

# Mikroimunoterapie a onkologie

**Gunter Schlegel, Pascal Mensah, Lourdes Reig**  
MeGeMIT, Medizinische Gesellschaft für Mikroimmuntherapie

**Onkologická onemocnění patří k nejčastějším nepřenosným chronickým chorobám a představují v každodenní praxi zvláštní terapeutickou výzvu. Vznik těchto svou podstatou a mnohotvárností projevů jedinečných patologických stavů se zakládá na souhrě různých faktorů: od genetických a epigenetických změn až po mitochondriální poruchy a dysfunkce imunitního systému, jež jsou úzce spojeny s výživou, způsobem života a životním prostředím. S přihlédnutím ke své komplexitě a diverzitě vyžadují onkologická onemocnění použití multimodálních terapeutických přístupů, v jejichž rámci by měl být pacient vnímán ve své celistvosti, individualitě a komplexnosti. Je důležité brát ohled také na psychosomatické, psychoonkologické a sociální aspekty.**

**M**ikroimunoterapie (označovaná též jako low-dose imunoterapie) může zaujmout důležitou roli v rámci léčebné strategie v onkologii. Její léčebný potenciál spočívá v podpoře autoregulační síly imunitního systému nasazením nízkých dávek cytokinů a dalších imunomodulačních látek. Tato mnoho-  
vrstevně orientovaná léčba se opírá o více než 40leté empirické poznatky v oboru a je s úspěchem používána tisíci lékaři a terapeuti po celé Evropě. Velká přednost mikroimunoterapie, zejména u onkologických pacientů, spočívá v její dobré snášenlivosti a kombinovatelnosti s jinou léčbou.

Dříve než se zaměříme na praktické užití mikroimunoterapie, je třeba popsat proces onkogeneze pomocí takzvaných hallmarks of cancer. Navíc se budeme zabývat rolí imunitního systému při nádorových onemocněních, neboť je důležité mít základní znalosti v oblasti imunologie, aby bylo možné mikroimunoterapii správně pochopit a používat.

## **Vlastnosti maligních buněk** **Gunter Schlegel (Freiburg, Německo)**

„Rakovina“ je souhrnné označení pro různá onemocnění, která se vyznačují růstem zhoubných nádorů. K tomu, aby

## **Spuštění protumorální nebo antitumorální imunitní odpovědi závisí v první řadě na přítomných mediátorech a na míře aktivace určitých buněk imunitního systému.**

mohly nádorové buňky přežít, množit se a poté se šířit v organismu, musí získat určité funkční vlastnosti, jež jsou označovány jako hallmarks of cancer<sup>1,2</sup>. Tyto charakteristické znaky jsou krátce popsány na obr. 1.

## **Imunita, zánět a onkologická onemocnění** **Dr. med. Pascal Mensah** **(Mallorca, Španělsko)**

V současné době je známo, že imunita a zánět významně přispívají k ochraně hostitelského organismu před vznikem a progresí maligních nádorů, zároveň však také mohou tomuto onemocnění v kterémkoli stadiu jeho rozvoje napomáhat. Spuštění protumorální nebo antitumorální imunitní odpovědi závisí v první řadě na přítomných mediátorech a na míře ak-

tivace určitých buněk imunitního systému<sup>3</sup>. Toto komplexní a dynamické vypořádání se imunitního systému s maligními buňkami je označováno jako „immunoeediting“ a zahrnuje tři stupně: fázi eliminace, ustanovení rovnováhy a únik imunitního systému (escape)<sup>4,5</sup>.

V první fázi, označované také jako imunitní dohled (angl. immunosurveillance), rozpoznává imunitní systém maligně transformované buňky a eliminuje je dříve, než se objeví klinické změny. Přitom hrají buňky imunitního systému, jako například zralé dendritické buňky (DC), NK buňky („přirození zabíječi“), makrofágy fenotypu M1, CD4+ pomocné T lymfocyty typu Th1 (Th1 buňky) a cytotoxické CD8+ T lymfocyty (CTL) důležitou roli<sup>6</sup> (> Obr. 2). V některých případech se však imunitnímu systému nedaří odstranit všechny nádorové buňky, takže nastupuje fáze ustanovení

rovnováhy. V této etapě je sice ještě růst nádoru udržován imunitním systémem pod kontrolou, vznikají však varianty nádorových buněk s různorodými mutacemi. Ve fázi escape unikají tyto varianty nádorových buněk útoku imunitních buněk a mohou bez zábran proliferovat, takže se nádor klinicky manifestuje<sup>4,5</sup>.

Důležitá role přitom náleží mikroprostředí nádoru (angl. tumor microenvironment). Výzkum ukázal, že nádorové

buňky spolu s komponentami stromatu obsaženými v tomto prostředí a buňkami zánětu a imunitního systému interagují a mohou jejich aktivitu „přeprogramovat“ ve svůj prospěch. Tímto je podporováno vytvoření imunologicky tolerogenního a kooperativního nádorového mikroprostředí, jež umožňuje nádoru uniknout obranyschopnosti organismu. Buňky jako myeloidní supresorové buňky (MDSC), makrofágy asociované s nádory (TAMs)

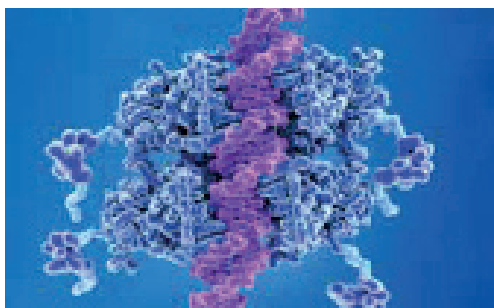
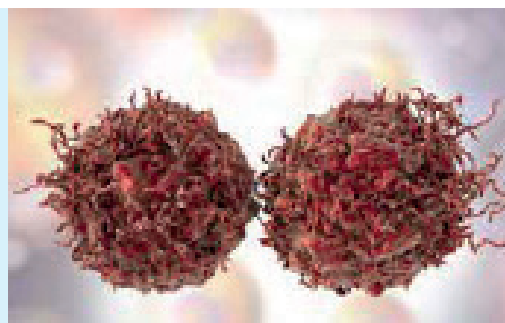
fenotypu M2, CD4+ pomocné T lymfocyty typu Th2 (Th2 buňky) a regulační T lymfocyty (Tregs) a takzvané tumory asociující fibroblasty (CAF) tak významně přispívají k růstu nádoru, k angiogenezi, etablování proonkogenního zánětlivého stavu, imunosupresi/imunotoleranci a konečně k tvorbě metastáz prostřednictvím epithálně-mezenchymální tranzice (EMT) a mezenchymo-epiteliální tranzice (MET)<sup>6</sup> (> Obr. 3).

## Obr. 1. Deset charakteristik maligních buněk (10 Hallmarks of Cancer)

\*Sestaveno s odkazem na Hanahan & Weinberg 2011 a Hanahan & Weinberg 2000

### Dělení buněk bez proliferačního signálu (angl. sustaining proliferative signaling)

Na rozdíl od zdravých buněk může proliferace maligních buněk probíhat i nezávisle na externích, buňkami přijímaných signálech, mj. prostřednictvím vlastního zásobování růstovými faktory (autokrinní stimulace) a nadexpresi receptorů pro tyto ligandy na jejich buněčném povrchu.

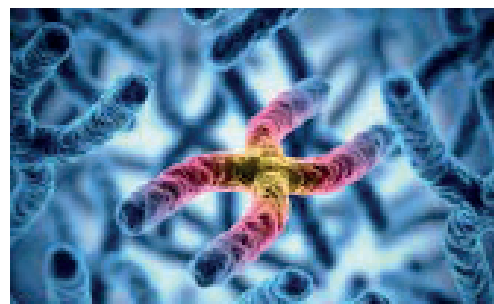
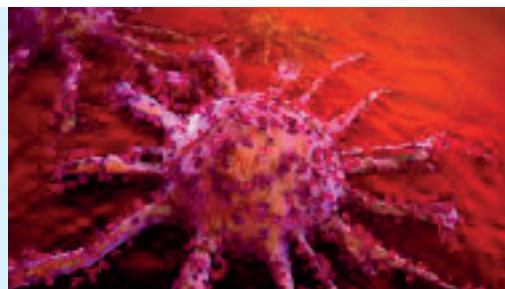


### Necitlivost vůči signálům inhibujícím růst (angl. evading growth suppressors)

Maligní buňky se dělí navzdory antiproliferačním signálům sousedních buněk a pronikají do okolní zdravé tkáně (infiltrace). To lze mj. vysvětlit inaktivací antiproliferačních proteinů jako pRb nebo p53.

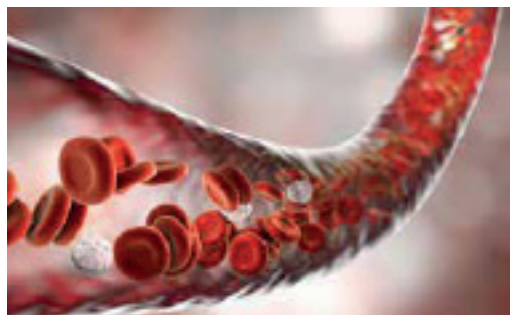
### Tkáňová invaze a metastazování (angl. activating invasion and metastasis)

Maligní buňky jsou schopné destruktivně pronikat do okolní zdravé tkáně (invaze) a vytvářet dceřiné nádory ve vzdálených částech těla (metastázy) prostřednictvím EMT a MET.



### Neomezený replikační potenciál (angl. resisting cell death)

Maligní buňky se vyhýbají naprogramované buněčné smrti (apoptóza) prostřednictvím různých mechanismů, jako např. deregulace signálních cest pRb a p53 a mitochondriální dysfunkce.

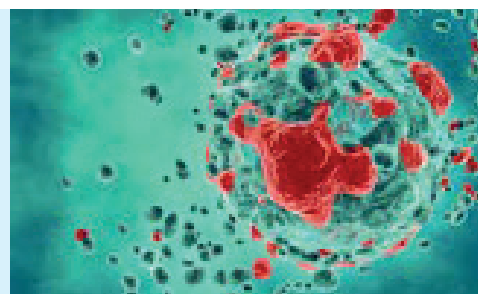


### Stimulace angiogeneze (angl. inducing angiogenesis)

Tak jako ostatní tkáně jsou i rostoucí nádory odkázány na dostatečné zásobování kyslíkem a živinami pomocí krevních cév. Maligní buňky jsou schopné vyvolat angiogenní „switch“, kdy je podporována tvorba nových krevních cév prostřednictvím sekrece růstových faktorů (např. VEGF nebo FGF).

### Rezistence k apoptóze (angl. resisting cell death)

Maligní buňky se vyhýbají naprogramované buněčné smrti (apoptóza) prostřednictvím různých mechanismů, jako např. deregulace signálních cest pRb a p53 a mitochondriální dysfunkce.

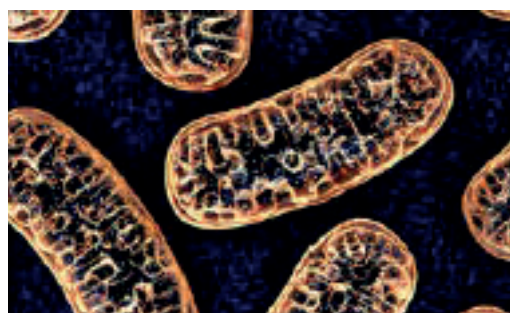
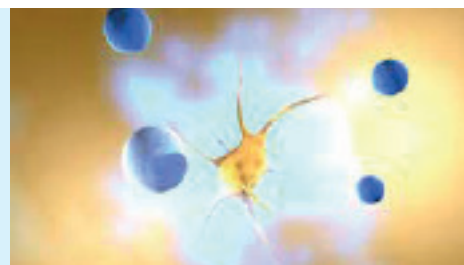


### Nestabilita genomu a mutace (angl. genome instability and mutation)

Mutace onko-supresorových a tumor-supresorových genů a epigenetické alterace genomu podporují genetickou nestabilitu a akumulaci dalších genových mutací, čímž je umožněna transformační schopnost buněk a podporována onkogeneze. Tento mechanismus je důležitou hnací silou jak při selekci rezistentních maligních buněk, tak i v případě rezistence k chemoterapii. Kromě toho hraje s největší pravděpodobností důležitou roli při komplementární biologické léčbě nádorů, když se tato stane neúčinnou.

### Indukce proonkogenního zánětu (angl. tumor promoting inflammation)

Chronické a/nebo latentní zánětlivé reakce mj. významně přispívají indukci genomové stability a podporou angiogeneze k rozvoji a progresi nádorů.

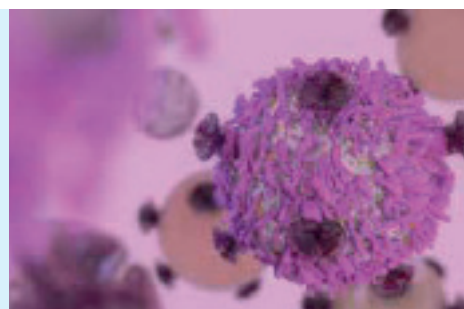


### Deregulace buněčné energetické kontroly (angl. deregulating cellular energetics)

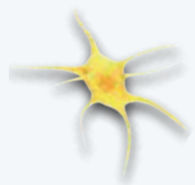
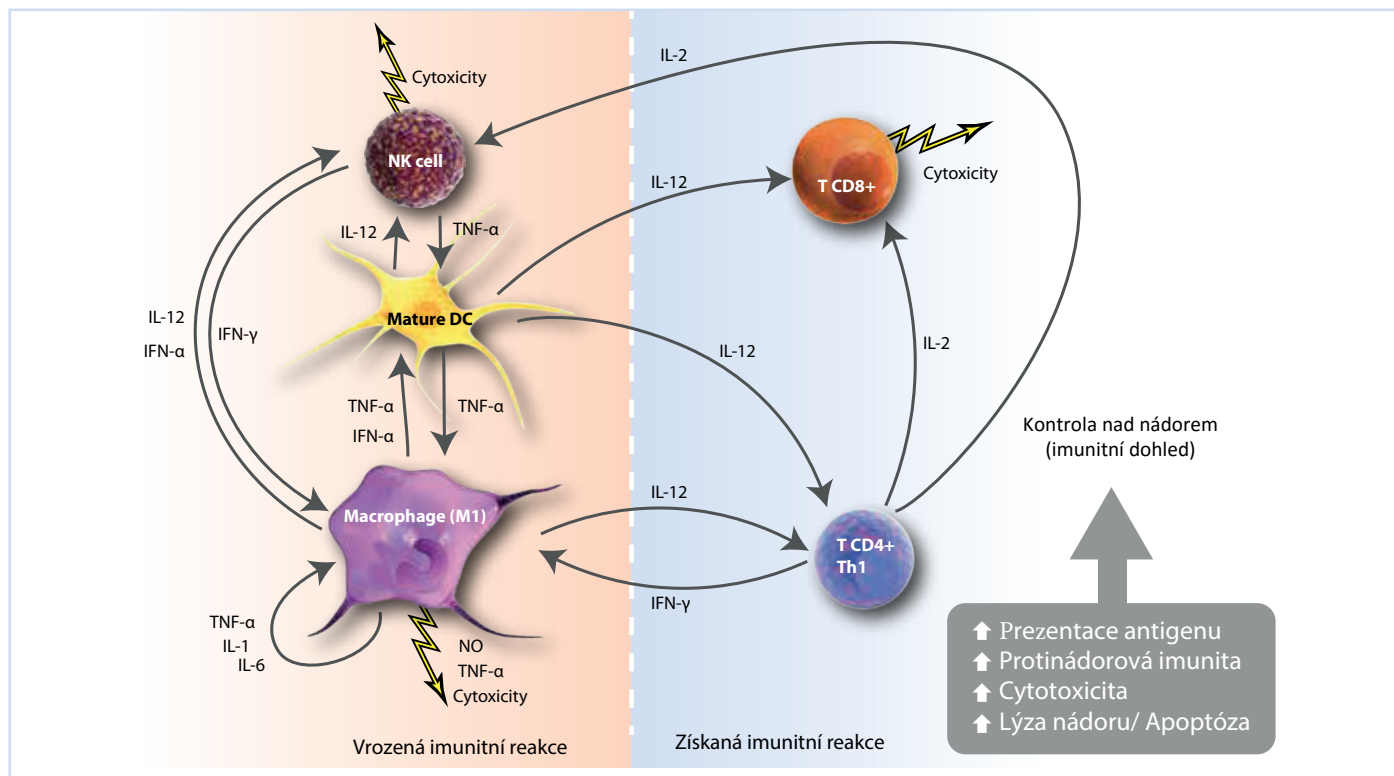
U mnoha maligních buněk lze zaznamenat mitochondriální dysfunkce a změnu metabolismu glukózy, přičemž je energie - i při dostatečném zásobování kyslíkem - získávána především glykolýzou s následnou fermentací laktátu (Warburgův efekt). Tento efekt významně přispívá k imunosupresorické schopnosti nádorových buněk.

### Zamezení eliminace imunitním systémem (angl. avoiding immune destruction)

Maligní buňky rozvinuly různé mechanismy úniku před obranyschopností organismu (strategie úniku imunitě). Příkladem je inhibice protinádorové imunity, jakož i vytvoření imunologicky tolerogenního a kooperativního nádorového mikroprostředí. Přitom hraje důležitou roli sekrece TGF- $\beta$  a tvorba inhibičních, kostimulačních ligandů.

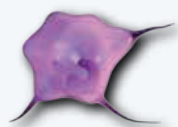


**Obr. 2: Zjednodušené schéma „cross talku“ mezi buňkami s protinádorovým účinkem**



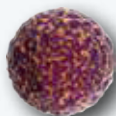
### Dendritické buňky (DC)

Růstové faktory jako GM-CSF a cytokiny jako IFN- $\alpha$  nebo TNF- $\alpha$  mohou přispívat k tvorbě, event. maturaci DC a zesilovat jejich schopnost prezentovat antigen. Jako profesionální antigen prezentující buňky (APC) hrají zralé DC důležitou roli v prezentaci nádorových antigenů na T buňkách a při zahájení antitumorální, cytotoxické imunitní reakce prostřednictvím produkce cytokinů Th1 jako IL-12<sup>6,8</sup>.



### Makrofágy fenotypu M1

Vedle dendritických buněk mohou i makrofágy fungovat jako APC a aktivovat adaptivní imunitní reakci. V tomto smyslu hrají zásadní roli v boji proti nádorům zejména makrofágy (fenotyp M1) aktivované cytokiny jako IFN- $\gamma$  a/nebo TNF- $\alpha$ . Tyto makrofágy secernují IL-12 a aktivují tím NK a Th1 buňky, jež uvolňují IFN- $\gamma$ , což vede k pozitivnímu zpětnovazebnímu mechanismu mezi těmito buňkami<sup>9</sup>. Kromě toho produkují oxid dusnatý (NO) a cytokiny jako TNF- $\alpha$ , jež mají přímý cytotoxický účinek na rakovinné buňky.



### NK buňky

Aktivované dendritické buňky jako makrofágy M1 uvolňují prozánětlivé cytokiny jako IL-12, čímž jsou mj. aktivovány NK buňky a zesilují se jejich cytotoxické funkce. Tyto buňky jsou zodpovědné za ničení nádorových buněk a za uvolňování cytokinů jako IFN- $\gamma$  a TNF- $\alpha$ . Tím NK buňky přispívají opět k aktivaci dendritických buněk a k polarizaci makrofágů M1<sup>4,5</sup>.



### Th1 lymfocyty

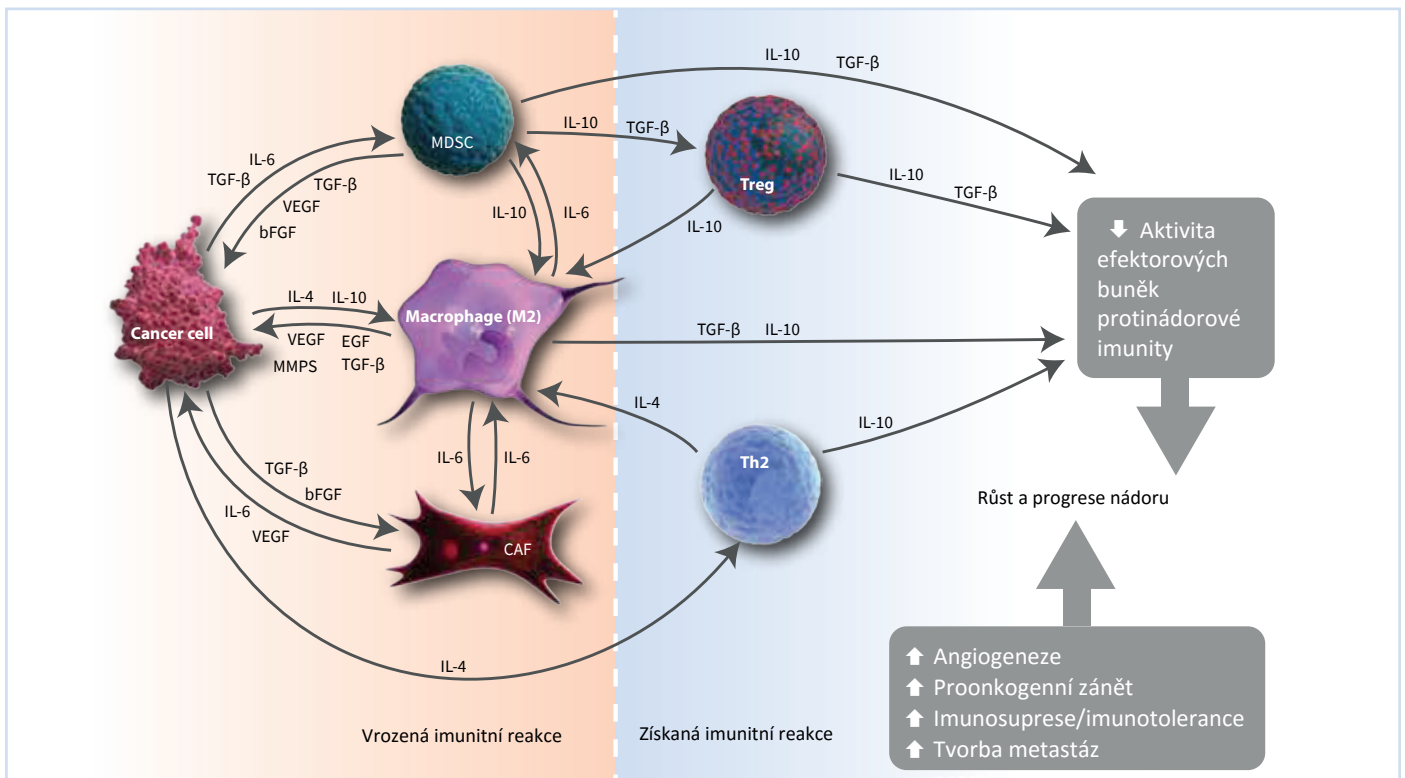
Naivní T buňky se diferencují pod vlivem IL-12 (mj. exprimované DC a makrofágy M1) na Th1 lymfocyty, pokud rozeznají nádorové antigeny prezentované APC. Aktivované Th1 buňky uvolňují IFN- $\gamma$ , čímž je zesílena diferenciace a rekrutace makrofágů M1. Kromě toho jsou zodpovědné za sekreci IL-2 pro aktivaci, event. proliferaci dalších buněk imunitního systému, jako cytotoxických CD8+ T buněk a NK buněk<sup>5</sup>.



### Cytotoxické CD8+ T lymfocyty (CTL)

Tyto buňky imunitního systému s cytotoxickým potenciálem uvolňují z granule perforiny příp. granzymy, čímž je vyvolána lýza nádorových buněk. Kromě toho secernují IFN- $\gamma$  a tím podporují funkce dalších antitumorálních buněk imunitního systému, jako makrofágů M<sup>15</sup>.

**Obr. 3: Zjednodušené schéma „cross talku“ mezi buňkami s pronádorovým účinkem**



### Myeloidní supresorové buňky (MDSC)

Tyto buňky, jejichž diferenciace a proliferace je zprostředkována mj. cytokiny jako IL-6 a TGF- $\beta$ , mají imunosupresivní účinek a podílejí se na zánětu podporujícím nádor. MDSC exprimují IL-10 a TGF- $\beta$ , čímž je indukována maturace Tregs a funkce antitumorálních efektorových buněk je obecně regulována směrem dolů (imunosuprese). Kromě toho jsou zodpovědné za produkci angiogenních a růstových faktorů, čímž dochází k zesílení progresse nádoru<sup>7,12</sup>.

### TAMs fenotypu M2

Jedná se o nejpočetnější buňky imunitního systému v mikroprostředí nádoru. Jsou alternativně aktivovány cytokiny jako mj. IL-4 nebo IL-10, jež jsou produkovány samotnými nádorovými buňkami a také dalšími buňkami imunitního systému jako Th2 lymfocyty, MDSC a regulačními T lymfocyty. Uvolňují cytokiny jako IL-6, TGF- $\beta$ , IL-10 a růstové faktory jako EGF, VEGF a metaloproteinázy, čímž významně přispívají k udržování zánětu podporujícího nádor a také angiogeneze a tím k progresi nádoru<sup>10,11</sup>.

### Tumory asociující fibroblasty (CAF)

Tumory asociující fibroblasty (CAF) tvoří vysoký podíl nádorového stromatu. Jejich diferenciace a aktivace je mediována mj. růstovými faktory jako TGF- $\beta$  a bFGF, exprimovanými nádorovými buňkami. CAF secernují imunosupresivní a prozánětlivé cytokiny (mj. IL-6) a angiogenní faktory (mj. VEGF), čímž podporují zánět, angiogenezi, jakož i EMT a tím napomáhají proliferaci nádoru a metastazování<sup>3,14</sup>.

### Regulační T lymfocyty (Tregs)

Tyto buňky jsou aktivovány prostřednictvím samotného TGF- $\beta$  nebo ve spojení s IL-10 a secernují TGF- $\beta$ , čímž dochází k potlačení protinádorové imunitní odpovědi a indukci stavu imunotolerance v mikroprostředí nádoru. Produkci IL-10 mimo to podporují polarizaci makrofágů na fenotyp M2<sup>4,6</sup>.

### Th2 lymfocyty

Diferenciace naivních CD4+ T lymfocytů v Th2 lymfocyty je řízena hlavně prostřednictvím IL-4. Tyto buňky secernují cytokiny jako IL-4, které podporují polarizaci makrofágů M2, a IL-10, čímž dochází k pozitivnímu ovlivnění imunosuprese v mikroprostředí nádoru<sup>4,6</sup>.

## Příspěvek mikroimunoterapie v oblasti onkologie

**Gunter Schlegel (Freiburg, Německo)**

Jak zdůrazňují Müller-Hübenthal et al. 2009, v rámci nasazené onkologické léčby je důležité nejen přímo zasáhnout zhoubné buňky, ale i změnit zánětlivé mikroprostředí nádoru. Cílem je vyvolat účinnou protinádorovou imunitní odpověď a dostat nádorové bujení pod kontrolu<sup>15</sup>.

To je také výchozím bodem mikroimunoterapie v oblasti onkologie. Na základě podpory imunoregulace v souladu s fyziologickými procesy organismu jako celku může mít mikroimunoterapie zvláštní důležitost v rámci individuálně přizpůsobeného, komplexního plánu prevence a léčebného plánu. Jako jiné postupy komplementární medicíny je mikroimunoterapie v onkologii nasazována s následujícími cíli:

- **Primární prevence maligního bujení**
- **Zvýšení vnímavosti vůči standardní onkologické léčbě a minimalizace jejích nežádoucích účinků**
- **Prodloužení remise a profylaxe recidiv**

- **Optimalizace kvality života**
- **Kontrola kmenových nádorových buněk**

V další části bude pomocí prezentace přípravku **2LC1-N** představeny principy účinku mikroimunoterapie v oblasti onkologie.

**Důležité upozornění: Mikroimunoterapie nemá nahrazovat léčebné postupy jako chemoterapie nebo radioterapie, ale má pouze tyto postupy synergicky doplňovat. Standardní onkologická léčba by proto neměla být nikdy přerušována.**

### Mikroimunoterapie: Trvalá, jemná imunoregulace

V případě mikroimunoterapie se jedná o léčebný přístup, při kterém jsou předávány imunitnímu systému takové informace, aby bylo zachováno jeho správné fungování, příp. byl opět uveden do rovnováhy. Přitom jsou používány imunomodulátory jako např. cytokiny, chemokiny, transkripční a růstové faktory v nízkém dávkování (low & ultra-low doses, LD), jež odpovídá fyziologickým koncentracím (v řádových velikostech mikrogram  $[10^{-6} \text{ g}]$ , pikogram  $[10^{-12} \text{ g}]$  příp.

femtoqram  $[10^{-15} \text{ g}]$ ). Látky obsažené v mikroimunoterapeutických přípravcích jsou používány v sekvenčním sledu v souladu s fyziologickými pochody v organismu (chronobiologie).

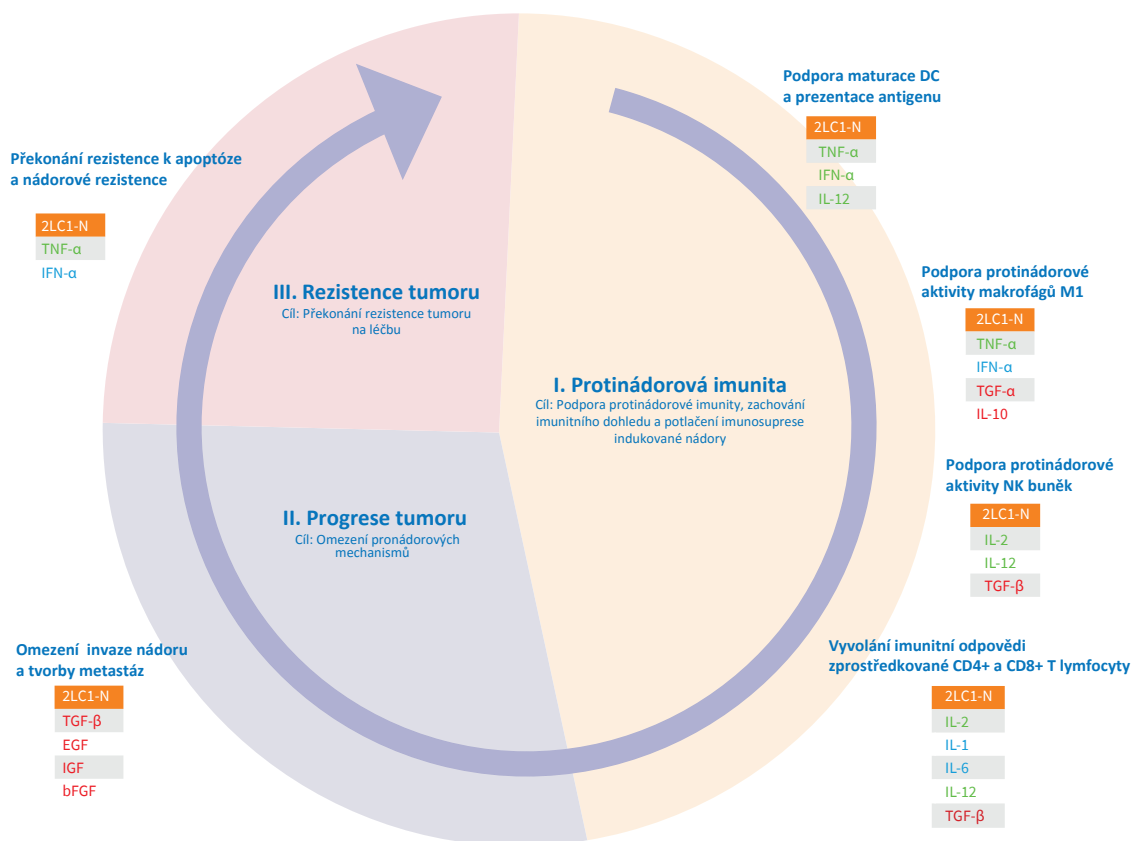
Tato léčba je díky svému charakteru dobře snášena a může být kombinována synergickým způsobem s jinými formami léčby.

### Mikroimunoterapie u solidních nádorů

**Dr. med. Lourdes Reig (Mallorca, Španělsko)**

Mikroimunoterapeutický přípravek **2LC1-N**, který nachází uplatnění při podpoře imunity u solidních nádorů, sestává ze specifické kombinace imunomodulačních účinných látek v nízkém dávkování. Tyto aktivní látky a použité koncentrace jsou voleny v závislosti na své roli při onkologických procesech (Tabulka 3), jejich interakci s dalšími účinnými látkami obsaženými ve formuli a v organismu žádoucí reakci podle principů medicíny nízkých dávek. Nasazením mikroimunoterapie je sledován účinek na celý systém s rozmanitými cíli (>Obrázek 4 + Příloha 1).

**Obr. 4: Mikroimunoterapie u solidních nádorů: postupné fáze imunoregulace s cílem kontroly aktivity kmenových nádorových buněk.**



Účinné látky obsažené v mikroimunoterapeutických přípravcích cílí na modulaci imunity v organismu.

## Praktické užití mikroimunoterapie v oblasti onkologie

### Gunter Schlegel (Freiburg, Německo)

Možnosti využití mikroimunoterapie v oboru onkologie jsou rozmanité a daleko překračují oblast onkologické léčby. Lze je shrnout následovně:

- **Primární profylaxe**
- **Aktivní dohled (active surveillance)**
- **Komplementární přístup k onkologické léčbě**
- **Následná onkologická péče/profylaxe recidiv**

**Důležité upozornění:** Léčebná schémata prezentovaná v této kapitole se opírají o praktické zkušenosti odborníka v oblasti mikroimunoterapie Guntera Schlegela a slouží pouze k orientaci v každodenní praxi, přičemž dávkování a délka trvání léčby musí být vždy přizpůsobena konkrétnímu případu.

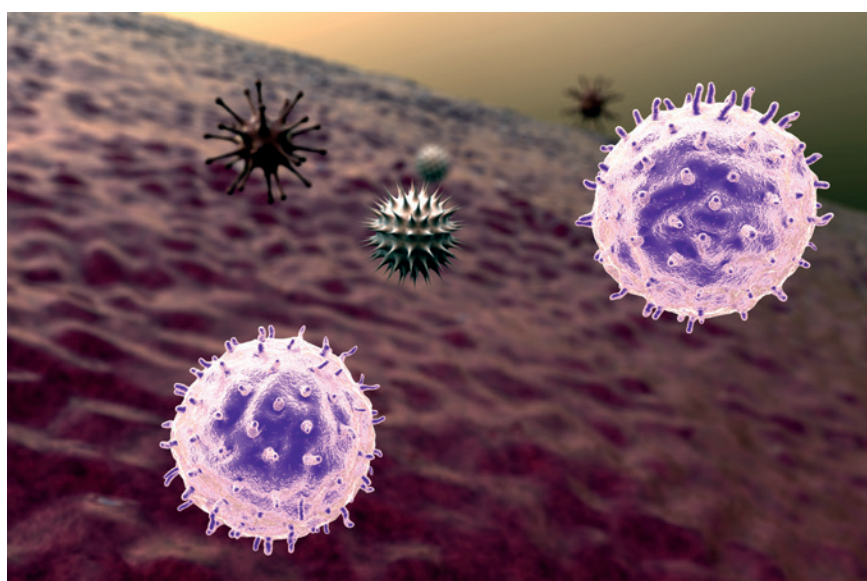
### Primární profylaxe

Mikroimunoterapie může být nasazena jako preventivní opatření u osob se zvýšeným rizikem maligního onemocnění.

Cílem je zachovat zdravý a silný imunitní systém, který dokáže účinně reagovat na škodlivé environmentální faktory anebo degenerované nebo transformované buňky. Kromě toho mikroimunoterapie nabízí specifické přípravky mj. na podporu imunity při infekcích způsobených určitými viry, jež mají spojitost se vznikem maligního onemocnění (>Tabulka 1). Podporou autoregulace imunitního systému a jeho osvobozením od případného zatížení přispívá mikroimunoterapie podstatnou měrou k podpoře zdraví pacienta.

**Tabulka 1: Mikroimunoterapie a primární profylaxe**

Rizikové faktory	Mikroimunoterapeutický přípravek	Praktické užití
Virus Epstein-Barrové	<b>2LEBV</b> (při hyporeaktivitě)	1 kapsle/den po dobu 4 až 6 měsíců (minimálně 4 měsíce) U akutní mononukleózy: 2 kapsle/den po dobu 1 až 3 měsíců (v případě potřeby i déle)
Humánní papilomaviry	<b>2LPAPI</b>	1 kapsle/den po dobu min. 4 až 6 měsíců (léčba partnera) Po normalizaci PAP: event. 10 kapslí/měsíc po dobu 3 měsíců za účelem stabilizace
Herpes zoster	<b>2LZONA</b>	1 kapsle/den jako dlouhodobá léčba
Herpes simplex	<b>2LHERP</b>	1 kapsle/den jako dlouhodobá léčba



### Aktivní dohled (active surveillance)

V případě mnoha suspektních nálezů a u některých onkologických onemocnění v časných stádiích, u nichž je průběh ještě nejistý, bývá používána strategie aktivního dohledu (active surveillance), tj. pečlivé sledování v podobě častých kontrolních vyšetření. Mikroimunoterapie však nabízí v těchto případech cenné možnosti aktivní podpory protinádorové imunity (>Tabulka 2), v důsledku čehož může dojít ke zlepšení laboratorních nálezů, případně zpomalení progresu onemocnění. Často se tím podpoří odvaha pacientů zvládnout onemocnění a zvyšuje se jejich kvalita života, poněvadž se mohou aktivně podílet na procesu zlepšení svého zdravotního stavu.

**Tabulka 2: Mikroimunoterapie a aktivní dohled (active surveillance)**

Rizikové faktory	Mikroimunoterapeutický přípravek	Praktické užití
Cytologicky neurčitě gynekologické nálezy (PAP III, PAPIIID)	<b>2LPAPI</b>	1 kapsle/den po dobu minimálně 3 měsíců příp. až do příští kontroly (léčba partnera)
Neurčitě nálezy v prostatě, časný karcinom prostaty	<b>2LC1-N</b>	1 kapsle/den až do stabilizace nálezu (např. PSA), následně 10 kapslí/měsíc
Monoklonální gamapatie nejasného významu (MGUS) (testy k průkazu EBV)	<b>2LKAH</b> + <b>2LEBV</b>	1 kapsle/den jako dlouhodobá léčba 10 kapslí/měsíc jako dlouhodobá léčba
Počínající chronická lymfocytární leukémie (CLL) (testy k průkazu EBV)	<b>2LCL1</b> + <b>2LEBV</b>	1 kapsle/den po dobu 2 až 3 měsíců
Hodgkinův lymfom (testy k průkazu EBV)	<b>2LCL1</b> + <b>2LEBV</b>	1 kapsle/den jako dlouhodobá léčba 10 kapslí/měsíc jako dlouhodobá léčba
Počínající chronická myeloidní leukémie (CML)	<b>2LCLM</b>	1 kapsle/den jako dlouhodobá léčba

### Komplementární přístup jako doplněk k léčbě onkologického onemocnění

Na základě svého cíleného a mírného imunoregulačního přístupu může mikroimuno-

terapie nabídnout cennou podporu v rámci léčebné strategie použité při onkologickém onemocnění (>Tabulka 3), přičemž může doplnit synergickým způsobem jak standardní onkologickou léčbu (operace, chemoterapie a radioterapie), tak i všechny ostatní nasazené

typy terapie. Klinická zkušenost s mikroimunoterapií ukazuje, že pacienti v mnoha případech konvenční onkologickou léčbu lépe tolerují, vykazují optimalizovanou imunitu a získávají na kvalitě života.

**Tabulka 3: Mikroimunoterapie a komplementární přístup jako doplněk k onkologické léčbě**

Rizikové faktory	Mikroimunoterapeutický přípravek	Praktické užití
<b>Progrese, příp. relaps onkologického onemocnění, nebo nově diagnostikované onkologické onemocnění</b>		
Solidní nádory	<b>2LC1-N</b>	1-3 kapsle/den jako dlouhodobá léčba (možná také změna formulí)
Maligní neurologické nádory	<b>2LTNM</b>	1-2 kapsle/den jako dlouhodobá léčba
Myeloidní leukémie	<b>2LCLM</b>	1-3 kapsle /den jako dlouhodobá léčba
Hodgkinův lymfom (testy k průkazu EBV)	<b>2LCL1</b> + <b>2LEBV</b>	1-3 kapsle/den jako dlouhodobá léčba 10 kapslí /měsíc jako dlouhodobá léčba
Non-Hodgkinův lymfom (testy k průkazu EBV)	<b>2LCL1/2LLNH1</b> + <b>2LEBV</b>	1-3 kapsle/den jako dlouhodobá léčba 10 kapslí /měsíc jako dlouhodobá léčba
Morbus Waldenström Morbus Kahler Plazmocytom (testy k průkazu EBV)	<b>2LKAH</b> + <b>2LEBV</b>	1-3 kapsle/den jako dlouhodobá léčba 10 kapslí /měsíc jako dlouhodobá léčba



### Praktický tip:

Diagnóza onkologického onemocnění, léčba a nemoc sama představují pro onkologické pacienty významnou fyzickou a psychickou zátěž. Mikroimunoterapie nabízí rovněž v oblasti podpůrné léčby četné pomůcky pro prevenci a léčbu komplikací a nežádoucích účinků onkologické léčby (únavový syndrom, infekce) a také výskytu fyzických (mj.

myelosuprese, granulopenie) a psychických problémů (mj. deprese), čímž je pozitivně ovlivněna zejména kvalita života.

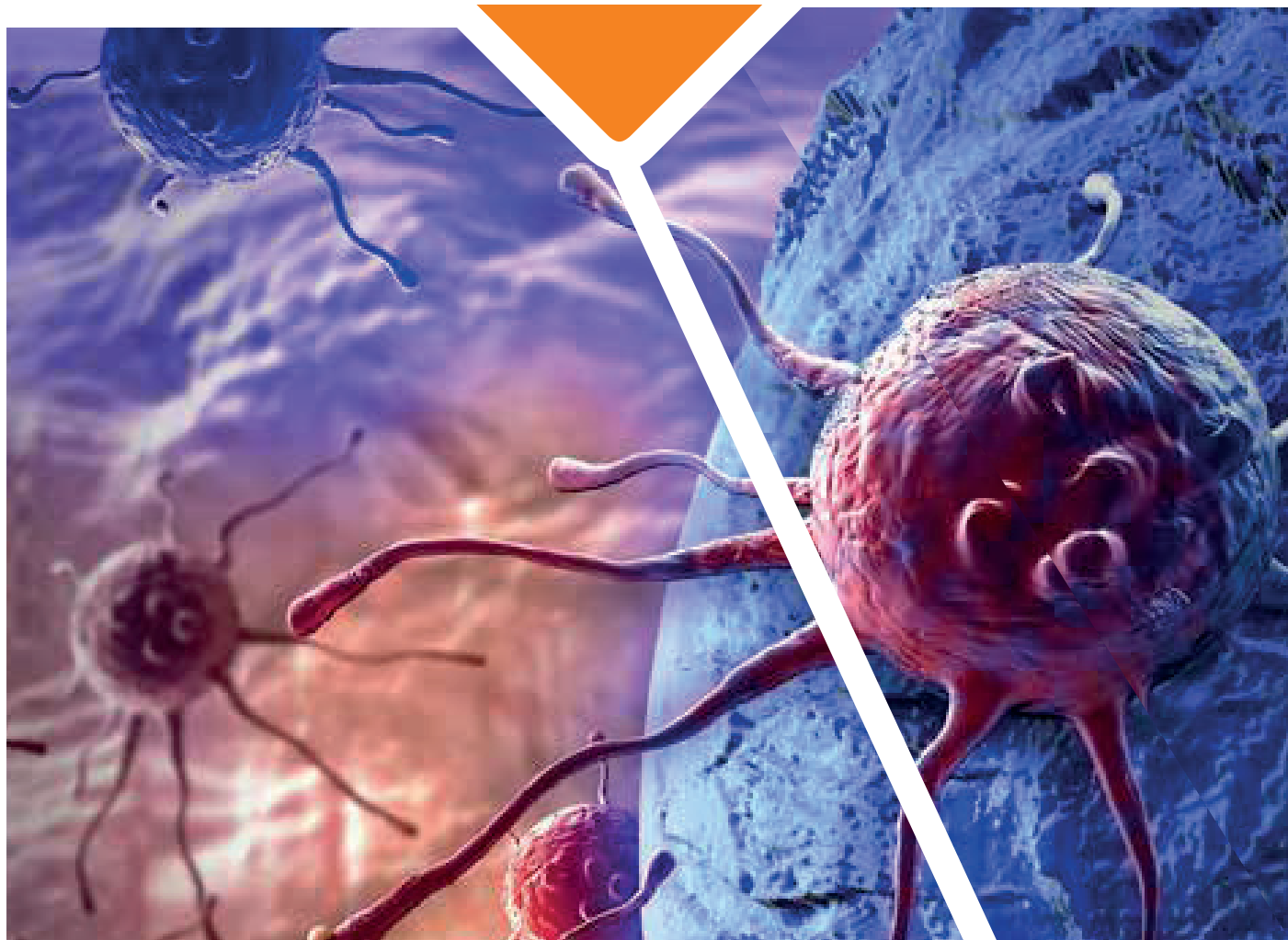
### Následná onkologická péče/ profylaxe relapsů

Programy následné péče navazují na vlastní léčbu onkologického onemocnění. Přestože se stav pacienta může zlepšit

nádorové markery se mohou stabilizovat (remise), je důležité včas rozpoznat relaps nebo progresi onemocnění a reagovat adekvátní terapií. Mikroimunoterapie se může i v této oblasti uplatnit (>Tabulka 4), zvláště pokud se týká rekonstituce a trvalé podpory funkce imunitního systému po nasazení protinádorové terapie. Tím mohou být zmírněny negativní dlouhodobé následky a riziko relapsu.

**Tabulka 4: Mikroimunoterapie a následná onkologická péče / profylaxe relapsů**

Rizikové faktory	Mikroimunoterapeutický přípravek	Praktické užití
<b>Solidní nádory</b>	V remisi ≤ 1 rok <b>2LC1-N</b>	1 kapsle/den jako dlouhodobá léčba
<b>Myeloidní leukémie</b>	<b>2LCLM</b>	1 kapsle/den jako dlouhodobá léčba
<b>Lymfocytární leukémie (testy k průkazu EBV)</b>	<b>2LCL1</b> + <b>2LEBV</b>	1 kapsle/den jako dlouhodobá léčba 10 kapslí/měsíc jako dlouhodobá léčba
<b>Hodgkinův lymfom (testy k průkazu EBV)</b>	<b>2LCL1</b> + <b>2LEBV</b>	1 kapsle/den jako dlouhodobá léčba 10 kapslí/měsíc jako dlouhodobá léčba
<b>Non-Hodgkinův lymfom (testy k průkazu EBV)</b>	<b>2LCL1/2LLNH1</b> + <b>2LEBV</b>	1 kapsle /den jako dlouhodobá léčba 10 kapslí/měsíc jako dlouhodobá léčba
<b>Morbus Waldenström Morbus Kahler Plazmocytom (testy k průkazu EBV)</b>	<b>2LKAH</b> + <b>2LEBV</b>	1 kapsle/den jako dlouhodobá léčba 10 kapslí/měsíc jako dlouhodobá léčba
<b>V remisi &gt;1 rok ≤ 5 let</b>		
<b>Solidní nádory</b>	<b>2LC1-N</b> nebo <b>2LC2</b>	1 kapsle/den jako dlouhodobá léčba
<b>Myeloidní leukémie</b>	<b>2LCLM</b>	1 kapsle/den jako dlouhodobá léčba
<b>Hodgkinův lymfom (testy k průkazu EBV)</b>	<b>2LCL1 nebo 2LCL2</b> + <b>2LEBV</b>	1 kapsle/den jako dlouhodobá léčba 10 kapslí/měsíc jako dlouhodobá léčba
<b>Non-Hodgkinův lymfom (testy k průkazu EBV)</b>	<b>2LCL1/2LLNH1 nebo 2LCL2</b> + <b>2LEBV</b>	1 kapsle/den jako dlouhodobá léčba 10 kapslí/měsíc jako dlouhodobá léčba
<b>Morbus Waldenström Morbus Kahler Plazmocytom (testy k průkazu EBV)</b>	<b>2LKAH</b> + <b>2LEBV</b>	1 kapsle/den jako dlouhodobá léčba 10 kapslí/měsíc jako dlouhodobá léčba



### Praktický tip:

Při probíhající léčbě vedoucí k destrukci nádoru a zpravidla i při imunosupresivní léčbě není výhodné provádět typizaci lymfocytů, poněvadž výsledky jsou zpravidla touto léčbou zkreslené. Po ukončení chemoterapie/radioterapie se v každém případě doporučuje vyšetřit stav imunity pacienta a podpořit tuto imunitu mikroimunoterapií, případně jinými léčebnými přístupy, aby došlo ke zlepšení imunitní funkce.

### Často kladené otázky

**Dr. med. Lourdes Reig (Mallorca, Španělsko), Gunter Schlegel (Freiburg, Německo)**

#### Je mikroimunoterapie kompatibilní s jinou léčbou nasazovanou v oblasti onkologie?

Díky svým speciálním vlastnostem je mikroimunoterapie obecně kompatibilní

s konvenční onkologickou léčbou (operativní zákrok, radioterapie a chemoterapie) stejně jako s moderní cílenou terapií a dalšími postupy. Kromě toho ji lze kombinovat synergickým způsobem v oblasti integrativní medicíny s jakoukoli jinou léčbou. Jejím cílem je podporovat protinádorovou imunitu a působit proti mechanismům kancerogeneze. V odborné literatuře jsou zdůrazňovány přednosti takových protinádorových léčebných strategií, při nichž je léčba zaměřená na ničení maligních buněk kombinována s imunomodulační léčbou<sup>15</sup>.

#### Jaký je rozdíl mezi přípravky 2LCL1 a 2LLNH1?

Přípravek 2LCL1 bývá nasazována na podporu imunitního systému u hematologických neoplazií jako chronické lymfocytární leukémie, akutní lymfoblastické leukémie, Hodgkinova lymfomu a non-Hodgkinova lymfomu (NHL). Přípravek 2LLNH1 nachází na základě svého specifického složení uplatnění u non-Hodgkinova lymfomu. Z

praktického hlediska by proto mělo u pacienta, který je postižen NHL, proběhnout nové nastavení s přípravkem 2LLNH1. Stávající léčba přípravky 2LCL1 nebo 2LCL2 by však při stabilním, pozitivním průběhu neměla být měněna, ani v případě NHL.

#### Jaká je souvislost mezi rolí zánětlivé reakce v kancerogenezi a využitím mikroimunoterapie v onkologii?

U onkologických onemocnění hraje záněť dvojí roli. Na jedné straně podporuje zahájení protinádorové odpovědi a přispívá tak k potlačení nádoru. Na druhé straně je dáván do souvislosti se vznikem a rozvojem nádoru prostřednictvím indukce genetické nestability, buněčné proliferace a angiogeneze<sup>3,22</sup>. Zánětlivé mikroprostředí je důležitou komponentou všech druhů nádorů, a proto bylo popsáno jako jedna ze zvláštních charakteristik maligních buněk<sup>23</sup>. V tomto smyslu ovlivňuje cytokinové prostředí a aktivace určitých transkripčních faktorů samotný průběh onemocnění.



Tak byla zejména u pacientů v pokročilém stadiu onemocnění pozorována současná exprese prozánětlivých cytokinů jako IL-6, IL-8 nebo TNF- $\alpha$  a imunosuprimujících cytokinů jako TGF- $\beta$  a IL-10. Kromě toho je zpravidla exprese cytokinů jako IL-12 a IFN- $\gamma$ , jež jsou zodpovědné za indukci a zachování Th1 odpovědi, snížena. V důsledku toho, navzdory přítomnosti prozánětlivých stimulů, nejsou aktivovány efektorové buňky protinádorové imunity, schopné nádor rozpoznat a eliminovat, příp. tyto buňky vykazují dysfunkci<sup>24,25</sup>.

Mezi transkripčními faktory, jež se účastní onkologických procesů, hraje STAT3 u většiny druhů onkologických onemocnění rozhodující roli. Tato molekula, která je aktivována cytokiny jako IL-6 a IL-10, může ve spojitosti s NF- $\kappa$ B podporovat pronádorové procesy a současně brzdí protinádorovou Th1 imu-

nitní odpověď<sup>26</sup>. Nejsou-li cytokiny jako IL-1 nebo IL-12 přítomny v dostatečném množství, je pravděpodobnější, že IL-6 bude pozitivně ovlivňovat chronický zánět podporující rozvoj nádoru a angiogenezi, namísto aby účinek směřoval k potlačení rozvoje nádoru<sup>6</sup>.

Vzhledem k těmto v odborné literatuře popsaným mechanismům a s přihlédnutím k charakteru mikroimunoterapeutických přípravků a nashromážděných zkušeností s jejím klinickým užitím, lze tyto přípravky považovat za bezpečné. Mikroimunoterapeutické přípravky obsahují nízkodávkované cytokiny a dalších imunomodulační látky, jež jsou zvoleny s přihlédnutím k patofyziologii onkologických onemocnění. Tak je zajištěna jejich dobrá snášenlivost. Díky tomuto specifickému složení, sekvenci podávání a synergické souhře mezi účinnými látkami se imunitní rovno-

váha posouvá ve prospěch protinádorové imunity, zprostředkované především Th1 lymfocyty a M1 makrofágy, a působí proti nádorem indukované imunosupresi.

### Může být přípravek **zLINFLAM** nasazen u pacientů s onkologickým onemocněním?

Jak již bylo uvedeno výše, hraje zánět u onkologických onemocnění dvojí roli. Proto někteří odborníci používající mikroimunoterapii berou v určitých případech, zvláště, pokud pacient vykazuje silnou zánětlivou komponentu, v úvahu krátkodobé použití přípravku **zLINFLAM** (ke ztlumení zánětlivé reakce) v kombinaci se stávajícími onkologickými přípravky. Přesto je však důležité u každého onkologického pacienta pečlivě uvážit možná rizika a výhody užití tohoto přípravku.

### Závěr

**Gunter Schlegel (Freiburg, Německo)**

Mikroimunoterapie (low-dose imunoterapie) se osvědčila jako významný prostředek integrativní medicíny v oblasti onkologie. Je zaměřena na kontrolu maligního procesu na základě podpory protinádorové imunity a omezení kancerogenních mechanismů a může být použita jako doplněk léčby onkologických onemocnění.

Navíc může být používána jako prostředek přispívající k obnově funkce imunitního systému po intenzivní léčbě zaměřené na destrukci tumoru. Díky svým výše popsaným imunomodulačním účinkům, může být mikroimunoterapie použita ke korekci imunodeficiency, vzniklé v průběhu standardní onkologické léčby, přičemž dlouhodobým cílem je zlepšení prognózy pacientů.

## Příloha 1: Mikroimunoterapie u solidních nádorů: postupné cíle imunoregulace

**Dr. med. Lourdes Reig**  
(Mallorca, Španělsko)

### I. Protinádorová imunita (Tab. 5a)

Jak bylo představeno v kapitole „Imunita, zánět a onkologická onemocnění“, působí

různé buňky vrozené (dendritické buňky, NK buňky, makrofágy) a získané imunitní odpovědi (CD4+ T lymfocyty a cytotoxické CD8+ T lymfocyty) společně, aby eliminovaly maligní buňky. U onkologických pacientů byla však popsána postupující imunodeficiency v oblasti buněčné imunity, jakož i opožděné obnovení imunolo-

gické reaktivity po standardní onkologické léčbě<sup>27</sup>.

**Mikroimunoterapie sleduje na této úrovni následující cíl: podporu protinádorové imunity, zachování imunitního dohledu a potlačení imunosuprese indukované nádory.**

## Tabulka 5a: Údaje z odborné literatury k fyziologické/patofyziologické aktivitě různých imunomodulačně působících cytokinů v rámci procesů onkogeneze

↑ Podpora mechanismu ↓ Potlačení mechanismu  Aktivita příznivá pro průběh onkologického onemocnění  
 Aktivita nepříznivá pro průběh onkologického onemocnění

Cytokin	Fyziologická/patofyziologická aktivita cytokinu v rámci procesů onkogeneze
GM-CSF	<input checked="" type="checkbox"/> ↑ Tvorba DC <sup>8</sup>
TNF- $\alpha$	<input checked="" type="checkbox"/> ↑ Tvorba DC <sup>8</sup> ↑ Maturace DC a prezentace antigenu <sup>6</sup> ↑ Aktivace makrofágů s protinádorovým fenotypem (M1) ↑ Aktivace a rekrutace NK buněk, CD4+ a CD8+ T lymfocytů <sup>6</sup> ↑ Buňkami zprostředkovaná cytotoxicita <sup>6</sup>
IL-12	<input checked="" type="checkbox"/> ↑ Diferenciace naivních CD4+ T lymfocytů v Th1 buňkách <sup>9</sup> ↑ Maturace DC a prezentace antigenu <sup>6</sup> ↑ Produkce IFN- $\gamma$ různými buňkami <sup>9</sup> ↑ Proliferace NK buněk <sup>28</sup> ↑ Aktivita CTL <sup>28</sup> ↑ Polarizace makrofágů (Switch) z fenotypu M2 na fenotyp M1 <sup>29</sup>
IFN- $\alpha$	↑ Tvorba DC <sup>30</sup> ↑ Maturace DC a prezentace antigenu <sup>28</sup> ↑ Aktivace NK buněk a CTL <sup>28</sup>
IL-2	↑ Aktivace a proliferace T lymfocytů a NK buněk <sup>31</sup>
IL-1	<input checked="" type="checkbox"/> ↑ Prezentace antigenu prostřednictvím DC <sup>6</sup> ↑ Proliferace CD4+ a CD8+ T lymfocytů <sup>6</sup> <input checked="" type="checkbox"/> ↑ Aktivace MDSC <sup>32</sup> ↑ Angiogeneze <sup>32</sup>
IL-6	<input checked="" type="checkbox"/> ↑ Protinádorová aktivita CD4+ a CD8+ T lymfocytů <sup>6,33</sup> <input checked="" type="checkbox"/> ↑ Aktivace MDSC <sup>6,12</sup> ↓ Maturace DC <sup>6</sup> ↑ Angiogeneze <sup>33</sup>
IL-4	<input checked="" type="checkbox"/> ↑ Sekrece IFN- $\gamma$ buňkami NK a NKT závislá na STAT6 <sup>34</sup> <input checked="" type="checkbox"/> ↑ Diferenciace naivních CD4+ T lymfocytů v Th2 buňky <sup>35</sup> ↑ Alternativní aktivace makrofágů s protumorálním fenotypem (M2) <sup>36</sup>
IFN- $\gamma$	<input checked="" type="checkbox"/> ↑ Aktivace makrofágů s antitumorálním fenotypem (M1) <sup>11</sup> ↑ Prezentace antigenu prostřednictvím DC <sup>28</sup> ↑ Cytotoxická funkce NK buněk a CTL <sup>36</sup> <input checked="" type="checkbox"/> ↑ Imunosuprese <sup>37</sup>
TGF- $\beta$	<input checked="" type="checkbox"/> ↑ Diferenciace naivních CD4+ T lymfocytů v Tregs <sup>38</sup> ↑ Diferenciace a aktivace CA <sup>13,14</sup> ↑ Imunotolerance/imunosuprese <sup>38,39</sup>
IL-10	<input checked="" type="checkbox"/> ↑ Alternativní aktivace makrofágů s pronádorovým fenotypem (M2) <sup>11</sup> ↑ Imunotolerance/imunosuprese <sup>40</sup>

## II. Progrese tumoru (Tab. 5b)

V některých případech se maligním buňkám daří, navzdory procesům imunitního dohledu, tyto obranné mechanismy překonat. Tímto způsobem se mohou nekontro-

lovaně množit a rozvíjet schopnost pronikat přes hranice primárního nádoru do okolní zdravé tkáně a tam vytvářet metastázy. V tomto smyslu podporují zejména epiteliálně-mezenchymální tranzice (EMT) a také angiogeneze - dva spolu úzce spojené mechanismy<sup>41</sup> - růst nádoru a tvorbu metastáz.

EMT je řízena především TGF- $\beta$  a dalšími růstovými faktory jako EGF, FGF a IGF, jakož i komponentami extracelulární matrix<sup>42</sup>. Angiogeneze je oproti tomu zprostředkována molekulami jako VEGF, bFGF a TGF- $\beta$ <sup>43</sup>.  
**Mikroimunoterapie na této úrovni sleduje tento cíl: omezení progrese tumoru.**

### Tabulka 5b: Údaje z odborné literatury k fyziologické/patofyziologické aktivitě různých imunomodulačně působících cytokinů v rámci procesů onkogeneze

↑ Podpora mechanismu ↓ Potlačení mechanismu  Aktivita příznivá pro průběh onkologického onemocnění  Aktivita nepříznivá pro průběh onkologického onemocnění

Cytokin	Fyziologická/patofyziologická aktivita cytokinu v rámci procesů onkogeneze
TGF- $\beta$	<input checked="" type="checkbox"/> ↑ EMT <sup>42</sup> ↑ Angiogeneze
EGF	<input checked="" type="checkbox"/> ↑ EMT <sup>42</sup>
IGF	<input checked="" type="checkbox"/> ↑ EMT <sup>44</sup>
bFGF	<input checked="" type="checkbox"/> ↑ Angiogeneze <sup>43</sup>
DMSO	<input checked="" type="checkbox"/> ↓ Množství proangiogenních faktorů <sup>45</sup>

## III. Rezistence tumoru (Tab. 5c)

V mnoha případech onkologická léčba ztroskotá, protože nádorové buňky vytvářejí rezistenční mechanismy, čímž se zvyšuje riziko recidivy a mortality. V solidních nádorech je hypoxie v mikroprostředí nádoru podstatným faktorem jak pro postup onemocnění, tak i pro rozvoj nádorové

rezistence. Hypoxické podmínky podporují mj. genetickou nestabilitu a potlačují schopnost apoptózy buněk<sup>46</sup>. Velká množství oxidu dusnatého (NO) produkovaná aktivovanými makrofágy jsou nezbytná k tomu, aby indukovala cytotoxicitu a apoptózu nádorových buněk<sup>47,48</sup>. NO je mimo to spojován se senzibilizací vůči standardní léčbě, jako mj. radioterapii<sup>49</sup>. Prozářlivé

cytokiny jako TNF- $\alpha$  nebo IFN- $\gamma$  mohou aktivovat tělu vlastní enzym indukibilní NO syntázu (iNOS) a zahájit tvorbu dostatečně endogenního NO, aby tak bylo dosaženo radiosenzibility nádorových buněk<sup>50</sup>.

**Mikroimunoterapie na této úrovni sleduje tento cíl: snížení rezistence na léčbu. ■**

### Tabulka 5c: Údaje z odborné literatury k fyziologické/patofyziologické aktivitě různých imunomodulačně působících cytokinů v rámci procesů onkogeneze

↑ Podpora mechanismu ↓ Potlačení mechanismu  Aktivita příznivá pro průběh onkologického onemocnění  Aktivita nepříznivá pro průběh onkologického onemocnění

Cytokin	Fyziologická/patofyziologická aktivita cytokinu v rámci procesů onkogeneze
TNF- $\alpha$	<input checked="" type="checkbox"/> ↑ Produkce NO v makrofázích <sup>51</sup>
IFN- $\gamma$	<input checked="" type="checkbox"/> ↑ Produkce TNF- $\alpha$ a NO v makrofázích <sup>51</sup> <input checked="" type="checkbox"/> ↑ Imunosuprese <sup>37</sup>

## Literatura

1. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell*. 2000;100(1):57-70.
2. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011;144(5):646-74.
3. Grivennikov SI, Greten FR, Karin M. Immunity, inflammation, and cancer. *Cell*. 2010;140(6):883-99.
4. Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD. The immunobiology of cancer immunosurveillance and immunoediting. *Immunity*. 2004;21(2):137-48.
5. Kim R, Emi M, Tanabe K. Cancer immunoediting from immune surveillance to immune escape. *Immunology*. 2007;121(1):1-14.
6. Burkholder B et al. Tumor-induced perturbations of cytokines and immune cell networks. *Biochim Biophys Acta*. 2014;1845(2):182-201.
7. Balkwill FR, Capasso M, Hagemann T. The tumor microenvironment at a glance. *J Cell Sci*. 2012;125(Pt 23):5591-6.
8. Zou GM, Tam YK. Cytokines in the generation and maturation of dendritic cells: recent advances. *Eur Cytokine Netw*. 2002;13(2):186-99.
9. Watford WT et al. The biology of IL-12: coordinating innate and adaptive immune responses. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2003;14(5):361-8.
10. Lamagna C, Aurrand-Lions M, Imhof BA. Dual role of macrophages in tumor growth and angiogenesis. *J Leukoc Biol*. 2006;80(4):705-13.
11. Marelli G, Allavena P, Erreni M. Tumor-associated macrophages, multi-tasking cells in the cancer landscape. *Cancer Research Frontiers*. 2015;1(2):149-161.
12. Umansky V et al. The Role of Myeloid-Derived Suppressor Cells (MDSC) in Cancer Progression. *Vaccines (Basel)*. 2016;4(4). pii: E36.
13. Shiga K et al. Cancer-Associated Fibroblasts: Their Characteristics and Their Roles in Tumor Growth. *Cancers (Basel)*. 2015;7(4):2443-2458.
14. Cirri P, Chiarugi P. Cancer associated fibroblasts: the dark side of the coin. *Am J Cancer Res*. 2011;1(4):482-497.
15. Müller-Hübenthal et al. Tumour Biology: tumour-associated inflammation versus antitumor immunity. *Anticancer Res*. 2009;29(11):4795-805.
16. Wang G et al. Decreased STAT4 indicates poor prognosis and enhanced cell proliferation in hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol*. 2015;21(13):3983-3993.
17. Li J et al. Clinicopathological significance of STAT4 in hepatocellular carcinoma and its effect on cell growth and apoptosis. *Oncotargets Ther*. 2016; 21;9:1721-34.
18. Litvinov IV et al. Analysis of STAT4 expression in cutaneous T-cell lymphoma (CTCL) patients and patient-derived cell lines. *Cell Cycle*. 2014;13(18):2975-2982.
19. Cheng JM et al. Silencing of stat4 gene inhibits cell proliferation and invasion of colorectal cancer cells. *J Biol Regul Homeost Agents*. 2015;29(1):85-92.
20. Zhou X et al. Down-regulation of miR-141 induced by helicobacter pylori promotes the invasion of gastric cancer by targeting STAT4. *Cell Physiol Biochem*. 2014;33(4):1003-12.
21. Yang et al. Expression and clinical correlates of signal transducers and activators of transcription 4: a tissue microarray study of 365 lung cancers. *International Journal of clinical and experimental pathology*. 2017;10(3):3461-3470.
22. Zamarron BF, Chen W. Dual roles of immune cells and their factors in cancer development and progression. *Int J Biol Sci*. 2011;7(5):651-8.
23. Colotta F et al. Cancer-related inflammation, the seventh hallmark of cancer: links to genetic instability. *Carcinogenesis*. 2009;30(7):1073-81.
24. Lippitz BE. Cytokine patterns in patients with cancer: a systematic review. *Lancet Oncol*. 2013;14(6):e218-28.
25. Lippitz BE, Harris RA. Cytokine patterns in cancer patients: A review of the correlation between interleukin 6 and prognosis. *Oncoimmunology*. 2016;5(5):e1093722.
26. Yu H, Pardoll D, Jove R. STATs in cancer inflammation and immunity: a leading role for STAT3. *Nat Rev Cancer*. 2009;9(11):798-809.
27. Kang DH et al. Significant impairment in immune recovery after cancer treatment. *Nurs Res*. 2009;58(2):105-14.
28. Lee S, Margolin K. Cytokines in cancer immunotherapy. *Cancers (Basel)*. 2011;3(4):3856-3893.
29. Watkins SK et al. IL-12 rapidly alters the functional profile of tumor-associated and tumor-infiltrating macrophages in vitro and in vivo. *J Immunol*. 2007;178(3):1357-62.
30. Santini SM et al. IFN-alpha in the generation of dendritic cells for cancer immunotherapy. *Handb Exp Pharmacol*. 2009;(188):295-317.
31. Voss SD. Serum levels of the low-affinity interleukin-2 receptor molecule (TAC) during IL-2 therapy reflect systemic lymphoid mass activation. *Cancer Immunol Immunother*. 1989;29(4):261-9. | 23
32. Mantovani A, Barajon I, Garlanda C. IL-1 and IL-1 regulatory pathways in cancer progression and therapy. *Immunol Rev*. 2018;281(1):57-61.
33. Fisher DT, Appenheimer MM, Evans SS. The two faces of IL-6 in the tumor microenvironment. *Semin Immunol*. 2014;26(1):38-47.
34. Morris SC et al. IL-4 induces in vivo production of IFN-gamma by NK and NKT cells. *J Immunol*. 2006;176(9):5299-305.
35. Silva-Filho JL, Caruso-Neves C, Pinheiro AAS. IL-4: an important cytokine in determining the fate of T cells. *Biophys Rev*. 2014;6(1):111-118.
36. Van Dyken SJ, Locksley RM. Interleukin-4- and interleukin-13-mediated alternatively activated macrophages: roles in homeostasis and disease. *Annu Rev Immunol*. 2013;31:317-43.
37. Mojic M, Takeda K, Hayakawa Y. The Dark Side of IFN- $\gamma$ : Its Role in Promoting Cancer Immune Evasion. *Int J Mol Sci*. 2017;19(1):89.
38. Yang L, Pang Y, Moses HL. TGF-beta and immune cells: an important regulatory axis in the tumor microenvironment and progression. *Trends Immunol*. 2010;31(6):220-227.
39. Terabe M et al. Synergistic enhancement of CD8+ T cell-mediated tumor vaccine efficacy by an anti-transforming growth factor-beta monoclonal antibody. *Clin Cancer Res*. 2009;15(21):6560-9.
40. Moore KW et al. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu Rev Immunol*. 2001;19:683-765.
41. Fantozzi A et al. VEGF-mediated angiogenesis links EMT-induced cancer stemness to tumor initiation. *Cancer Res*. 2014;74(5):1566-75.
42. Lamouille S, Xu J, Derynck R. Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2014;15(3):178-196.
43. Nishida N et al. Angiogenesis in cancer. *Vasc Health Risk Manag*. 2006;2(3):213-219.
44. Cevenini A et al. Molecular Signatures of the Insulinlike Growth Factor 1-mediated Epithelial-Mesenchymal Transition in Breast, Lung and Gastric Cancers. *Int J Mol Sci*. 2018;19(8). pii: E2411.
45. Şimşek E et al. Dimethyl sulfoxide-caused changes in proand anti-angiogenic factor levels could contribute to an anti-angiogenic response in HeLa cells. *Neuropeptides*. 2015;53:37-43.
46. Karakashev SV, Reginato MJ. Progress toward overcoming hypoxia-induced resistance to solid tumor therapy. *Cancer Manag Res*. 2015;7:253-264.
47. Pervin S et al. Potentiation of nitric oxide-induced apoptosis of MDA-MB-468 cells by farnesyltransferase inhibitor: implications in breast cancer. *Cancer Res*. 2001;61(12):4701-6.
48. Muntané J, la Mata MD. Nitric oxide and cancer. *World J Hepatol*. 2010;2(9):337-44.
49. Yasuda H. Solid tumor physiology and hypoxia-induced chemo/radio-resistance: novel strategy for cancer therapy: nitric oxide donor as a therapeutic enhancer. *Nitric Oxide*. 2008;19(2):205-16.
50. De Ridder M, Verellen D, Verovski V, Storme G. Hypoxic tumor cell radiosensitization through nitric oxide. *Cancer Res*. 1998;58(24):5646-8.
51. Schäffer M et al. Regulation of nitric oxide synthesis in wounds by IFN-gamma depends on TNF-alpha. *J Invest Surg*. 2006;19(6):371-9.