkutánní aplikace salicylátu sodného měla příznivý vliv na rozvoj ototoxicity a navíc neinteragovala s protinádorovou aktivitou cisplatinou (57,58)

Karboplatina i přesto, že se považuje za méně toxickou než cisplatinou, může způsobovat ototoxicitu. Zhoršení sluchu se projevuje v nižších frekvencích (4000-8000Hz) než v případě cisplatinou (6000-8000Hz) (34). Mechanismus se zdá být podobný jako v případě cisplatinou. Jedná se o poškození buněk ROS. In vitro studie na vlasových buňkách poukázala na to, že N-acetyl-L-cystein a N-nitro-L-argininmethylester zmírňují jejich poškození (59). Oxaliplatinou nemá ototoxické účinky (35).

#### **4.4 Nauzea a zvracení**

Nevolnost a zvracení patří ze strany pacientů k nejobávanějším nežádoucím účinkům chemoterapie. Jedná se o jeden z hlavních důvodů noncompliance. V mechanismu spouštění zvracení se účastní několik neurotransmiterů (serotonin, dopamin, substance P, histamin) a jejich receptorů (5HT<sub>3</sub>, D<sub>2</sub>, NK1, H<sub>1</sub>). Proto se hledaly látky, které jsou antagonisté těchto receptorů a mohou zmírnit pocit nevolnosti a intenzitu zvracení (60).

Léčba cisplatinou patří k vysoce emetogenní terapii a vyvolává u většiny pacientů nauzeu a zvracení. Objev 5HT<sub>3</sub>-antagonistů (ondansetron) a jejich kombinace s kortikosteroidy (dexamethason) výrazně zlepšily průběh léčby, zvláště v případě akutního zvracení, tedy v prvních 24 hodinách po podání cisplatinou (61). Bohužel tyto látky nebyly schopny účinně bránit tzv. opožděnému zvracení 24-120h po podání.

Významným milníkem v léčbě a prevenci zvracení hrálo objevení receptoru NK1 a jeho antagonisty – aprepitantu. Byla provedena multicentrální, randomizovaná, placebem kontrolovaná, dvojitě zaslepená studie, která srovnávala v té době standardní terapií (5HT<sub>3</sub> antagonist a dexamethason) s kombinací této standardní terapie s aprepitantem (61). Studie se účastnilo 1099 pacientů, ze nichž 851 vstoupilo do druhého cyklu chemoterapie (min. dávka cisplatin byla stanovena na 70mg/m<sup>2</sup>). 438 pacientů bylo ve skupině se standardní terapií a 413 ve skupině, kde byla kombinace standardní terapie a aprepitantu. Plná odpověď na léčbu byla definovaná jako žádné zvracení a žádná výrazná nauzea v průběhu 5 dnů od podání cisplatin. Zjistilo se, že plná odpověď byla po prvním cyklu terapie: u skupiny s aprepitantem 61%, u skupiny se standardní terapií 46%. V šestém cyklu klesla plná odpověď u skupiny s aprepitantem na 59% a u skupiny se standardní terapií na 40%. Z čehož vyplývá velký přínos NK1 antagonistů v prevenci akutního i opožděného zvracení.

Konsenzus skupiny MASCC (Multinational Association of Supportive Care in Cancer) a ESMO (European Society for Medical Oncology) vydal doporučení pro prevenci nevolnosti a zvracení u vysoce emetogenní terapie. Pro léčbu cisplatinou je doporučeno podávat kombinaci 5HT<sub>3</sub> antagonisty spolu s apripitantem a dexamethasonem. Byly stanoveny i doporučené dávky těchto látek viz tab. 4 (62).

Nevolnost a zvracení se vyskytuje i při léčbě oxaliplatinou(35) nebo karboplatinou (63). U obou látek jsou projevy slabšího rázu než v případě cisplatin. Tyto projevy se dají dobře zvládnout pomocí 5HT<sub>3</sub>-antagonistů (36).

**Tab. 4: Přehled látek užívaných k prevenci akutního a opožděného zvracení navozeného cisplatinou**

Látka	Dávka per os	Dávka i.v.
<b>5HT3 antagonist</b>		
Palonosetron	X	0,25 mg
Granisetron	2mg	1mg / 0,01mg/kg
Ondansetron	24mg	8mg / 0,15mg/kg
<b>Dexamethason</b>		
PřCh	12mg	12mg
PoCh (2,3,4 den)	8mg	8mg
<b>Apripitant (NK1 antagonist)</b>		
PřCh	125mg	115mg
PoCh (2,3 den)	80mg	X

**PřCh** – před chemoterapií; **PoCh** – po chemoterapii; **X** – nepodává se

#### **4.5 Myelotoxicita**

Největší myelotoxicitou mezi platinovým cytostatiky se vyznačuje karboplatina a v jejím případě se jedná o nežádoucí účinek, který limituje velikost dávky. Míra myelotoxicity vyvolané karboplatinou je závislá na dávce a koreluje s AUC (33).

Myelotoxicita v případě karboplatiny se projevuje hlavně trombocytopenií (počet krevních destiček je menší než  $50000/\text{mm}^3$ ), která se vyskytuje u 20-40% pacientů při standardní dávce 4mg/min/ml (63). Nález nejnižšího počtu krevních destiček připadá na 17-21 den od podání karboplatiny a většinou se vrátí do normálního stavu kolem 28. dne (33). Dalším projevem je neutropenie (počet granulocytů pod  $1000/\text{mm}^3$ ) u 16-21% pacientů při standardní dávce (34). Neutropenie se může zhoršovat, pokud je karboplatina kombinována s dalšími léčivými. Například v případě léčby gynekologických nádorů je výskyt neutropenie mnohem vyšší v kombinační terapii karboplatina/docetaxel nebo karboplatina/paclitaxel/irinotecan (64). U 15% pacientů se projevuje leukopenie (počet bílých krvinek pod  $2000/\text{mm}^3$ ). Anémie (množství hemoglobinu menší než  $11\text{g/dL} = 1,7061\text{ mmol/L}$ ) se vyskytovala u 71% pacientů. Myelotoxický účinek karboplatiny může být potencován, kromě jiných myelotoxických látek, radioterapií (63). Pokus na myších buňkách kostní dřeně poukázal na účinnost L-karnitinu v prevenci myelotoxicity (65).

V případě cisplatiny je nejvýraznějším projevem myelotoxicity anémie. V případě oxaliplatiny je myelotoxicita poměrně vzácná. Neutropenie, anémie nebo trombocytopenie 3-4. stupně se vyskytuje u 2-3% pacientů (34).

**Tab. 5: Přehled nežádoucích účinků spojených s podáním platinových cytostatik**

	<b>Cisplatina</b>	<b>Karboplatina</b>	<b>Oxaliplatina</b>
Nefrotoxicita	++	+	-
Neurotoxicita	++	-	++
Ototoxicita	+	+	-
Nauzea a vomitus	+	+	+
Myelotoxicita	+	++	-

++ - dávku limitující nebo velmi závažný NÚ

+ - projevy jsou středního rázu

- - vzácně se projevující NÚ

## 5. Mechanismus rezistence nádorových buněk vůči platinovým cytostatikům

Sloučeniny platiny jsou velmi účinná cytostatika v mnoha typech nádorů. Jedná se o základ léčby v případě karcinomu ovárie, varlat, kolorektálního karcinomu a spinocelulárního karcinomu hlavy a krku (66). Limitujícím faktorem v používání platinových cytostatik jsou jednak nežádoucí účinky, a jednak rezistence nádorových buněk. Rezistenci můžeme rozdělit na vrozenou a získanou. Příkladem vrozené rezistence je kolorektální karcinom, jehož buňky jsou rezistentní vůči cisplatině i karboplatině (10). Příkladem získané rezistence je karcinom ovárie. Tento nádor je ve většině případů velmi citlivý vůči cisplatině i karboplatině a odpověď na léčbu je dobrá. Bohužel vystavení nádorových buněk cisplatině vyvolává mutaci v genu pro BRCA2 (Breast Cancer 2 susceptibility protein), který hraje důležitou roli v opravě DNA, a změnu citlivosti vůči ní (67).

Existuje několik mechanismů, které jsou zodpovědné za rozvoj rezistence vůči platinovým cytostatikům. Tyto mechanismy zahrnují snížení akumulace léčiva v buňce, zvýšení jeho inaktivace viz obr. 17. Mezi další mechanismy vzniku rezistence patří zvýšení opravy poškozené DNA nebo snížení buněčné odpovědi na toto poškození směrem k apoptóze (10).

### 5.1 Snížení akumulace platinových cytostatik v buňce

#### *Snížený influx*

Influx cisplatinu, jak již bylo uvedeno v části 3.2, je zprostředkován mimo jiné i Ctr1 transportéry. Snížená exprese těchto přenašečů způsobuje nižší intracelulární koncentraci cisplatinu a ve výsledku přispívá k rozvoji rezistence. Tento fakt byl potvrzen na buňkách málobuněčného karcinomu plic. Byly srovnávány citlivé buněčné linie s rezistentní linií (SR2). V případě SR2 byla exprese Ctr1 více než dvakrát menší než v citlivé linii. Transfekce Ctr1 do SR2 zvýšilo influx cisplatinu. Tento mechanismus rezistence je společný pro cisplatinu i karboplatinu (45). Naopak v případě oxaliplatinu se předpokládá menší vliv Ctr1



na celkový influx do buňky, čímž se potvrzuje fakt, že oxaliplatina není zkříženě rezistentní s cisplatinou a karboplatinou (66).

### ***Zvýšený eflux***

Zvýšený eflux platinových cytostatik je spojován hlavně se dvěma transportéry, které se fyziologicky účastní efluxu mědi z buňky – ATP7A a ATP7B. Prokázalo se, že zvýšená exprese těchto transportérů souvisí s nižší kumulací cisplatin v buňce (38). Někteří autoři ovšem tvrdí, že intracelulární koncentrace cisplatin není snížena ale naopak zvýšena. V tomto případě se mechanismus rezistence vysvětluje tím, že kumulace cisplatin neprobíhá v cytosolu ale v endozomech, což jí brání v dosažení a vazbě na DNA (68). ATP7A/B se účastní efluxu cisplatin a karboplatiny, ovšem ne oxaliplatin (66). Kromě těchto transportérů roli v efluxu cisplatin hraje i MRP. Tento protein umí zprostředkovat eflux mnoha různých léků vč. cisplatin. Zvýšená exprese MRP2 transportního proteinu byla nalezená v buňkách rezistentních vůči cisplatině (26).

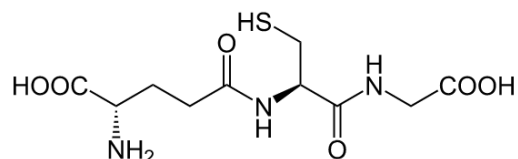
### ***Vliv fyzikálně-chemických vlastností***

Je známo, že extracelulární prostředí nádoru má nižší pH než intracelulární prostředí. Tento rozdíl podporuje vstup slabých kyselin (cisplatin) do buňky. Některé látky ovlivňují pH extracelulárního prostředí a mají tedy vliv na influx. In vitro studie poukázaly na vliv NaCl, které snižuje vstup cisplatin do buňky a negativně ovlivňuje výslednou cytotoxicitu. Z toho vyplývá, že infúze NaCl, které se používají k omezení cisplatinou indukované nefrotoxicity, potenciálně mohou snižovat cytotoxicitu (10). Lipofilita samotné látky hraje roli v přestupu přes buněčnou membránu. V porovnání s cisplatinou má oxaliplatina vyšší lipofilitu a tudíž lépe proniká membránou. Tento fakt může vysvětlit schopnost oxaliplatin překonávat rezistenci nádorových buněk vůči cisplatině (66).

## ***5.2 Zvýšená inaktivace platinových cytostatik***

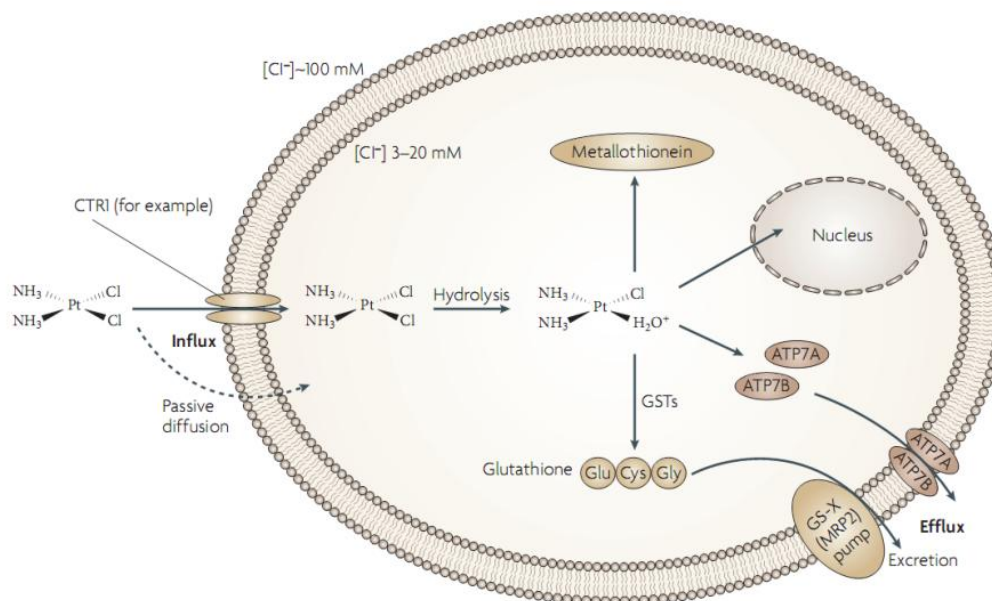
Vlivem snížené koncentrace chloridových iontů v cytosolu dochází k hydrolyze odstupujících skupin platinových cytostatik, čímž se stávají mnohem reaktivnější (viz kapitola 2.1). Takto reaktivní platinové cytostatikum se může navázat mimo

jiné i na thiolové skupiny proteinů. Takto navázané cytostatikum je inaktivované. Nositelem thiolové skupiny je aminokyselina cystein, jak je to i v případě tripeptidu glutathionu, viz obr. 16. Vazba na glutathion je zpravidla neenzymatická, ale může být i zprostředkována glutathion-S-transferázou (36). Zvýšená hladina glutathionu byla nalezena v rezistentních buňkách ovariálního karcinomu a karcinomu močového měchýře (45).



**Obr. 16: Strukturní vzorec glutathionu**

Kromě glutathionu se může aktivované platinové cytostatikum vázat na tzv. metalothioneiny. Jedná se o nízkomolekulární proteiny s vysokým obsahem aminokyseliny cysteinu. Jejich funkce spočívá v udržování homeostázy zinku a mědi, a kromě toho chrání buňku před poškozením těžkými kovy (45). Některé rezistentní buněčné linie (například nemalobuněčný karcinom plic) měly zvýšenou hladinu metalothioneinů (10). Dalším proteinem, který je spojován s inaktivací platinových cytostatik je thioredoxin. Tento protein obsahuje aktivní místo, které se skládá z řetězce Trp-**Cys**-Gly-Pro-**Cys**. Zjistilo se, že zvýšená hladina thioredoxinu koreluje s mírou rezistence vůči platinovým cytostatikům. Zdá se ovšem, že se tento vliv liší podle typu tkáně (69).

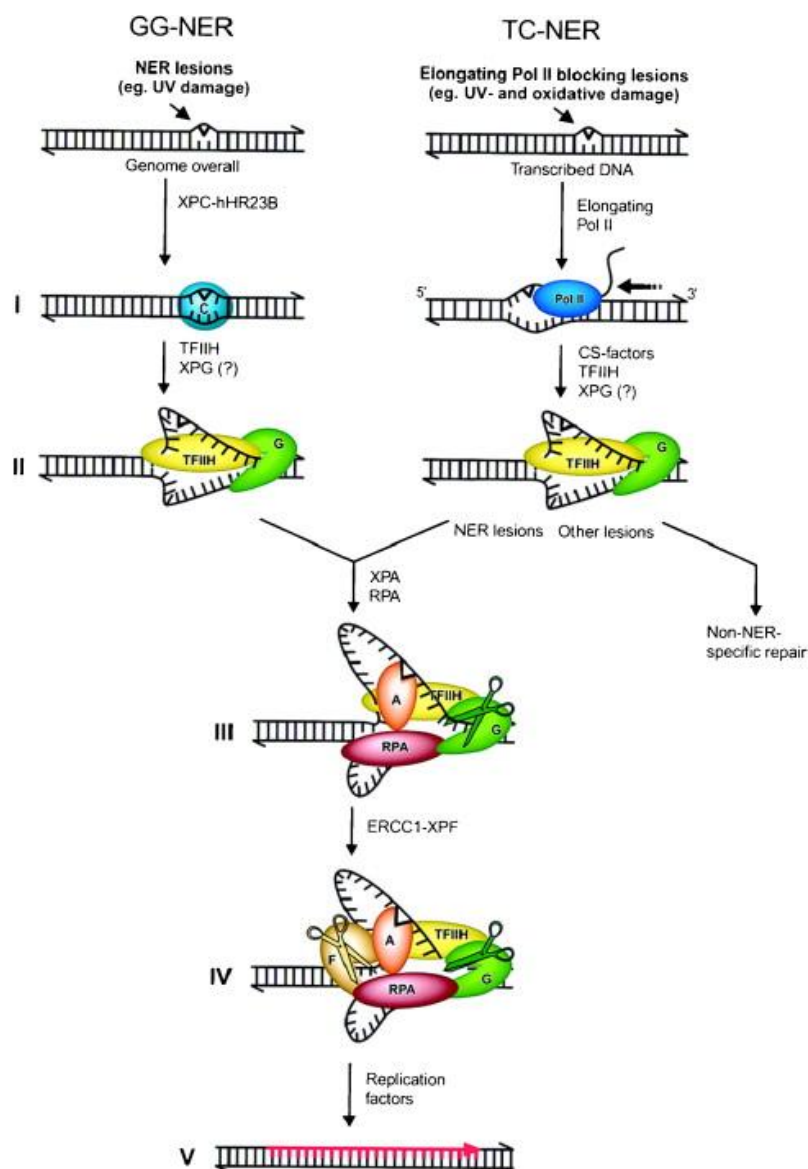


Obr. 17: Mechanismy rezistence spojené s akumulací a inaktivací látky (převzato z ref. 4)

### 5.3 Zvýšení opravy poškozené DNA

Oprava DNA poškozené platinovými cytostatiky probíhá převážně za účasti systému NER. Komplex NER je složen z mnoha různých proteinů, které se účastní rozpoznání poškození a samotné excizní opravy. Platinové adukty způsobují tzv. TC-NER (s transkripcí spřaženou nukleární excizní opravu). Rozpoznání poškození souvisí se zastavením RNA-polymerázy II (70). Důležitou roli v průběhu NER mají XPA (Xeroderma pigmentosum complementation group A protein) a ERCC1 (Excision repair cross-complementing group 1), jenž tvoří komplex s XPF (26) viz obr. 18.

Zvýšená hladina mRNA pro ERCC1 a zvýšená exprese XPA byly nalezeny v buňkách vysoce rezistentních vůči cisplatině (26). Polymorfismus některých proteinů, které se účastní NER, mohou naopak způsobovat zvýšení citlivosti vůči platinovým cytostatikům. Například polymorfismus XPD byl spojován s vyšší účinností u nemalobuněčného karcinomu plic (10). NER není specifická vůči aduktům cisplatin, ale opravuje i adukty způsobené karboplatinou i oxaliplatinou (66).

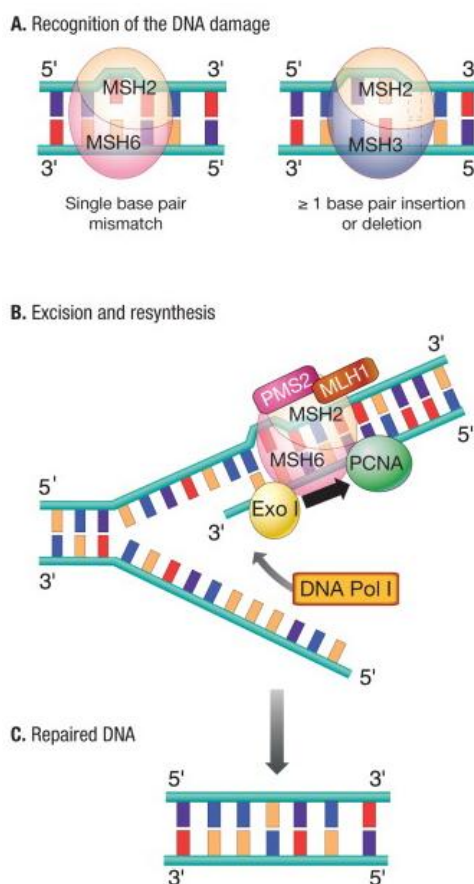


**Obr. 18: Molekulární model průběhu NER (převzato z ref. 86).**

- I. Rozpoznání poškození DNA. V případě TC-NER se jedná o zastavení RNA-polymerázy.
- II. Komplex TFIIH se skládá ze dvou částí XPB a XPD. Tento komplex se váže kolem poškozené části DNA a způsobuje oddělení dvou řetězců (v délce ~20 nukleotidů). Tento krok potřebuje energii ve formě ATP.
- III. XPA se váže na poškozený řetězec a stabilizuje ho. Vazba XPA působí jako verifikace potřebná k provedení excize. Opačný (nepoškozený řetězec) stabilizuje vazba RPA (Replication protein A).
- IV. XPG provádí řez z 3'-strany. Umístění XPG je závislé na TFIIH a RPA. Řez ze strany 5' je zprostředkován pomocí komplexu ERCC1-XPF. Umístění komplexu je zprostředkováno pomocí RPA a XPA
- V. Po excizi následuje vyplnění vzniklé mezery.

## 5.4 Zvýšená tolerance vůči DNA poškození

MMR je systém opravy poškozené DNA a je nepostradatelný v cytotoxicitě cisplatinu (viz kapitola 2.3). Mechanismus opravy pomocí MMR zahrnuje tři kroky. Prvním krokem je rozpoznání nesprávného parování, nebo v případě platinace DNA, rozpoznání aduktu. Tento krok je zprostředkován heterodimerem hMutS $\alpha$  (složený z hMSH2 a hMSH6). Druhým krokem je aktivace exonukleázy 1, která má exonukleázovou aktivitu ve směru 5'→3'. Tato aktivace je zprostředkováná komplexem hMSH2, hMSH6, hMLH1 a hPMS2. Poslední krok je dosyntetizování vystřižené části DNA (71). Mechanismus opravy DNA pomocí MMR je uveden na obr. 19.



Obr. 19: Model opravy DNA pomocí MMR (převzato z ref. 72).

Existuje několik teorií, kterými se může vysvětlovat příspěvek MMR do rezistence vůči cisplatině. Jedna z nich vysvětluje rezistenci tím, že snížená hladina proteinů MMR způsobuje horší rozpoznávání poškození DNA. Tento fakt

vede ke sníženému počtu „marných“ pokusů o její opravu, což následně vede k menší aktivaci apoptózy (10). Rozpoznání aduktu pomocí MMR vede k pozastavení replikace. Pokud je činnost MMR snižena a neproběhně vazba na adukt, může docházet k bypassu poškození a přežití buňky (66). Tento bypass je zprostředkován polymerázou  $\zeta$  (45). Zjistilo se, že nedostatek proteinů MMR je způsoben hypermethylovací promoterů obou alel hMLH1, kdežto v buňkách senzitivních k cisplatině je hypermethylování pouze jednoho z nich. Tato hypermethylování způsobuje „útlumění“ genu hMLH1. Další vysvětlení nefunkčnosti MMR je založeno na mutaci genu pro hMLH1 a hMSH2 (73).

MMR se účastní cytotoxicity a rezistence jak cisplatinou tak i karboplatinou a způsobuje jejich zkříženou rezistenci. Naproti tomu adukty oxaliplatinou nejsou rozpoznávány hMutS $\alpha$  a tudíž se jedná o další mechanismus, který způsobuje rozdíl mezi účinností a rezistencí těchto látek (25).

Snížená odpověď na poškození DNA vyvolané platinovými cytostatiky může souviset i se zvýšeným replikačním bypassem jimi tvořených aduktu. V tomto mechanismu hrají roli dvě polymerázy, jež mají tuto schopnost a to polymeráza  $\beta$  a  $\eta$  (4).

## **5.5 Vliv p53 na rezistenci**

### ***Mutace v p53 genu***

Mutace genu pro p53 může způsobovat rezistenci nádorových buněk vůči platinovým cytostatikům. p53 hraje ústřední roli ve spouštění apoptózy. Mutace v p53 genu může rapidně snížit aktivitu p53 a tím zvýšit toleranci buněčného aparátu vůči poškození DNA. Tento fakt potvrzuje nález zmutovaného genu p53 v buňkách nádoru vaječníků vysoce rezistentních vůči cisplatině nebo metastazujícího nádoru močového měchýře. Naopak buňky nádoru varlat, které jsou citlivé k cisplatině, obsahovaly spíše wild-type p53 (26).

Mutace p53 způsobuje konformační změny ve struktuře proteinu a tím brání v jeho vazbě na promotéry genu, které jsou transaktivovány pomocí p53. Tento fakt způsobuje sníženou expresi proapoptických proteinů a tím snižuje citlivost vůči platinovým cytostatikům (74). Kromě toho, že p53 ovlivňuje apoptózu, účastní se

i zastavení cyklu v G1 fázi, ve které je buňka nejcitlivější vůči cisplatině. Zmutované p53 může tuto funkci postrádat, čímž je účinnost cisplatin snížena (26).

Kromě toho, že mutace způsobuje nefunkčnost p53, může způsobit i změnu funkcí, které následně plní. Jedná se o tzv. „gain-of-function” neboli v překladu – získ funkce. V tomto případě se jedná o alteraci transaktivačních schopností p53. Mezi nové cíle zmutovaného p53 patří promotery genů pro VEGF/EGFR/BFGF (růstové faktory), BAG-1 a Mdr1 (P-glycoprotein). Bag-1 zodpovídá za zesílení funkce protiapoptického proteinu Bcl-2 (75). Z výše popsaného vyplývá, že změna účinku p53 může způsobit zvýšenou rezistenci (Mdr1), zvýšené přežívání buňky (BAG-1) a kromě toho i zesílení růstu nádoru vlivem růstových faktorů (74).

### ***Rezistence související s WT-p53***

Rezistence vůči platinovým cytostatikům nebyla pozorována jen u buněk s mutací genu pro p53, ale i v buňkách, kde se vyskytoval WT-p53. Tento fakt může souviset se zvýšením degradace nebo snížením aktivity p53. Degradace může být spojena s různými proteiny, které se mohou vázat na p53. Mezi tyto proteiny řadíme onkogen E6 v buňkách HPV-16 (lidský papillomavirus), který spouští ubiquitinaci p53. Tento fakt způsobuje rezistenci nádoru děložního čípku vůči cisplatině (74). Další protein, který se významně podílí na degradaci p53 je Mdm2, který zpětnou negativní vazbou reguluje jak aktivitu, tak i množství p53 (76). Zvýšená exprese Mdm2 se dává do souvislosti s rezistencí vůči cisplatině (74).

## ***5.6 Inhibice apoptózy***

### ***XIAP***

Zvýšená exprese protiapoptického faktoru XIAP snižuje účinnost platinových cytostatik. Porovnání tří buněčných linií NSCLC (CH27, A549 a H460) poukázalo na to, že XIAP hraje důležitou roli v rezistenci vůči cisplatině. V buňkách H460, které měly zvýšenou expresi XIAP, docházelo ve větší míře k blokaci aktivity kaspázy 3 a tím ke snížené odpovědi vůči cisplatině. Buňky CH27 a A549 s menší expresí XIAP byly naopak více citlivé (77). Zkoušejí se nové látky, které

by dokázaly překonat rezistenci spojenou s XIAP. Smac (second mitochondria-derived activator of caspases) svojí vazbou na XIAP narušuje její inhibiční funkci. Použití Smac-mimic zesílilo apoptózu a aktivitu kaspázy 3 v buňkách H460 (78).

### ***Rodina Bcl-2***

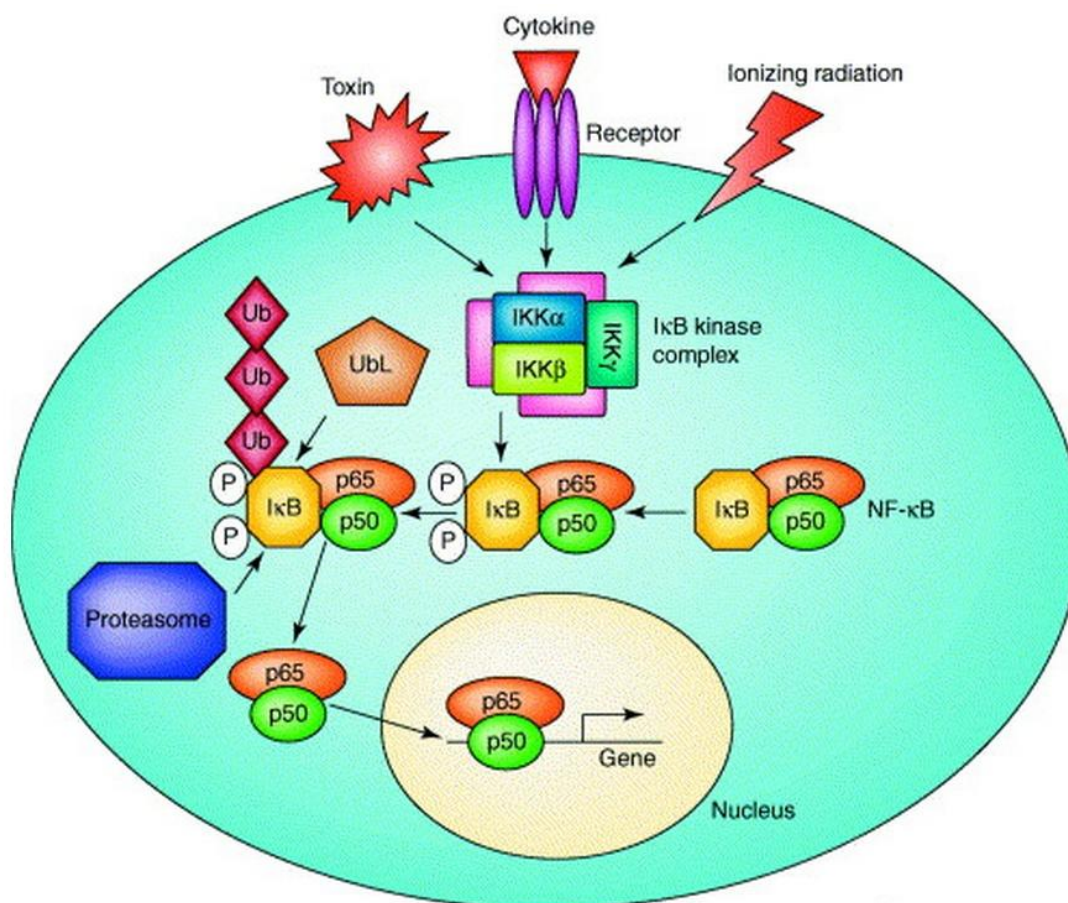
Členy rodiny Bcl-2 se účastní regulace apoptózy. Patří tam jak proapoptické (Bax, Bak), tak i protiapoptické (Bcl-2, Bcl-xL) bílkoviny. Poměr pro- a protiapoptických faktorů rozhoduje o tom, zda bude apoptóza zahájena či nikoliv (79). Zvýšená exprese Bcl-2 nebo Bcl-xL je často spojená s rezistencí vůči cisplatině v buňkách karcinomu vaječníků (80).

### ***NF-κB***

NF-κB je dalším z řady proteinů, které mají vliv na průběh apoptózy, a které kromě toho usnadňují buněčnou adhezi, angiogenezi a metastazování. Aktivace NF-κB má tedy význam v maligní transformaci nádoru, růstu nádoru a hraje roli i v chemorezistenci. Neaktivovaný NF-κB se nachází v cytoplazmě. Po aktivaci vstoupí do jádra, kde způsobuje transaktivaci genů pro výše popsané funkce (81). Aktivace NF-κB je zobrazená na obr. 20.

Vzhledem k tomu, že aktivovaný NF-κB transaktivuje protiapoptické geny (IAP a Bcl-xL), byl tento faktor spojován hlavně s rezistencí vůči cisplatině. Ovšem jsou i studie, kde se zjistilo, že NF-κB je naopak potřebný pro spouštění apoptózy. Tento fakt byl potvrzen na buněčných liniích HN3 a HN4 (buněčné linie spinocelulárního karcinomu hlavy a krku). Zjistilo se, že cisplatina indukuje degradaci IκBα a tím zvyšuje aktivitu NF-κB. Zvýšená aktivita následně podporuje expresi TNFα, který se váže na tzv. receptory smrti a tím spouští vnější cestu aktivace apoptózy (82).





**Obr. 20: Průběh aktivace NF-κB (převzato z ref. 83).**

Některé vnější signály jako jsou radiace, cytokiny nebo toxiny mohou aktivovat IKK [inhibitor-of-NF-κB (IκB) kinase komplex]. IKK následně fosforyluje IκB, který je vázaný na samotný NF-κB. NF-κB je heterodimer složený ze dvou proteinů p65 a p50. Tato fosforylace je signálem pro ubikvitin-ligázu k ubikvitinaci IκB, který je následně proteazomálně degradován a tím se uvolňuje NF-κB. NF-κB poté přejde do jádra, kde spouští transkripci NF-κB-závislých genů. **Ub** – ubikvitin.

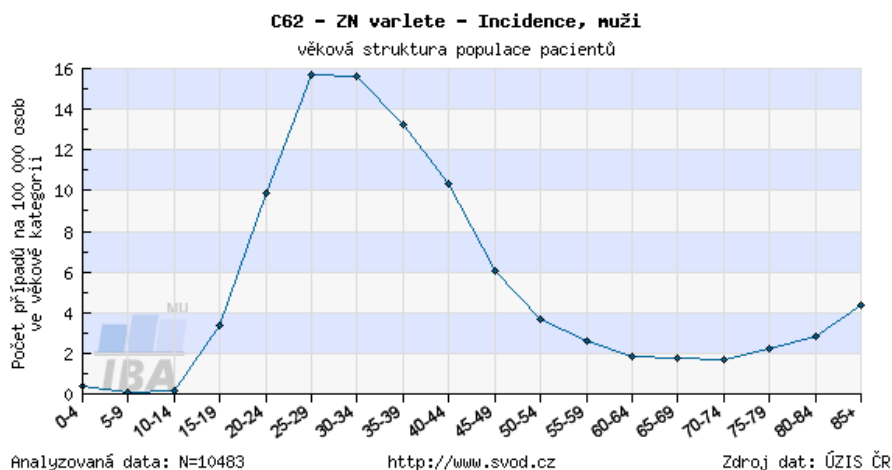
## **6. Indikace platinových cytostatik**

Platinová cytostatika se používají v různých indikacích, mezi které řadíme nádory varlat, nádor vaječníků a jiné gynekologické nádory, nádory hlavy a krku, všechny formy nádoru plic, kolonorektální karcinom a nádor žaludku (36) viz tab. 8. V těchto indikacích se můžou používat buď jako monoterapie nebo v kombinaci s dalšími cytotoxickými látkami.

### **6.1 Zhoubné nádory varlat**

Zhoubné nádory varlat patří ve věkové skupině 25-35 let k nejčastějším maligním nádorům s incidencí 16 případů na 100 000 osob viz obr. 20 (84). Z histologického hlediska je můžeme dělit na seminomy a neseminomy. Seminomy vycházejí z částečně diferencovaných buněk semenných kanálků (spermatogonií a spermatocytů), neseminomy z pluripotentních zárodečných buněk (85). Z celkové incidence nádorů varlat patří seminomu 40% a neseminomu 60% (86).

Mezi rizikové faktory můžeme řadit genetickou predispozici. Šance na vznik zhoubného nádoru varlat je u synů 6x vyšší v případě, že se tento nádor vyvinul u otce. Dalším potvrzeným rizikovým faktorem je kryptorchismus (porucha sestupu jednoho nebo obou varlat do šourku). V tomto případě se riziko pohybuje 3,5-17% a je tím vyšší, čím později je provedena orchidopexie (chirurgický zákrok, jehož cílem je fixace nesestouplého varlete v šourku). Tento zákrok musí být provedený před pubertou, v opačném případě již nehraje roli ve snížení rizika rozvoje nádoru varlat (85).



**Obr. 20: Věkové rozložení incidence zhoubného nádoru varlat (převzato z ref. 84)**

### **Cisplatina**

Objev cisplatinu a její následné zařazení do léčby nádoru varlat zvýšilo šance pacientů na přežití. Úplná odpověď na léčbu je v průměru u 80% nemocných (87). Cisplatina se v léčbě zhoubných nádorů varlete používá v několika kurativních chemoterapeutických režimech 1. a 2. linie. Režimy doporučené ČOS ČLS JEP vč. dávkování jsou uvedeny v tab. 6. Počet cyklů je ovlivněn stádiem nemoci, většinou jsou to 3 cykly režimu BEP nebo 4 režimu EP (88).

**Tab. 6: Přehled dávkovacích režimů 1. a 2. linie léčby zhoubného nádoru varlat zahrnujících cisplatinu.**

Režimy 1. Linie	dávkování (mg/m <sup>2</sup> )	den	opakování cyklu
<b>(B)EP</b>			každé 3 týdny
bleomycin	30 mg	1., 8., 15.	
etoposid	100	1-5.	
cisplatina	20	1-5.	
<b>VIP</b>			každé 3 týdny
ifosfamid	1200		
mesna	1200	1.-5.	
etoposid	75	1-5.	
cisplatina	20	1-5.	
Režimy 2. linie	dávkování (mg/m <sup>2</sup> )	den	opakování cyklu
<b>VeIP</b>			každé 3 týdny
ifosfamid	1200		
mesna	400 po 8h.	1.-5.	
vinblastin	0,11 mg/kg	1., 2.	
cisplatina	20	1-5.	
<b>TIP</b>			každé 3 týdny
ifosfamid	1200		
mesna	800	1.-5.	
paklitaxel	175	1.	
cisplatina	20	1-5.	

### ***Karboplatina***

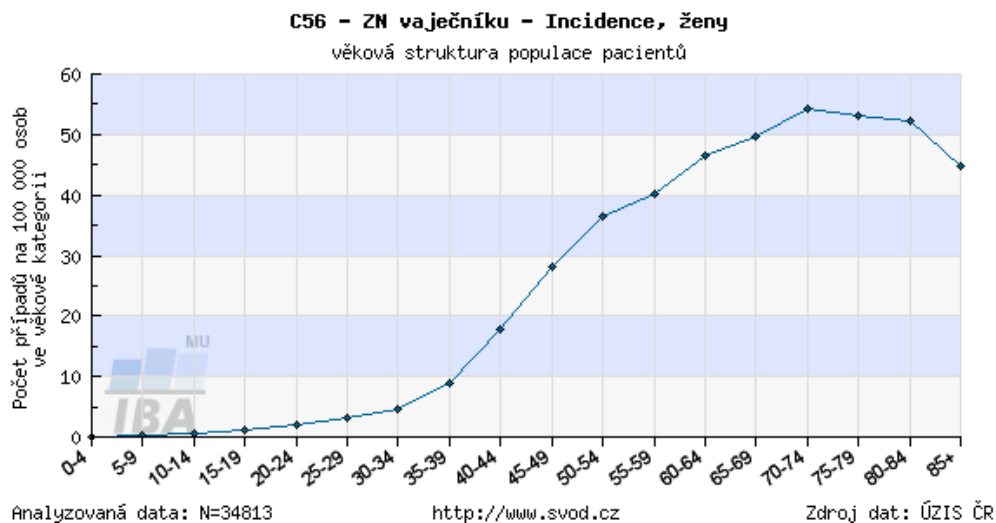
Karboplatina se v léčbě nádorů varlat podle doporučených postupů využívá pouze jako monoterapie v I. stadiu seminomu jako lék první linie. Jedná se o jednorázovou aplikaci s dávkou vycházející z AUC = 7 min/mg/ml. Podávání se opakuje každé 3 týdny (5). Náhrada cisplatinou karboplatinou (AUC = 5 min/mg/ml 1. den) v kombinační terapii s etoposidem (100 mg/m<sup>2</sup> 1.-5. den) a bleomycinem (30mg 2. den) byly zkoušeny u pokročilého seminomu. Výsledky poukázaly na srovnatelnou efektivitu CEB (karboplatina, etoposid, bleomycin) a BEP, ovšem s přijatelnější toxicitou v případě CEB. CEB tedy může být vhodnou alternativou k BEP v případě intolerance cisplatinou (89).

### ***Oxaliplatina***

Oxaliplatina se dle doporučených postupů využívá pouze v paliativní léčbě nádorů varlat u pacientů, kteří byli předléčeni cisplatinou (dvě řady kurativní léčby) nebo u pacientů, kteří nereagují na cisplatinu (progrese nádoru v průběhu léčby nebo do 4. týdne od jejího ukončení). Oxaliplatina se podává 1. den v dávce 130 mg/m<sup>2</sup> v kombinaci s gemcitabinem 1. a 8. den v dávce 1000-1250 mg/m<sup>2</sup>. Cyklus se opakuje každé tři týdny (88). Ve dvou klinických studiích ve 2. fázi se sledovala účinnost kombinace oxaliplatinou s gemcitabinem (GO) nebo kombinace oxaliplatina s gemcitabinem a paklitaxelem (GOP) u pacientů s germinálními nádory refrakterními na cisplatinu, nebo v případě pacientů s častým relapsem. Zjistilo se, že pacienti s režimem GOP měli vyšší šanci (17%) dlouhodobého přežití (>2 roky) než pacienti s režimem GO (3%) (90).

## **6.2 Nádor vaječníků**

Prudký nárůst incidence nádoru vaječníků je pozorován od věku 30let. Největší incidence (až 55 případů na 100 000 osob) je ve věkové skupině 70-74let viz obr. 21 (91). Šance na dlouhodobé přežití (>5 let) závisí na klinickém stadiu onemocnění. V I. stadiu dosahují 5letého přežití 70-80% pacientů ve IV. stadiu již méně než 10% (92).



**Obr. 21: Věkové rozložení incidence zhoubného nádoru vaječníků (převzato z ref. 91)**

Jako rizikový faktor se předpokládá genetický vliv (mutace v genech BRCA1 a BRCA2). Z histologického hlediska můžeme dělit nádory ovarií na tři skupiny: epiteliální nádory, nádory z gonadálního mezodermu a germinální nádory. Až v 90% všech zhoubných nádorů ovarií se jedná o nádory epiteliální (92).

Základem léčby epiteliálních nádorů ovarií jsou platinová cytostatika (cisplatin a karboplatin). V současné době vzhledem k menší toxicitě karboplatiny, její jednodušší aplikaci a srovnatelné efektivitě s cisplatinou (36) je právě karboplatin základem léčby (5). Cisplatin ovšem vedle karboplatiny je stále doporučována do kombinační terapie 1. linie viz tab. 7 (93).

Karboplatin se využívá podle doporučených postupů ČOS ČLS JEP jako lék první volby ve všech klinických stádiích nemoci v kombinaci s paklitaxelem. Rozdíly jsou v počtu cyklů, kdy v I. stadiu je počet cyklů stanoven na 3-6, v II.-IV. stadiu pak na 6-8. Jednotlivý cyklus se opakuje po 21 dnech. Místo paklitaxelu je možné do kombinace využít docetaxel. Kombinace karboplatiny s docetaxelem vykazovala stejnou účinnost, ale menší výskyt periferní neuropatie než kombinace s paklitaxelem (94). Tato kombinace je zařazena mezi standardní terapie epiteliálního nádoru vaječníků viz tab. 7.

Tab. 7: Standartní terapie epiteliálního nádoru ovarii

Platinové cytostatikum	Cytostatikum do kombinace	Dávkování
Karboplatina 1. den		AUC = 5-6
	paklitaxel 1., 8., 15. den nebo	80 mg/m <sup>2</sup>
	paklitaxel 1. den nebo	175 mg/m <sup>2</sup>
	docetaxel 1. den	60-75 mg/m <sup>2</sup>
Cisplatina 1. den		75 mg/m <sup>2</sup>
	Paklitaxel 1. den	175 mg/m <sup>2</sup>

Cisplatina v dávkách 50-100 mg/m<sup>2</sup> se využívá v alternativních režimech v kombinaci s dalšími cytostatiky: doxorubicin, cyklofosfamid nebo epirubicin. Karboplatina se v alternativních režimech využívá buď v monoterapii s dávkováním AUC = 6-7,5 min/mg/ml nebo v kombinaci s cyklofosfamidem, kde je cílová AUC stanovena na 5-6 min/mg/ml (93).

V případě recidivy onemocnění se nádor považuje za platina-rezistentní, pokud relaps nastal do 6 měsíců od ukončení primární terapie. V tomto případě se chemoterapie založená na platinových cytostaticích nepoužívá a používá se monoterapie (93). V případě, že relaps nastal po 6. měsících od ukončení léčby, dosahuje použití chemoterapie s platinovými cytostatiky lepšího výsledku než v případě monoterapie (92).

V léčbě germinálních nádorů a nádorů z gonadálního mezodermu se využívají stejné režimy jako v léčbě germinálních nádorů varlat tedy EP a BEP, které se považují za 1. linii terapie (93). Kombinace karboplatiny a paklitaxelu se zkouší jako kombinace pro druhou linii terapie (95).

### **6.3 Další gynekologické nádory**

Platinová cytostatika se využívají v léčbě řady dalších gynekologických nádorů buď jako adjuvantní terapie, nebo jako látka potencující kurativní radioterapii.

#### **Zhoubný nádor těla děložního**

Při léčbě těla děložního se z platinových cytostatik využívá cisplatina a karboplatina. Jako terapie první linie se využívá cisplatina v dávce 50mg/m<sup>2</sup> v kombinaci s doxorubicinem a někdy i paklitaxelem, karboplatina

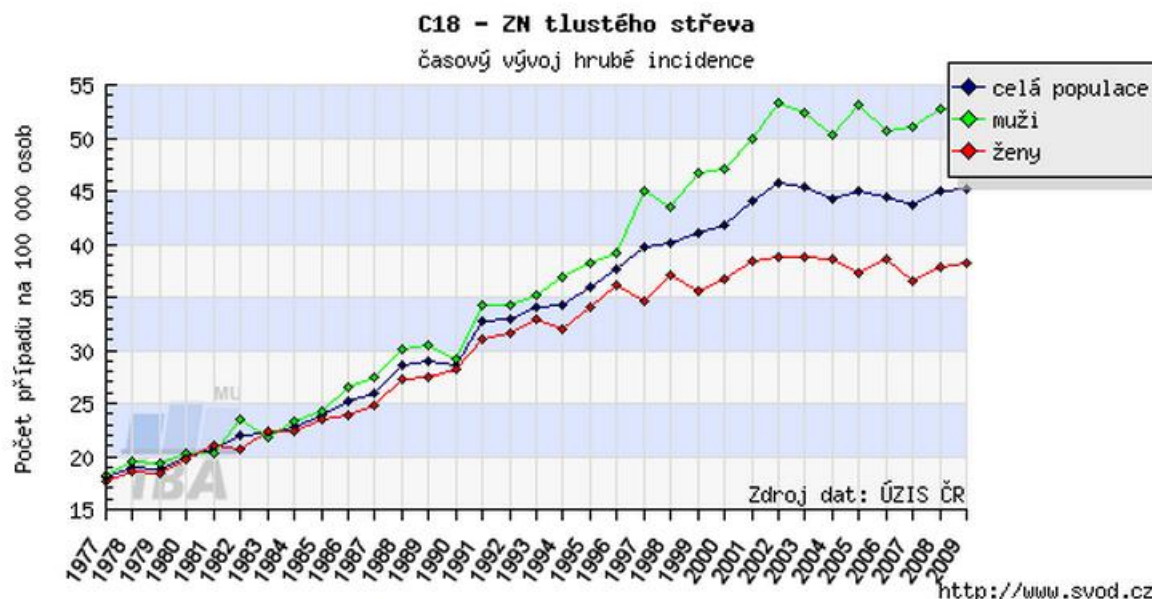
s AUC = 5-6 min/mg/ml v kombinaci s paklitaxelem. Stejně kombinace jako v případě první linie léčby se dají použít i jako terapie druhé linie v případě recidivy. Jako druhá linie léčby se dá použít i režim PAC (cisplatina v dávce 50mg/m<sup>2</sup> první den cyklu, doxorubicin, cyklofosfamid) (96).

### ***Zhoubný nádor hrdla děložního***

V případě zhoubného nádoru hrdla děložního je základem kurativní léčby radioterapie. Použití platinových cytostatik v této indikaci je doporučeno jako konkomitantní terapie. Používá se cisplatina v dávce 40mg/m<sup>2</sup> jednou týdně (97). Přidání cisplatiny k radioterapii zlepšilo šance na pětileté přežití na 66% z původních 60%. Nejvíce prospěchu z chemoradioterapií mají pacienti ve I. a II. klinickém stadiu nemoci (98). Platinová cytostatika se používají i v léčbě recidivy nádoru hrdla děložního. Používá se převážně cisplatina buď v monoterapii v dávce 50-75 mg/m<sup>2</sup> nebo v kombinační terapii v dávce 50 mg/m<sup>2</sup> jednou týdně s paklitaxelem nebo topotecanem. V kombinaci s gemcitabinem je dávkování cisplatiny stanoveno na 30 mg/m<sup>2</sup> 1.-8. den cyklu. Případně se dá použít i karboplatina (AUC = 5) v kombinaci s paklitaxelem (97).

### ***6.4 Kolorektální karcinom***

Kolorektální karcinom je ve světě třetí nejběžnější malignitou (99). Projevuje se hlavně u lidí starších 50 let a větší incidence je zaznamenána v mužské populaci viz obr. 22 (100). Mezi rizikové faktory rozvoje kolorektálního karcinomu patří genetická predispozice, kouření, složení stravy, nadužívání NSAID a Crohnova choroba (99).



**Obr. 22: Porovnání incidence kolorektálního karcinomu mezi mužskou a ženskou populací (převzato z ref. 101)**

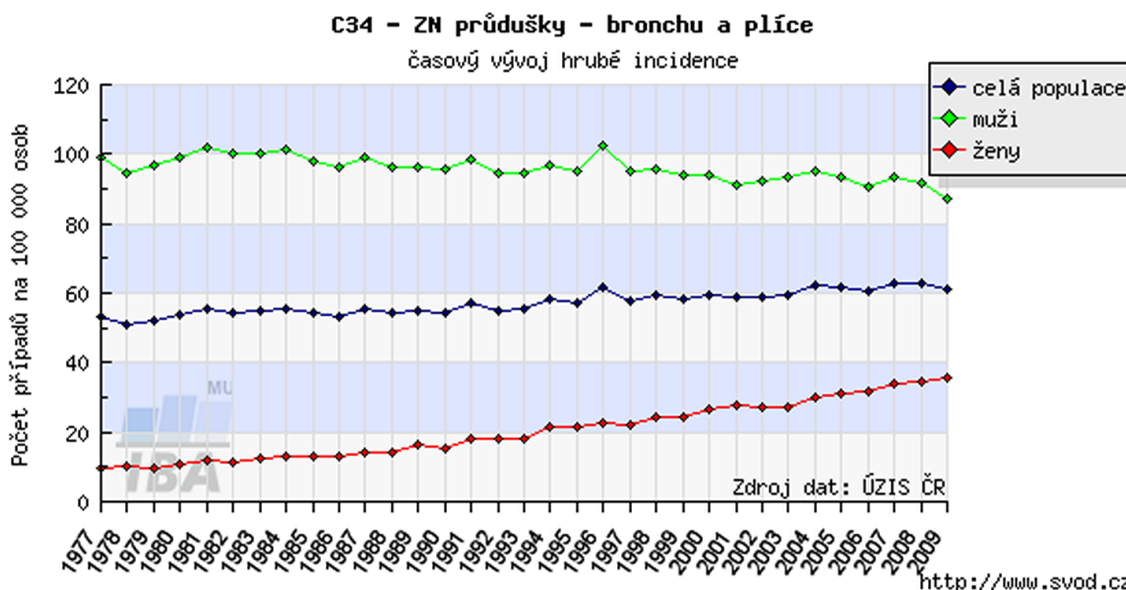
Chemoterapie v případě kolorektálního karcinomu je doporučována jako adjuvantní léčba po chirurgickém odstranění nádoru až od II. klinického stadia nemoci. Pokud je nemoc již ve IV. klinickém stadiu, je nutno považovat chemoterapii za paliativní. Oxaliplatina je jediné platinové cytostatikum, které se používá v léčbě kolorektálního karcinomu a je v doporučených postupech ČOS ČLS JEP. Používá se jednak v monoterapii při paliativní léčbě, a jednak v kombinované terapii. Oxaliplatina je součástí režimu FOLFOX 4, FOLFOX 6, FOLFOX 7, FLOX a XELOX. V monoterapii se oxaliplatina podává v dávce  $130 \text{ mg/m}^2$  jako dvouhodinová infúze. V případě režimů FOLFOX 4/6/7 a FLOX je oxaliplatina v dávkách  $85/100/130 \text{ mg/m}^2$  a  $85 \text{ mg/m}^2$  kombinovaná s 5-FU a leukovorinem. Režim XELOX je kombinací oxaliplatiny v dávce  $130 \text{ mg/m}^2$  a kapecitabinu (102).

Oxaliplatina inhibuje expresi thymidylát syntázy, což hraje roli v synergismu s 5-FU a kapecitabinem, které inhibují samotný enzym a také v synergismu s leukovorinem, který zesiluje a prodlužuje dobu inhibice. Tento enzym hraje roli v syntéze tymidinu de novo (103).



## 6.5 Zhoubné nádory plic

V ČR dosahovala úmrtnost na zhoubný nádor plic 50 případů na 100 000 osob. Incidence je vyšší u mužů, i když v mužské populaci dochází ke snížení počtu nových případů, na rozdíl od ženské populace, kde je zaznamenán jejich nárůst (104) viz obr. 23.



Obr. 23: Porovnání incidence zhoubného nádoru plic mezi mužskou a ženskou populací (převzato z ref. 104)

Hlavním rizikovým faktorem v rozvoji zhoubného nádoru plic je kouření, které způsobuje až 80% z celkové incidence (105). Nádory plic můžeme dělit na nemalobuněčný (NSCLC) a malobuněčný (SCLC) karcinom, který se vyskytuje ve 20-25% případů. SCLC na rozdíl od NSCLC rostou rychle a rychle metastazují. Ze začátku jsou dobře citlivé jak na radio- tak i na chemoterapii. NSCLC naproti tomu roste a metastazuje pomaleji, je ovšem málo citlivý k radio- či chemoterapii. NSCLC můžeme dále podle histologie dělit na spinocelulární, který vychází z metaplazie dlaždicových buněk, adenokarcinom, který je často charakterizován přítomností hleny a velkobuněčný karcinom, který není diferencován. SCLC můžeme rozdělit podle rozsahu nádoru na limitované a extenzivní stadium. SCLC v extenzivním stadiu postihuje víc než polovinu hrudníku (106).

Platinová cytostatika (cisplatina a karboplatina) se využívají v léčbě II.-IV. klinického stadia NSCLC v kombinační terapii s cytostatiky 3. generace. Tyto

kombinace se používají jako neoadjuvantní, adjuvantní a paliativní léčba a jsou shrnuty v tab. 7 (107). Cisplatina i karboplatina se podávají vždy první den cyklu, který se opakuje jednou za 3 týdny. Největší šanci na jednoleté přežití u pacientů s III. nebo IV. stadiem NSCLC poskytuje dle retrospektivní studie (108) kombinace pemetrexed+cisplatina v případě spinocelulárního karcinomu (47%) a v případě jiného než spinocelulárního karcinomu kombinace vinorelbin+cisplatina (59%).

**Tab. 7: Kombinace cytostatik v léčbě nemalobuněčného karcinomu plic**

Typ léčby	Pt. cytostatikum	Cytostatikum 3. gen do kombinace
NSCLC (NA)	karboplatina AUC = 6	paklitaxel
NSCLC (A)	karboplatina AUC = 5	paklitaxel / vinorelbin
NSCLC (P)	cisplatina 75-80 mg/m <sup>2</sup> cisplatina 50 mg/m <sup>2</sup> karboplatina AUC = 5-6 karboplatina AUC = 6	docetaxel / vonorelbin / gemcitabin/ pemetrexed ifosfamid + mitomycin vinorelbin / docetaxel / gemcitabin paklitaxel + bevacizumab

NA – neoadjuvantní, A – adjuvantní, P – paliativní

V případě SCLC se cisplatina (80 mg/m<sup>2</sup>) nebo karboplatina (AUC = 5) kombinují s etopozidem (107). Oxaliplatin může podle klinické studie (109) být vhodnou alternativou za cisplatinu nebo karboplatinu v první linii léčby. Oxaliplatin v dávce 100mg/m<sup>2</sup> byla kombinována s pemetrexedem a bevacizumabem pro léčbu IV. stadia NSCLC (nespinocelulární). Odpověď na léčbu byla srovnatelná s kombinací karboplatina+paklitaxel+bevacizumab a samotná léčba byla dobře tolerována.

## 6.6 Ostatní nádory

### *Spinocelulární karcinomy hlavy a krku*

Do skupiny nádorů hlavy a krku patří nádory rtů, dutiny ústní, jazyka, dutiny nosní, paranazálních dutin, nádory hrtanu a slinných žláz (106). Základem léčby je chirurgické odstranění nádoru a radioterapie. Platinová cytostatika se využívají konkomitantně k radioterapii nebo jako terapie paliativní v případě recidivujících a inoperabilních nádorů. Jako konkomitantní terapie se využívá cisplatin v její standardní dávce 100 mg/m<sup>2</sup> jednou za tři týdny. V paliativní terapii se uplatňuje

jak monoterapie cisplatinou v dávkách 100 mg/m<sup>2</sup>, tak i karboplatinou AUC = 6-7 případně jejich kombinace s 5-FU nebo taxany (110).

### **Zhoubný nádor žaludku**

Histologicky jde o maligní transformaci cylindrického epitelu. Ve většině případů se jedná o adenokarcinom. Mezi rizikové faktory patří H. pylori, kouření, nedostatek vitamínu A a C, karcinogeny v potravě (106). Cisplatina a oxaliplatina se používají převážně jako paliativní terapie. Za standardní se považuje režim ECF – kombinace cisplatin (60 mg/m<sup>2</sup> jednou za 3 týdny) s 5-FU a epirubicinem (111). Pouze léčba oxaliplatinou v kombinaci s kapecitabinem se dá považovat za adjuvantní, ale pouze za podmínky, že je nádor resektabilní. Tato kombinace prodlužuje bezpříznakové období a dobu přežití (112).

### **Zhoubný nádor močového měchýře**

Zhoubný nádor močového měchýře většinou vychází z přechodného epitelu (106). Chemoterapie se používá buď jako neoadjuvantní (cisplatina v kombinaci s gemcitabinem nebo metotrexát + vinblastin + doxorubicin) nebo jako paliativní v případě neoperabilního metastazujícího nádoru (stejně kombinace jako pro neoadjuvantní terapii + kombinace karboplatiny s gemcitabinem) (113). Synergismus mezi cisplatinou a gemcitabinem byl zkoumán na buňkách neoplastu. Zjistilo se, že gemcitabin inhibuje NER a snižuje expresi ATP7A, čímž ovlivňuje dvě cesty vzniku rezistence vůči cisplatině, což následně vede k vyšší platinaci DNA a tím i k větší účinnosti (114).

**Tab. 8: Přehled indikací, ve kterých se používají platinová cytostatika**

<b>Nádor</b>	<b>Cisplatina</b>	<b>Karboplatina</b>	<b>Oxaliplatina</b>
Varlat	+	+	+
Vaječnicků	+	+	–
Těla děložního	+	+	–
Hrdla děložního	+	+	–
Kolorektální	–	–	+
Plic	+	+	+
Hlavy a krku	+	+	–
Žaludku	+	–	+
Močového měchýře	+	+	–

+ - používá se; – - nepoužívá se

## IV. Diskuse

Platinová cytostatika prošla dlouhým vývojem od jejich objevení. Vzorovou látkou pro tuto skupinu cytostatik byla cisplatina. Mnoho nových látek vstoupilo do klinických studií, ale pouze několik z nich bylo schváleno k použití (5). Vývoj těchto látek směřoval zpočátku hlavně k omezení nežádoucích účinků, které se vyskytují během léčby cisplatinou. Podařilo se to až zavedením cyklobutandikarboxylu na místo odstupující skupiny (5). Karboplatina má mírnější projevy nefro-, neuro- a ototoxicity v porovnání s cisplatinou (7), bohužel sdílí některé mechanismy rezistence s cisplatinou vzhledem k identickému aniontovému ligandu, který vytváří stejné adukty s DNA (21). Tyto mechanismy zahrnují především influx a eflux léčiva do buněk (45,66) nebo rozpoznávání pomocí MMR (25). Další výzkum se tedy zaměřil převážně na překonávání rezistence. V tomto směru se uplatnila tzv. DACH rodina platinových cytostatik. První registrovanou látkou se stala oxaliplatina (9). Aniontový ligand v případě DACH je v porovnání s aniontovým ligandem cisplatiny a karboplatiny lipofilnější a objemnější a tím pádem způsobuje jiné konformační změny v okolí aduktu (21). Tyto změny způsobují odlišné rozpoznávání proteiny vč. MMR (31,32). Kromě toho oxaliplatina se nepřenáší pomocí ATP7A/B viz tab. 2, tedy proteinů účastnících se rezistenčních mechanismů v případě cisplatiny a karboplatiny.

Mechanismus účinku platinových cytostatik je komplexní a zahrnuje několik systémů, např. MMR či pozastavení buněčného cyklu, a mnoho signálních molekul včetně p53, pro- a protiapoptických faktorů. Rezistence vůči platinovým cytostatikům je multifaktoriální. Jedná se o soubor více či méně významných pochodů vedoucích k necitlivosti nádorových buněk vůči platinovým cytostatikům. Zásadní pro účinnosti je intracelulární akumulace látky, ve které významnou roli mimo jiné hrají výše zmíněné efluxní transportéry ATP7A/B. Vysvětlení mechanismů, kterými tyto transportéry přispívají k rozvoji rezistence, je rozporuplné. Na jedné straně je předpokládána snížená koncentrace platinových cytostatik v buňce (38), na straně druhé se naopak předpokládá zvýšená intracelulární koncentrace platinových cytostatik, ovšem nikoliv v cytoplasmě, ale v endozómech, čímž se zamezuje přístupu těchto látek k DNA (68). V každém

případě inhibice těchto transportérů může přispět ke zvýšení účinnosti platinových cytostatik v rezistentních buňkách. Účinnost v tomto směru prokázala metoda siRNA (small interference RNA), která byla schopná zprostředkovat inhibici exprese ATP7B (115). Rezistenci je možné ovlivnit i zásahem do protiapoptické signální kaskády, například použitím Smac-mimic (78), který blokuje protiapoptickou aktivitu XIAP. Překonat rezistenci spojenou se zvýšenou intracelulární inaktivací platinových cytostatik glutathionem se pravděpodobně podařilo modifikací chemické struktury aniontového ligandu v případě picoplatiny. Pyridinový kruh spolu s methylem stericky brání vazbě nukleofilních látek (5).

Zesílit účinek platinových cytostatik lze mimo jiné i kombinací s dalšími cytostatiky, která zasahují jiným mechanismem účinku, čehož se hojně využívá v klinické praxi. Mnohdy kombinační terapie dosahuje lepších výsledků než monoterapie. Synergismus vykazuje například oxaliplatina s 5-FU, kapecitabinem a leukovorinem v léčbě kolorektálního karcinomu (103). Cisplatina se používá jako látka potencující radioterapii v případě zhoubného nádoru hrdla děložního (97), nebo ve spinocelulárním karcinomu hlavy a krku (110). Kromě toho má cisplatina synergický účinek s gemcitabinem (114).

Vývoj platinových cytostatik pokračuje a v současnosti se zaměřuje na zlepšení distribuce léčiva cíleně do nádorových tkání. Očekává se omezení nežádoucích účinků a překonání rezistence spojené se sníženou intracelulární kumulací látky. Využívá se například lipozomální enkapsulace cisplatiny (Lipoplatin<sup>TM</sup>) nebo nanopolymerů (ProLindac<sup>TM</sup>), které jsou tvořeny oxaliplatinou navázanou na hydroxypropylmetakrylamid (5).

Výzkum v rámci platinových cytostatik by mohl být zaměřen nejen na modifikaci struktury a vytvoření nových formulací s lepšími vlastnostmi. Mohl by být zaměřen i na vývoj nových látek nebo zkoušení látek již existujících, které by mohly při současném podání s platinovými cytostatiky omezit jejich nežádoucí účinky. Příkladem může být schválení amifostinu v prevenci nefrotoxicity v terapii pokročilého nádoru vaječnicků cisplatinou (48).

## V. Závěr

Tato rešeršní práce se zabývá srovnáním hlavních zástupců ze skupiny platinových cytostatik používaných ve farmakoterapii nádorů, a to jak z farmakokinetického, tak z farmakodynamického a farmakoterapeutického pohledu. Práce sleduje podobnosti a rozdíly mezi jednotlivými platinovými cytostatiky v jednotlivých krocích vedoucích k výsledné odpovědi na podání platinového cytostatika, především na úrovni buněčných pochodů, kterými by se mohla vysvětlit odlišná cytotoxicita nebo odlišný profil nežádoucích účinků.

Rozdíly v závažnosti nežádoucích účinků vyplývají převážně z rozdílné rychlosti intracelulární aktivace, která je přímo závislá na stabilitě odstupující skupiny. Kromě toho odlišná afinita k OCT a MATE transportérům způsobuje rozdílnou nefrotoxicitu platinových cytostatik.

Mechanismus účinku všech platinových cytostatik je založen na tvorbě aduktů. Rozdíly ve struktuře aniontového ligandu, který je vázán k DNA, způsobuje odlišnosti v rozpoznávání aduktu proteiny. Tento fakt v případě MMR vede k tomu, že adukty tvořené oxaliplatinou nejsou rozpoznávány proteiny MMR na rozdíl od aduktů tvořených cisplatinou. MMR hraje zásadní roli v cytotoxicitě cisplatin, nikoliv oxaliplatin. Vzhledem k výše popsanému, buněčné linie, které jsou rezistentní vůči cisplatině, mohou být senzitivní vůči oxaliplatině. Účinnost oxaliplatin v buňkách rezistentních vůči cisplatině májí na svědomí i rozdíly v lipofilitě molekuly a afinitě vůči Ctr1 a ATP7A/B transportérům. Karboplatina na rozdíl od oxaliplatin je zkríženě rezistentní s cisplatinou kvůli tomu, že její aniontový ligand je shodný s cisplatinou.

Rozdíly a shody v indikacích mezi platinovými cytostatiky vyplývají mimo jiné z výše popsaných faktů. Oxaliplatina se používá hlavně v případě nádorů, které mají vrozenou (nádor kolorekta) nebo získanou (nádory varlat) rezistenci. Karboplatina je využívána hlavně v případě, že pacient netoleruje léčbu cisplatinou kvůli nežádoucím účinkům. Důvodem je především obecně nižší účinnost karboplatiny ve většině typů nádorů.

Pochopení souvislostí mezi strukturou látek, buněčnými pochody, mechanismy rezistence a výsledného terapeutického zařazení platinových cytostatik je důležité

pro budoucí výzkum, který může být zaměřen na překonání rezistence, ovlivnění nežádoucích účinků a zvýšení efektivity použití platinových cytostatik.

## VI. Seznam použité literatury

1. LIPPERT, Bernhard. *Cisplatin: chemistry and biochemistry of a leading anticancer drug*. New York: Wiley-VCH, 1999. stránky 4-15. ISBN 3-906390-20-9
2. ROSENBERG, BARNETT, LORETTA VANCAMP, JAMES E. TROSKO a VIRGINIA H. MANSOUR. Platinum Compounds: a New Class of Potent Antitumour Agents. *Nature: the international weekly journal of science*. London: Nature Publishing Group, 1969, vol. 222, č. 5191. ISSN 0028-0836. DOI: 10.1038/222385a0.
3. CARPENTER, Daniel P. *Reputation and power. organizational image and pharmaceutical regulation at the FDA*. Princeton: Princeton University Press, 2010, s. 526. ISBN 9780691141800.
4. KELLAND, Lloyd. The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. *Nature Reviews Cancer*. 2007-7-12, roč. 7, č. 8, s. 573-584. ISSN 1474-175X. DOI: 10.1038/nrc2167.
5. WHEATE, Nial J., et al. The status of platinum anticancer drugs in the clinic and in clinical trials. *Dalton Transactions*. 2010, 35, stránky 8113-8127.
6. MUGGIA, Franco. Platinum compounds 30 years after the introduction of cisplatin: Implications for the treatment of ovarian cancer. *Gynecologic Oncology*. 2009, roč. 112, č. 1, s. 275-281. ISSN 00908258. DOI: 10.1016/j.ygyno.2008.09.034.
7. SAKAEDA, Toshiyuki. Adverse Event Profiles of Platinum Agents: Data Mining of the Public Version of the FDA Adverse Event Reporting System, AERS, and Reproducibility of Clinical Observations. *International Journal of Medical Sciences*. 2011, s. 487-491. ISSN 1449-1907. DOI: 10.7150/ijms.8.487.
8. LEBWOHL, D. Clinical development of platinum complexes in cancer therapy: an historical perspective and an update. *European Journal of Cancer*. 1998, vol. 34, issue 10, s. 1522-1534. ISSN 0959-8049. DOI: 10.1016/S0959-8049(98)00224-X.



9. STORDAL, Britta, Nick PAVLAKIS a Ross DAVEY. Oxaliplatin for the treatment of cisplatin-resistant cancer: A systematic review. *Cancer Treatment Reviews*. 2007, roč. 33, č. 4, s. 347-357. ISSN 03057372. DOI: 10.1016/j.ctrv.2007.01.009.
10. STEWART, David J. Mechanisms of resistance to cisplatin and carboplatin. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 2007, roč. 63, č. 1, s. 12-31. ISSN 10408428. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2007.02.001.
11. BURGER, Herman, Walter J. LOOS, Karel EECHOUTE, Jaap VERWEIJ, Ron H.J. MATHIJSEN a Erik A.C. WIEMER. Drug transporters of platinum-based anticancer agents and their clinical significance. *Drug Resistance Updates*. 2011, roč. 14, č. 1, s. 22-34. ISSN 13687646. DOI: 10.1016/j.drug.2010.12.002.
12. UEHARA, Takeki, Jyoji YAMATE, Mikinori TORII a Toshiyuki MARUYAMA. Comparative Nephrotoxicity of Cisplatin and Nedaplatin: Mechanisms and Histopathological Characteristics. *Journal of Toxicologic Pathology*. 2011, roč. 24, č. 2, s. 87-94. ISSN 1881-915X. DOI: 10.1293/tox.24.87.
13. YIN, Mingzhu, Haiyu ZHANG, Huiyan LI, Xia LI, Yunduo LIU, Xiuwei CHEN, Ge LOU a Kang LI. The toxicity and long-term efficacy of nedaplatin and paclitaxel treatment as neoadjuvant chemotherapy for locally advanced cervical cancer. *Journal of Surgical Oncology*. 2012, roč. 105, č. 2, s. 206-211. ISSN 00224790. DOI: 10.1002/jso.22052.
14. DAI, Hong-yu, Lin LIU, Shu-kui QIN, Xiang-ming HE a Su-yi LI. Lobaplatin suppresses proliferation and induces apoptosis in the human colorectal carcinoma cell Line LOVO in vitro. *Biomedicine*. 2011, roč. 65, č. 3, s. 137-141. ISSN 07533322. DOI: 10.1016/j.biopha.2010.12.001.
15. WELINK, Jan et al. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Lobaplatin (D-19466) in Patients with Advanced Solid Tumors, Including Patients with Impaired Renal or Liver Function. *Clinical Cancer Research*. 1999, roč. 5, č. 6, s. 2349-2358. ISSN 1078-0432.
16. LEE, Kyung Hee, Myung Soo HYUN, Hoon-Kyo KIM, Hyung Min JIN, Jinmo YANG, Hong Suk SONG, Young Rok DO, Hun Mo RYOO, Joo

- Seop CHUNG, Dae Young ZANG, Ho-Yeong LIM, Jong Youl JIN, Chang Yeol YIM, Hee Sook PARK, Jun Suk KIM, Chang Hak SOHN a Soon Nam LEE. Randomized, Multicenter, Phase III Trial of Heptaplatin 1-hour Infusion and 5-Fluorouracil Combination Chemotherapy Comparing with Cisplatin and 5-Fluorouracil Combination Chemotherapy in Patients with Advanced Gastric Cancer. *Cancer Research and Treatment*. 2009, roč. 41, č. 1, s. 12-. ISSN 1598-2998. DOI: 10.4143/crt.2009.41.1.12.
17. Databáze léků. *Státní ústav pro kontrolu léčiv* [online]. Šrobárova 48, Praha 10, © 2010, 13. duben 2012 [cit. 2012-04-20]. Dostupné z: [http://www.sukl.cz/modules/medication/search.php?data%5Bsearch\\_for%5D=&data%5Bcode%5D=&data%5Batc\\_group%5D=L01XA&data%5Bmaterial%5D=&data%5Bpath%5D=&data%5Breg%5D=&data%5Bradio%5D=none&data%5Brc%5D=&data%5Bwith\\_adv%5D=0&search=Vyhledat&data%5Blisting%5D=20](http://www.sukl.cz/modules/medication/search.php?data%5Bsearch_for%5D=&data%5Bcode%5D=&data%5Batc_group%5D=L01XA&data%5Bmaterial%5D=&data%5Bpath%5D=&data%5Breg%5D=&data%5Bradio%5D=none&data%5Brc%5D=&data%5Bwith_adv%5D=0&search=Vyhledat&data%5Blisting%5D=20)
  18. WANG, Dong a Stephen J. LIPPARD. Cellular processing of platinum anticancer drugs. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2005-3-24, roč. 4, č. 4, s. 307-320. ISSN 1474-1776. DOI: 10.1038/nrd1691.
  19. PAVELKA, Matěj, Maria Fatima A. LUCAS a Nino RUSSO. On the Hydrolysis Mechanism of the Second-Generation Anticancer Drug Carboplatin. *Chemistry - A European Journal*. 2007-12-17, roč. 13, č. 36, s. 10108-10116. ISSN 09476539. DOI: 10.1002/chem.200700887.
  20. CEPEDA, Victoria, Miguel A. FUERTES, Josefina CASTILLA, Carlos ALONSO, Celia QUEVEDO a Jose M. PEREZ. Biochemical Mechanisms of Cisplatin Cytotoxicity. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry - Anti-Cancer Agents)*. 2007-01-01, roč. 7, č. 1, s. 3-18. ISSN 1871-5206. DOI:10.2174/187152007779314044.
  21. TODD, Ryan C. a Stephen J. LIPPARD. Inhibition of transcription by platinum antitumor compounds. *Metallomics*. 2009, roč. 1, č. 4, s. 280-. ISSN 1756-5901. DOI: 10.1039/b907567d.
  22. WU, Yibing, Padmanava PRADHAN, Jody HAVENER, Gunnar BOYSEN, James A. SWENBERG, Sharon L. CAMPBELL a Stephen G. CHANEY.

- NMR Solution Structure of an Oxaliplatin 1,2-d(GG) Intrastrand Cross-link in a DNA Dodecamer Duplex. *Journal of Molecular Biology*. 2004-08-27, roč. 341, č. 5, s. 1251-1269. ISSN 00222836. DOI: 10.1016/j.jmb.2004.06.066.
23. VRANA, O, V MASEK, V DRAZAN a V BRABEC. Raman spectroscopy of DNA modified by intrastrand cross-links of antitumor cisplatin. *Journal of Structural Biology*. 2007, roč. 159, č. 1, s. 1-8. ISSN 10478477. DOI: 10.1016/j.jsb.2007.01.008.
24. BLOMMAERT, Frank A., Helma C. M. VAN DIJK-KNIJNENBURG, Fransje J. DIJT, Leo DEN ENGELSE, Robert A. BAAN, Frits BERENDS a Anne Marie J. FICHTINGER-SCHEPMAN. Formation of DNA Adducts by the Anticancer Drug Carboplatin: Different Nucleotide Sequence Preferences in Vitro and in Cells. *Biochemistry*. 1995, roč. 34, č. 26, s. 8474-8480. ISSN 0006-2960. DOI: 10.1021/bi00026a031.
25. RAYMOND, Eric, Sandrine FAIVRE, Stephen CHANEY, Jan WOYNAROWSKI a Esteban CVITKOVIC. Cellular and Molecular Pharmacology of Oxaliplatin. *Molecular cancer therapeutics*. 2002, roč. 1, č. 3. ISSN 1538-8514.
26. SIDDIK, Zahid H. Cisplatin: mode of cytotoxic action and molecular basis of resistance. *Oncogene*. 2003-10-20, roč. 22, č. 47, s. 7265-7279. ISSN 0950-9232. DOI: 10.1038/sj.onc.1206933.
27. TANG, Daolin, Rui KANG, Herbert J. ZEH III a Michael T. LOTZE. High-mobility group box 1 and cancer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Regulatory Mechanisms*. 2010, roč. 1799, 1-2, s. 131-140. ISSN 18749399. DOI: 10.1016/j.bbagr.2009.11.014.
28. CHENG, Jin Q, Xiuxian JIANG, Michael FRASER, Ming LI, Han C DAN, Mei SUN a Benjamin K TSANG. Role of X-linked inhibitor of apoptosis protein in chemoresistance in ovarian cancer: possible involvement of the phosphoinositide-3 kinase/Akt pathway. *Drug Resistance Updates*. 2002, roč. 5, 3-4, s. 131-146. ISSN 13687646. DOI: 10.1016/S1368-7646(02)00003-1.

29. RIEDL, Stefan J. a Guy S. SALVESEN. The apoptosome: signalling platform of cell death. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2007-3-21, roč. 8, č. 5, s. 405-413. ISSN 1471-0072. DOI: 10.1038/nrm2153.
30. BROZOVIC, Anamaria a Maja OSMAK. Activation of mitogen-activated protein kinases by cisplatin and their role in cisplatin-resistance. *Cancer Letters*. 2007, roč. 251, č. 1, s. 1-16. ISSN 03043835. DOI: 10.1016/j.canlet.2006.10.007.
31. CHANEY, Stephen G., Sharon L. CAMPBELL, Ekaterina BASSETT a Yibing WU. Recognition and processing of cisplatin- and oxaliplatin-DNA adducts. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 2005, roč. 53, č. 1, s. 3-11. ISSN 10408428. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2004.08.008.
32. DI FRANCESCO, A. M., A. RUGGIERO a R. RICCARDI. Cellular and molecular aspects of drugs of the future: oxaliplatin. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2002, roč. 59, č. 11, s. 1914-1927. ISSN 1420-682x. DOI: 10.1007/PL00012514.
33. O'DWYER, P.J., J.P. STEVENSON a S.W. JOHNSON. Clinical Pharmacokinetics and Administration of Established Platinum Drugs. *Drugs*. 2000, roč. 59, č. 6, s. 19-27. ISSN 00126667.
34. Platinum-containing cytostatic drugs. *Meyler's side effects of drugs: The international encyclopedia of adverse drug reactions and interactions*. 15th ed. J.K. Aronson. Amsterdam: Elsevier, 2006, s. 2849-2872. ISBN 9780444510051; DOI:10.1016/B0-44-451005-2/01048-2.
35. FU, S., J.J. KAVANAGH, W. HU a R.C. BAST. Clinical application of oxaliplatin in epithelial ovarian cancer. *International Journal of Gynecological Cancer*. 2006, roč. 16, č. 5, s. 1717-1732. ISSN 1048891x. DOI: 10.1111/j.1525-1438.2006.00654.x.
36. GOODMAN, Louis S, Laurence L BRUNTON, Bruce CHABNER a Björn C KNOLLMANN. *Goodman & Gilman's The pharmacological basis of THERAPEUTICS*. 12th ed. New York: McGraw-Hill, 2011, s. 1687-1690. ISBN 978-0-07-162442-8.
37. GRAHAM, Martin A., Graham F. LOCKWOOD, Dennis GREENSLADE,

- Silvano BRIENZA, Martine BAYSSAS a Erick GAMELIN. Clinical Pharmacokinetics of Oxaliplatin: A Critical Review. *Clinical Cancer Research*. 2000, roč. 6, č. 6, s. 1205-1218. ISSN 1078-0432.
38. HOWELL, S. B., R. SAFAEI, C. A. LARSON a M. J. SAILOR. Copper Transporters and the Cellular Pharmacology of the Platinum-Containing Cancer Drugs. *Molecular Pharmacology*. 2010-05-17, roč. 77, č. 6, s. 887-894. ISSN 0026-895X. DOI: 10.1124/mol.109.063172.
39. ISHIDA, S. Uptake of the anticancer drug cisplatin mediated by the copper transporter Ctr1 in yeast and mammals. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2002, roč. 99, č. 22. ISSN 0027-8424. DOI: 10.1073/pnas.162491399.
40. BURGER, H, A ZOUMARO-DJAYOON, AWM BOERSMA, J HELLEMAN, EMJJ BERNS, RHJ MATHIJSEN, WJ LOOS a EAC WIEMER. Differential transport of platinum compounds by the human organic cation transporter hOCT2 (hSLC22A2). *British Journal of Pharmacology*. 2010, roč. 159, č. 4, s. 898-908. ISSN 00071188. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2009.00569.x.
41. MILLER, Ronald P., Raghu K. TADAGAVADI, Ganesan RAMESH a William Brian REEVES. Mechanisms of Cisplatin Nephrotoxicity. *Toxins*. 2010, roč. 2, č. 11, s. 2490-2518. ISSN 2072-6651. DOI: 10.3390/toxins2112490
42. YONEZAWA, Atsushi a Ken-ichi INUI. Organic cation transporter OCT/SLC22A and H /organic cation antiporter MATE/SLC47A are key molecules for nephrotoxicity of platinum agents. *Biochemical Pharmacology*. 2011, roč. 81, č. 5, s. 563-568. ISSN 00062952. DOI: 10.1016/j.bcp.2010.11.016.
43. NAGAO, Shoji, Keiichi FUJIWARA, Noriaki IMAFUKU, Reina KAGAWA, Yoshiaki KOZUKA, Takashi ODA, Kenichiro MAEHATA, Hiroyasu ISHIKAWA, Hirofumi KOIKE, Eriko AOTANI a Ichiro KOHNO. Difference of carboplatin clearance estimated by the Cockcroft-Gault, Jelliffe, Modified-Jelliffe, Wright or Chatelut formula. *Gynecologic Oncology*. 2005, roč. 99,

- č. 2, s. 327-333. ISSN 00908258. DOI: 10.1016/j.ygyno.2005.06.003.
44. FILIPSKI, K K, R H MATHIJSSSEN, T S MIKKELSEN, A H SCHINKEL a A SPARREBOOM. Contribution of Organic Cation Transporter 2 (OCT2) to Cisplatin-Induced Nephrotoxicity. *Clinical Pharmacology*. 2009-07-22, roč. 86, č. 4, s. 396-402. ISSN 0009-9236. DOI: 10.1038/clpt.2009.139.
45. RABIK, Cara A. a M. Eileen DOLAN. Molecular mechanisms of resistance and toxicity associated with platinating agents. *Cancer Treatment Reviews*. 2007, roč. 33, č. 1, s. 9-23. ISSN 03057372. DOI: 10.1016/j.ctrv.2006.09.006.
46. HUSAIN, Kazim, Ramesh JAGANNATHAN, Zeshan HASAN, Gary L. TRAMELL, Leonard P. RYBAK, Stephen R. HAZELRIGG a Satu M. SOMANI. Dose Response of Carboplatin-Induced Nephrotoxicity in Rats. *Pharmacology & Toxicology*. 2002, roč. 91, č. 2, s. 83-89. ISSN 0901-9928.
47. LAUNAY-VACHER, Vincent, Jean-Baptiste REY, Corinne ISNARD-BAGNIS, Gilbert DERAY a Mikael DAOUPHARS. Prevention of cisplatin nephrotoxicity: state of the art and recommendations from the European Society of Clinical Pharmacy Special Interest Group on Cancer Care. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*. 2008, roč. 61, č. 6, s. 903-909. ISSN 0344-5704. DOI: 10.1007/s00280-008-0711-0.
48. KOUVARIS, J. R., V. E. KOULOULIAS a L. J. VLAHOS. Amifostine: The First Selective-Target and Broad-Spectrum Radioprotector. *The Oncologist*. 2007-06-01, roč. 12, č. 6, s. 738-747. ISSN 1083-7159. DOI: 10.1634/theoncologist.12-6-738.
49. AMPTOULACH, Sousana a Nicolas TSAVARIS. Neurotoxicity Caused by the Treatment with Platinum Analogues. *Chemotherapy Research and Practice*. 2011, roč. 2011, s. 1-5. ISSN 2090-2107. DOI: 10.1155/2011/843019.
50. GILARDINI, Alessandra a Guido CAVALETTI. *Platinum and other heavy metal compounds in cancer chemotherapy: Peripheral Neurotoxicity of Platinum Compounds*. New York: Humana Press, 2009, s. 359-364.

Cancer drug discovery and development ISBN 978-1-60327-459-3; DOI: 10.1007/978-1-60327-459-3\_40

51. ARGYRIOU, Andreas A., Jordi BRUNA, Paola MARMIROLI a Guido CAVALETTI. Chemotherapy-induced peripheral neurotoxicity (CIPN): An update. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 2012, roč. 82, č. 1, s. 51-77. ISSN 10408428. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2011.04.012.
52. SCHULZE, Christin, Margit MCGOWAN, Sven-Eric JORDT a Barbara E. EHRLICH. Prolonged Oxaliplatin Exposure Alters Intracellular Calcium Signaling: A New Mechanism to Explain Oxaliplatin-Associated Peripheral Neuropathy. *Clinical Colorectal Cancer*. 2011, roč. 10, č. 2, s. 126-133. ISSN 15330028. DOI: 10.1016/j.clcc.2011.03.010.
53. KRISHNAN, Arun V., David GOLDSTEIN, Michael FRIEDLANDER a Matthew C. KIERNAN. Oxaliplatin-induced neurotoxicity and the development of neuropathy. *Muscle*. 2005, roč. 32, č. 1, s. 51-60. ISSN 0148-639x. DOI: 10.1002/mus.20340.
54. GROTHEY, Axel. Clinical Management of Oxaliplatin-Associated Neurotoxicity. *Clinical Colorectal Cancer*. 2005-4-1, roč. 5, č. 0, S38-S46. ISSN 1533-0028. DOI: 10.3816/CCC.2005.s.006.
55. CHAY, Wen-Yee, Sze-Huey TAN, Yew-Long LO, Simon Yew-Kwang ONG, Hui-Cheng NG, Fei GAO, Wen-Hsin KOO a Su-Pin CHOO. Use of calcium and magnesium infusions in prevention of oxaliplatin induced sensory neuropathy. *Asia-Pacific Journal of Clinical Oncology*. 2010, roč. 6, č. 4, s. 270-277. ISSN 17437555. DOI: 10.1111/j.1743-7563.2010.01344.x.
56. KNIJN, N., J. TOL, M. KOOPMAN, M.J.B.P. WERTER, A.L.T. IMHOLZ, F.A.A. VALSTER, L. MOL, A.D. VINCENT, S. TEERENSTRA a C.J.A. PUNT. The effect of prophylactic calcium and magnesium infusions on the incidence of neurotoxicity and clinical outcome of oxaliplatin-based systemic treatment in advanced colorectal cancer patients?. *European Journal of Cancer*. 2011, roč. 47, č. 3, s. 369-374. ISSN 09598049. DOI: 10.1016/j.ejca.2010.10.006.

57. RYBAK, Leonard P., Debashree MUKHERJEA, Sarvesh JAJOO a Vickram RAMKUMAR. Cisplatin ototoxicity and protection: Clinical and experimental studies. *The Tohoku journal of experimental medicine*. 2009, roč. 219, č. 3, s. 177-186. ISSN 0040-8727.
58. RYBAK, Leonard P., Craig A. WHITWORTH, Debashree MUKHERJEA a Vickram RAMKUMAR. Mechanisms of cisplatin-induced ototoxicity and prevention. *Hearing Research*. 2007, roč. 226, 1-2, s. 157-167. ISSN 03785955. DOI: 10.1016/j.heares.2006.09.015.
59. MOON, Il Joon, Ki Ryung KIM, Ho-Suk CHU, Se Hyung KIM, Won-Ho CHUNG, Yang-Sun CHO a Sung Hwa HONG. N-Acetylcysteine and N-Nitroarginine Methyl Ester Attenuate Carboplatin-Induced Ototoxicity in Dissociated Spiral Ganglion Neuron Cultures. *Clinical and Experimental Otorhinolaryngology*. 2011, roč. 4, č. 1, s. 11-. ISSN 1976-8710. DOI: 10.3342/ceo.2011.4.1.11.
60. ROJAS, Camilo a Barbara SLUSHER. Pharmacological mechanisms of 5-HT<sub>3</sub> and tachykinin NK<sub>1</sub> receptor antagonism to prevent chemotherapy-induced nausea and vomiting. *European Journal of Pharmacology*. 2012, s. -. ISSN 00142999. DOI: 10.1016/j.ejphar.2012.01.046.
61. DEWIT, R, J HERRSTEDT, B RAPOPORT, A CARIDES, J GUOQUANGMA, M ELMER, C SCHMIDT, J EVANS a K HORGAN. The oral NK<sub>1</sub> antagonist, aprepitant, given with standard antiemetics provides protection against nausea and vomiting over multiple cycles of cisplatin-based chemotherapy: a combined analysis of two randomised, placebo-controlled phase III clinical trials. *European Journal of Cancer*. 2004, roč. 40, č. 3, s. 403-410. ISSN 09598049. DOI: 10.1016/j.ejca.2003.08.028.
62. KRIS, Mark G., Maurizio TONATO, Emilio BRIA, Enzo BALLATORI, Birgitte ESPERSEN, Jørn HERRSTEDT, Cynthia RITTENBERG, Lawrence H. EINHORN, Steven GRUNBERG, Mitsue SAITO, Gary MORROW a Paul HESKETH. Consensus recommendations for the prevention of vomiting and nausea following high-emetic-risk



- chemotherapy. *Supportive Care in Cancer*. 2011, roč. 19, S1, s. 25-32. ISSN 0941-4355. DOI: 10.1007/s00520-010-0976-9.
63. Carboplatin Official FDA information, side effects and uses. *Drugs.com* [online]. Haarlem, The Netherlands: Pharmachemie B. V., 11/2011 [cit. 2012-03-11]. Dostupné z: <http://www.drugs.com/pro/carboplatin.html>
64. MARKMAN, Jonathan, Kristine ZANOTTI, Kenneth WEBSTER, Jerome BELINSON, Gertrude PETERSON, Barbara KULP a Maurie MARKMAN. Experience with the management of neutropenia in gynecologic cancer patients receiving carboplatin-based chemotherapy. *Gynecologic Oncology*. 2004, roč. 92, č. 2, s. 592-595. ISSN 00908258. DOI: 10.1016/j.ygyno.2003.11.005.
65. ABD-ALLAH, Adel R. A., Abdulhakeem A. AL-MAJED, Abdulaziz A. AL-YAHYA, Soliman I. FOUDA a Othman A. AL-SHABANA. L-Carnitine halts apoptosis and myelosuppression induced by carboplatin in rat bone marrow cell cultures (BMC). *Archives of Toxicology*. 2005, roč. 79, č. 7, s. 406-413. ISSN 0340-5761. DOI: 10.1007/s00204-004-0643-3.
66. COSSA, Giacomo, Laura GATTI, Franco ZUNINO a Paola PEREGO. Strategies to Improve the Efficacy of Platinum Compounds. *Current Medicinal Chemistry*. 2009-07-01, roč. 16, č. 19, s. 2355-2365. ISSN 09298673. DOI: 10.2174/092986709788682083.
67. SAKAI, Wataru, Elizabeth M. SWISHER, Beth Y. KARLAN, Mukesh K. AGARWAL, Jake HIGGINS, Cynthia FRIEDMAN, Emily VILLEGAS, Céline JACQUEMONT, Daniel J. FARRUGIA, Fergus J. COUCH, Nicole URBAN a Toshiyasu TANIGUCHI. Secondary mutations as a mechanism of cisplatin resistance in BRCA2-mutated cancers. *Nature*. 2008-2-10, roč. 451, č. 7182, s. 1116-1120. ISSN 0028-0836. DOI: 10.1038/nature06633.
68. BORST, Piet, Sven ROTTENBERG a Jos JONKERS. How do real tumors become resistant to cisplatin?. *Cell Cycle*. 2008-05-15, roč. 7, č. 10, s. 1353-1359. ISSN 1538-4101. DOI: 10.4161/cc.7.10.5930.
69. ECKSTEIN, Niels. Platinum resistance in breast and ovarian cancer cell lines. *Journal of Experimental*. 2011, roč. 30, č. 1, s. 91-. ISSN 1756-9966.

DOI: 10.1186/1756-9966-30-91.

70. SIMON, George R., Roohi ISMAIL-KHAN a Gerold BEPLER. Nuclear excision repair-based personalized therapy for non-small cell lung cancer: From hypothesis to reality. *The International Journal of Biochemistry*. 2007, roč. 39, 7-8, s. 1318-1328. ISSN 13572725. DOI: 10.1016/j.biocel.2007.05.006.
71. STOJIC, Lovorka, Richard BRUN a Josef JIRICNY. Mismatch repair and DNA damage signalling. *DNA Repair*. 2004, roč. 3, 8-9, s. 1091-1101. ISSN 15687864. DOI: 10.1016/j.dnarep.2004.06.006.
72. DÍAZ-PADILLA, Iván a Andres POVEDA. DNA Repair-Based Mechanisms of Platinum Resistance in Epithelial Ovarian Cancer: From Bench to Bedside. *Clinical Ovarian Cancer*. 2010-5-1, roč. 3, č. 1, s. 29-35. ISSN 1941-4390. DOI: 10.3816/COC.2010.n.005.
73. ITAMOCHI, Hiroaki, Junzo KIGAWA a Naoki TERAOKA. Mechanisms of chemoresistance and poor prognosis in ovarian clear cell carcinoma. *Cancer Science*. 2008, roč. 99, č. 4, s. 653-658. ISSN 1347-9032. DOI: 10.1111/j.1349-7006.2008.00747.x.
74. MARTINEZ-RIVERA, Michelle a Zahid H. SIDDIK. Resistance and gain-of-resistance phenotypes in cancers harboring wild-type p53. *Biochemical Pharmacology*. 2012, roč. 83, č. 8, s. 1049-1062. ISSN 00062952. DOI: 10.1016/j.bcp.2011.12.026.
75. CADWELL, Craig a Gerard P ZAMBETTI. The effects of wild-type p53 tumor suppressor activity and mutant p53 gain-of-function on cell growth. *Gene*. 2001, roč. 277, 1-2, s. 15-30. ISSN 03781119. DOI: 10.1016/S0378-1119(01)00696-5.
76. MICHAEL, Dan a Moshe OREN. The p53-Mdm2 module and the ubiquitin system. *Seminars in Cancer Biology*. 2003, roč. 13, č. 1, s. 49-58. ISSN 1044579x. DOI: 10.1016/S1044-579X(02)00099-8.
77. CHENG, Yow-Jyun, Hang-Shiang JIANG, Shih-Lan HSU, Li-Chiung LIN, Chieh-Liang WU, Vithal K. GHANTA a Chi-Mei HSUEH. XIAP-mediated protection of H460 lung cancer cells against cisplatin. *European Journal of*

- Pharmacology*. 2010, roč. 627, 1-3, s. 75-84. ISSN 00142999. DOI: 10.1016/j.ejphar.2009.11.003.
78. CHECINSKA, Agnieszka, Bas S.J. HOOGELAND, Jose A. RODRIGUEZ, Giuseppe GIACCONE a Frank A.E. KRUYT. Role of XIAP in inhibiting cisplatin-induced caspase activation in non-small cell lung cancer cells: A small molecule Smac mimic sensitizes for chemotherapy-induced apoptosis by enhancing caspase-3 activation. *Experimental Cell Research*. 2007, roč. 313, č. 6, s. 1215-1224. ISSN 00144827. DOI: 10.1016/j.yexcr.2006.12.011.
79. WONG, Rebecca SY. Apoptosis in cancer: from pathogenesis to treatment. *Journal of Experimental*. 2011, roč. 30, č. 1, s. 87-. ISSN 1756-9966. DOI: 10.1186/1756-9966-30-87.
80. VILLEDIEU, M, M LOUIS, S DUTOIT, E BROTON, H LINCET, F DUIGOU, C STAEDL, P GAUDUCHON a L POULAIN. Absence of Bcl-xL down-regulation in response to cisplatin is associated with chemoresistance in ovarian carcinoma cells. *Gynecologic Oncology*. 2007, roč. 105, č. 1, s. 31-44. ISSN 00908258. DOI: 10.1016/j.ygyno.2006.12.011.
81. BRABEC, Viktor a Jana KASPARKOVA. Modifications of DNA by platinum complexes. *Drug Resist Update*. 2005, roč. 8, č. 3. ISSN 1368-7646. DOI: 10.1016/j.drug.2005.04.006.
82. KIM, S, J KIM, J LEE, W YOON, D LEE, M KO, B KWON, D CHOI, H CHO a B LEE. NF- $\kappa$ B activation is required for cisplatin-induced apoptosis in head and neck squamous carcinoma cells. *FEBS Letters*. 2006-01-09, roč. 580, č. 1, s. 311-318. ISSN 00145793. DOI: 10.1016/j.febslet.2005.12.012.
83. HAEFNER, Burkhard. NF- $\kappa$ B: arresting a major culprit in cancer. *Drug Discovery Today*. 2002, roč. 7, č. 12, s. 653-663. ISSN 13596446. DOI: 10.1016/S1359-6446(02)02309-7.
84. DUŠEK Ladislav, MUŽÍK Jan, KUBÁSEK Miroslav, KOPTÍKOVÁ Jana, ŽALOUĐÍK Jan, VYZULA Rostislav. Epidemiologie zhoubných nádorů v České republice [online]. Masarykova univerzita, [2005], [cit. 2012-4-23]. Dostupný z WWW:

[http://www.svod.cz/analyse.php?modul=vek&diag=C62&zobrazeni=graph&incmor=inc&vypocet=c&pohl=m&kraj=&obdobi od=1977&obdobi do=2009&stadium=&t=&n=&m=&pt=&pn=&pm=&t=&n=&zije=&umrti=&lecba=.](http://www.svod.cz/analyse.php?modul=vek&diag=C62&zobrazeni=graph&incmor=inc&vypocet=c&pohl=m&kraj=&obdobi od=1977&obdobi do=2009&stadium=&t=&n=&m=&pt=&pn=&pm=&t=&n=&zije=&umrti=&lecba=)

Verze 7.0 [2007], ISSN 1802 – 8861.

85. BABJUK Marek a Michaela MATOUŠKOVÁ. Česká onkologická společnost České lékařské společnosti Jana Evangelisty Purkyně. *Zhoubné nádory varlete*. [Online] 05. Srpen 2009. [Citace: 23. Duben 2012.] [http://www.linkos.cz/files/standardy/CUS\\_C62.pdf](http://www.linkos.cz/files/standardy/CUS_C62.pdf).
86. SCHMOLL, H.- J., K. JORDAN, R. HUDDART, M. P. L. PES, A. HORWICH, K. FIZAZI a V. KATAJA. Testicular non-seminoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*. 2010-06-16, roč. 21, Supplement 5, v147-v154. ISSN 0923-7534. DOI: 10.1093/annonc/mdq177.
87. SCHMOLL, Hans-Joachim, Susanne OSANTO, Koji KAWAI, Lawrence EINHORN a Karim FIZAZI. Advanced Seminoma and Nonseminoma: SIU/ICUD Consensus Meeting on Germ Cell Tumors (GCT), Shanghai 2009. *Urology*. 2011, roč. 78, č. 4, S456-S468. ISSN 00904295. DOI: 10.1016/j.urology.2011.08.001.
88. Zhoubný novotvar varlete (C62). VYZULA, Rostislav et al. MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV. *Zásady cytostatické léčby maligních onkologických onemocnění*. 14. vyd. Brno: KAP CZ, s.r.o., 2012, s. 106-111. ISBN 978-80-86793-22-1.
89. GIESEN, Eva, Alet MAGER, Harm VAN TINTEREN, Sjoerd RODENHUIS a J. Martijn KERST. An alternative treatment regimen of advanced seminoma with carboplatin, etoposide, and bleomycin instead of cisplatin-based therapy. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations*. 2011, s. -. ISSN 10781439. DOI: 10.1016/j.urolonc.2010.10.006.
90. OECHSLE, Karin, Christian KOLLMANNBERGER, Friedemann HONECKER, Frank MAYER, Cornelius F. WALLER, Jörg T. HARTMANN, Ina BOEHLKE a Carsten BOKEMEYER. Long-Term Survival After

- Treatment with Gemcitabine and Oxaliplatin With and Without Paclitaxel Plus Secondary Surgery in Patients with Cisplatin-Refractory and/or Multiply Relapsed Germ Cell Tumors. *European Urology*. 2011, roč. 60, č. 4, s. 850-855. ISSN 03022838. DOI: 10.1016/j.eururo.2011.06.019.
91. DUŠEK Ladislav, MUŽÍK Jan, KUBÁSEK Miroslav, KOPTÍKOVÁ Jana, ŽALOUDÍK Jan, VYZULA Rostislav. Epidemiologie zhoubných nádorů v České republice [online]. Masarykova univerzita, [2005], [cit. 2012-4-23]. Dostupný z WWW:  
[http://www.svod.cz/analyse.php?modul=vek&diag=C56&zobrazeni=graph&incmor=inc&vypocet=c&pohl=z&kraj=&obdobi\\_od=1977&obdobi\\_do=2009&stadium=&t=&n=&m=&pt=&pn=&pm=&t=&n=&zije=&umrti=&lecba=](http://www.svod.cz/analyse.php?modul=vek&diag=C56&zobrazeni=graph&incmor=inc&vypocet=c&pohl=z&kraj=&obdobi_od=1977&obdobi_do=2009&stadium=&t=&n=&m=&pt=&pn=&pm=&t=&n=&zije=&umrti=&lecba=).Verze 7.0 [2007], ISSN 1802 – 8861.
  92. HALAMKOVÁ Jana. Česká onkologická společnost České lékařské společnosti Jana Evangelisty Purkyně. *Karcinom vaječnicků a vejcovodů*. [Online] 16. Srpen 2011. [Citace: 24. Duben 2012.]  
<http://www.mou.cz/file.html?id=92>
  93. Zhoubný novotvar ovarií a tuby (C56-57). VYZULA, Rostislav et al. MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV. *Zásady cytostatické léčby maligních onkologických onemocnění*. 14. vyd. Žlutý kopec 7, Brno: KAP CZ, s.r.o., 2012, s. 76-82. ISBN 978-80-86793-22-1.
  94. STRAUSS, H.G., A. HENZE, A. TEICHMANN, I. KARBE, A. BAUMGART, C. THOMSEN a H. KOELBL. Phase II trial of docetaxel and carboplatin in recurrent platinum-sensitive ovarian, peritoneal and tubal cancer. *Gynecologic Oncology*. 2007, roč. 104, č. 3, s. 612-616. ISSN 00908258. DOI: 10.1016/j.ygyno.2006.09.023.
  95. REED, N., D. MILLAN, R. VERHEIJEN a M. CASTIGLIONE. Non-epithelial ovarian cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*. 2010-06-16, roč. 21, Supplement 5, v31-v36. ISSN 0923-7534. DOI: 10.1093/annonc/mdq205.
  96. Zhoubný novotvar těla děložního (C54). VYZULA, Rostislav et al. MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV. *Zásady cytostatické léčby*

- maligních onkologických onemocnění*. 14. vyd. Žlutý kopec 7, Brno: KAP CZ, s.r.o., 2012, s. 86-88. ISBN 978-80-86793-22-1.
97. Zhoubný novotvar hrdla děložního (C53). VYZULA, Rostislav et al. MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV. *Zásady cytostatické léčby maligních onkologických onemocnění*. 14. vyd. Žlutý kopec 7, Brno: KAP CZ, s.r.o., 2012, s. 83-84. ISBN 978-80-86793-22-1.
98. HAIE-MEDER, C., P. MORICE a M. CASTIGLIONE. Cervical cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*. 2010-06-16, roč. 21, Supplement 5, v37-v40. ISSN 0923-7534. DOI: 10.1093/annonc/mdq162.
99. LABIANCA, R., B. NORDLINGER, G. D. BERETTA, A. BROUQUET a A. CERVANTES. Primary colon cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, adjuvant treatment and follow-up. *Annals of Oncology*. 2010-06-16, roč. 21, Supplement 5, v70-v77. ISSN 0923-7534. DOI: 10.1093/annonc/mdq168.
100. KOCÁKOVÁ Ilona. Česká onkologická společnost České lékařské společnosti Jana Evangelisty Purkyně. *Kolorektální Karcinom*. [Online] 2011. [Citace: 25. Duben 2012.] <http://www.mou.cz/file.html?id=82>
101. DUŠEK Ladislav, MUŽÍK Jan, KUBÁSEK Miroslav, KOPTÍKOVÁ Jana, ŽALOUDÍK Jan, VYZULA Rostislav. Epidemiologie zhoubných nádorů v České republice [online]. Masarykova univerzita, [2005], [cit. 2012-4-25]. Dostupný z WWW: <http://www.svod.cz/report.php?diag=C18>. Verze 7.0 [2007], ISSN 1802 – 8861.
102. Zhoubný novotvar kolorekta (C18-20). VYZULA, Rostislav et al. MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV. *Zásady cytostatické léčby maligních onkologických onemocnění*. 14. vyd. Žlutý kopec 7, Brno: KAP CZ, s.r.o., 2012, s. 52-65. ISBN 978-80-86793-22-1.
103. ACKLAND, Stephen P., Stephen J. CLARKE, Phillip BEALE a Godefridus J. PETERS. Thymidylate synthase inhibitors. *Update on Cancer Therapeutics*. 2006, roč. 1, č. 4, s. 403-427. ISSN 1872115x. DOI: /10.1016/j.uct.2006.09.001.

104. DUŠEK Ladislav, MUŽÍK Jan, KUBÁSEK Miroslav, KOPTÍKOVÁ Jana, ŽALOUDÍK Jan, VYZULA Rostislav. Epidemiologie zhoubných nádorů v České republice [online]. Masarykova univerzita, [2005], [cit. 2012-4-26]. Dostupný z WWW: <http://www.svod.cz/report.php?diag=C34>. Verze 7.0 [2007], ISSN 1802 – 8861.
105. D'ADDARIO, G., M. FRUH, M. RECK, P. BAUMANN, W. KLEPETKO a E. FELIP. Metastatic non-small-cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*. 2010-06-16, roč. 21, Supplement 5, v116-v119. ISSN 0923-7534. DOI: 10.1093/annonc/mdq189.
106. VORLÍČEK, Jiří, Zdeněk ADAM a Jana HALÁMKOVÁ. Onkologie solidních nádorů. *Vnitřní lékařství*. Vyd. 1. Miroslav Souček. Praha: Grada Publishing, 2011, s. 567-571. ISBN 978-80-247-2110-1.
107. Zhoubný novotvar bronchu a plic (C34). VYZULA, Rostislav et al. MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV. *Zásady cytostatické léčby maligních onkologických onemocnění*. 14. vyd. Žlutý kopec 7, Brno: KAP CZ, s.r.o., 2012, s. 34-41. ISBN 978-80-86793-22-1.
108. TREAT, Joseph, Giorgio V. SCAGLIOTTI, Guangbin PENG, Matthew J. MONBERG, Coleman K. OBASAJU a Mark A. SOCINSKI. Comparison of pemetrexed plus cisplatin with other first-line doublets in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC): A combined analysis of three phase 3 trials. *Lung Cancer*. 2012, roč. 76, č. 2, s. 222-227. ISSN 01695002. DOI: 10.1016/j.lungcan.2011.10.021.
109. MIR, Olivier, Pascaline BOUDOU-ROUQUETTE, Julie GIROUX, Jeanne CHAPRON, Jérôme ALEXANDRE, Laure GIBault, Stanislas ROPERT, Romain CORIAT, Jean-Philippe DURAND, Pierre-Régis BURGEL, Daniel DUSSER a François GOLDWASSER. Pemetrexed, oxaliplatin and bevacizumab as first-line treatment in patients with stage IV non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*. 2012, s. -. ISSN 01695002. DOI: 10.1016/j.lungcan.2012.01.014.

110. Zhoubné novotvary hlavy a krku (C00-14, C30-32). VYZULA, Rostislav et al. MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV. *Zásady cytostatické léčby maligních onkologických onemocnění*. 14. vyd. Žlutý kopec 7, Brno: KAP CZ, s.r.o., 2012, s. 115-119. ISBN 978-80-86793-22-1.
111. Zhoubný novotvar žaludku (C16). VYZULA, Rostislav et al. MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV. *Zásady cytostatické léčby maligních onkologických onemocnění*. 14. vyd. Žlutý kopec 7, Brno: KAP CZ, s.r.o., 2012, s. 46-51. ISBN 978-80-86793-22-1.
112. BANG, Yung-Jue et al. Adjuvant capecitabine and oxaliplatin for gastric cancer after D2 gastrectomy (CLASSIC): a phase 3 open-label, randomised controlled trial. *The lancet*. 2012, roč. 379, č. 9813, s. 315-321. ISSN 0140-6736. DOI: 10.1016/S0140-6736(11)61873.
113. Zhoubný novotvar močového měchýře (C67). VYZULA, Rostislav et al. MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV. *Zásady cytostatické léčby maligních onkologických onemocnění*. 14. vyd. Žlutý kopec 7, Brno: KAP CZ, s.r.o., 2012, s. 102-105. ISBN 978-80-86793-22-1.
114. BESANÇON, Odette G., Godelieve A.M. TYTGAT, Rutger MEINSMA, René LEEN, Jerry HOEBINK, Ganna V. KALAYDA, Ulrich JAEHDE, Huib N. CARON a André B.P. VAN KUILENBURG. Synergistic interaction between cisplatin and gemcitabine in neuroblastoma cell lines and multicellular tumor spheroids. *Cancer Letters*. 2012, roč. 319, č. 1, s. 23-30. ISSN 03043835. DOI: 10.1016/j.canlet.2011.12.016.
115. MATSUO, Koji, Yvonne G LIN, Lynda D ROMAN a Anil K SOOD. Overcoming platinum resistance in ovarian carcinoma. *Expert Opinion on Investigational Drugs*. 2010, roč. 19, č. 11, s. 1339-1354. ISSN 1354-3784. DOI: 10.1517/13543784.2010.515585.