

VYDÁVÁ  
ČESKÁ LÉKAŘSKÁ  
SPOLEČNOST J. E. PURKYNĚ  
IČO 444359

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

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

Sekretář redakce:  
ing. Zdeněk Bouša

Grafická a technická úprava:  
Bohuslav Havlíček

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

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

Expedici na základě roční objednávky  
vyřizuje redakce

Ministerstvo kultury ČR  
MK ČR 5158  
ISSN 0862-495 X

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

INDEXED IN EXCERPTA MEDICA

ČASOPIS ČESKÉ ONKOLOGICKÉ SPOLEČNOSTI  
A SLOVENSKEJ ONKOLOGICKEJ SPOLEČNOSTI

THE JOURNAL OF THE CZECH AND SLOVAK  
ONCOLOGICAL SOCIETIES

VEDOUcí REDAKTOR: REJTHAR ALEŠ

ZÁSTUPCE VEDOUcíHO  
REDAKTORA: KOZA IVAN  
VÝKONNÝ REDAKTOR: FAIT VUK

#### REDAKTOŘI:

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

#### REDAKČNÍ RADA:

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

**Článek na výzvu - přehled**

Kodet R., Nehalová M., Krsková L., Mandáková P., Kalinová M.

Život patologa mezi molekulami – výstroj a výzbroj pro přežití ..... 3

**Přehled**

Zálecký M., Lukeš M., Zachoval R., Heráček J., Kuncová J., Urban M.

Současné možnosti genové terapie karcinomu prostaty ..... 9

**Původní práce**

Myslivoček M., Bafovský J., Kamínek M., Koranda P., Vytřasová M., Hušák V., Ščudla V., Nekula J.

Scintigrafie pomocí <sup>99m</sup>Tc-MIBI v diagnostice mnohočetného myelomu: senzitivní ukazatel biochemické aktivity choroby ..... 13

Brychta M., Hnilica K.

Vliv únavy na kvalitu života onkologických pacientů ..... 18

**Kazuistika**

Soukup P., Maalouf J., Kouba M., Písečka M., Kačírková P., Čermák J., Pohlreich D., Pytlík R., Cetkovský P.

Difúzní B – velkobuněčný lymfom projevující se jako autoimunní hemolytická anemie. Diagnostická úskalí ..... 25

**Sdělení**

Klener P.

Kostní metastázy. Patogeneze, diagnostika a léčba ..... 29

Široký P., Novák J., Koukalová H.

Náklady péče u jednotlivých klinických stadií karcinomu prsu žen ..... 33

**Zprávy**

Žaloudík J.

Bioterapie nádorů: od poznávání podstaty nádorových onemocnění k cílené léčbě... a zpět ..... 37

Horvath A.T.

Interdependence v pneumologii ..... 38

**Informace**

Geryk E.

Onkologická medaile ..... 17

Brněnské onkologické dny ..... 32

Národní onkologický program pro ČR ..... 36

**Onkologické společnosti** ..... 39**CONTENTS****An article on appeal – reviews**

Kodet R., Nehalová M., Krsková L., Mandáková P., Kalinová M.

How to survive in the vastness of molecules: a view from a pathologist ..... 3

**Reviews**

Zálecký M., Lukeš M., Zachoval R., Heráček J., Kuncová J., Urban M.

Current possibilities of gene therapy of prostate cancer ..... 9

**Original publications**

Myslivoček M., Bafovský J., Kamínek M., Koranda P., Vytřasová M., Hušák V., Ščudla V., Nekula J.

Technecium <sup>99m</sup>Tc-MIBI scintigraphy in patients with multiple myeloma: a sensitive marker of the biological disease activity ..... 13

Brychta M., Hnilica K.

The influence of fatigue on the quality of life of cancer patients ..... 18

**Case Report**

Soukup P., Maalouf J., Kouba M., Písečka M., Kačírková P., Čermák J., Pohlreich D., Pytlík R., Cetkovský P.

Diffuse large B-cell lymphoma manifesting as autoimmune hemolytic anemia. Diagnostic pitfalls ..... 25

**Communication**

Klener P.

Bone metastases. Pathogenesis, diagnostic and treatment ..... 29

Široký P., Novák J., Koukalová H.

Costs of female breast cancer care in particular clinical stages ..... 33

**Report**

Žaloudík J.

Biotherapy of tumours: from recognition of the tumours diseases nature to the purposeful treatment... and back ..... 37

Horvath A.T.

Interdependence in pneumology ..... 38

**Notification**

Geryk E.

Oncological medal ..... 17

Brno Oncological Days ..... 32

National Oncological Programme for the Czech Republic ..... 36

**Oncological association** ..... 39

## ŽIVOT PATOLOGA MEZI MOLEKULAMI – VÝSTROJ A VÝZBROJ PRO PŘEŽITÍ

### HOW TO SURVIVE IN THE VASTNESS OF MOLECULES: A VIEW FROM A PATHOLOGIST

KODET R., MRHALOVÁ M., KRŠKOVÁ L., MANDÁKOVÁ P., KALINOVÁ M.

ÚSTAV PATOLOGIE A MOLEKULÁRNÍ MEDICÍNY, UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE,  
2. LÉKAŘSKÁ FAKULTA A FAKULTNÍ NEMOCNICE V MOTOLE, PRAHA

**Souhrn:** Biopické vyšetření má v diagnostice nádorových onemocnění významné postavení. Tradiční histopatologické a cytologické vyšetřovací metody s využitím histologických postupů a barvení, doplněné o imunohistochemickou detekci proteinů ve tkáni představují základ. Ten v současné době rozšiřujeme o nové vyšetřovací metody identifikující změny v nádorových buňkách na úrovni proteinů, mRNA a DNA (vertikální pohled) a v budoucnu budeme rozšiřovat o detekci souborů genů nebo jejich produktů současně – mikročipové metody (horizontální pohled). Příklady z praktického využití moderních diagnostických postupů slouží k ilustraci soudobého trendu rozšiřovat spektrum vyšetření prováděných pracovišti patologie jako základního laboratorního oboru. Kromě diagnostického aspektu molekulárních vyšetření je třeba zdůraznit rozšiřování spektra vyšetření s aspektem terapeuticko – indikačním (např. vyšetření proteinu ERBB-2 a genu ERBB2 u nemocných s invazivními duktálními karcinomy mléčné žlázy). Kontinuální vzdělávání v oboru patologie a molekulární biologie je předpokladem dosažení pracovní dlouhověkosti současného patologa.

**Klíčová slova:** onkologie, histopatologie, molekulární diagnostika

**Summary:** Surgical histopathology investigations plays a key role in diagnostics of neoplastic diseases. Traditional histopathological and cytological approach using histological techniques and staining methods, complemented by immunohistochemical detection of proteins in tissues represent the basic principles in diagnostics. The spectrum of investigations is broadened by methods identifying changes in tumor cells at the level of mRNA and DNA (a vertical aspect), and in near future will be expanded by detection of groups of genes or their products at one time – microchip technologies (a horizontal aspect). Examples based on a practical use of modern diagnostic approaches serve to illustrate a trend to introduce a spectrum of investigations performed by departments of pathology, which should maintain a role of a basic laboratory discipline. It is to be stressed that beside a diagnostic importance of molecular investigations there is an increasing importance of investigations aimed at molecular therapy (eg. detection of ERBB-2 protein and ERBB2 gene in patients with invasive duct carcinomas of the breast). A continuous training in the field of pathology and molecular biology is a prerequisite for longevity of any pathologist.

**Key words:** oncology, histopathology, molecular diagnostics

Obor patologie (dříve také nazývaný patologická anatomie) byl v minulých stoletích v mnohých směrech předvojem vývoje medicíny. Osvojil si pokrokové metody opřené o mikroskopické a v sedmdesátých letech dvacátého století o ultrastrukturální pozorování. Na jeho základech počaly vyrůstat nové disciplíny (histochemie, imunohistochemie) i nové obory (např. imunologie).

Rozvoj biologických poznatků od doby objasnění podstaty genetické informace a jejího přepisu do proteinů podstatně změnil uvažování o patobiologii nemoci a změnil pohled na mnohé nosologické jednotky. Mikroskopické techniky, stále používané jako základ pro vyšetření v oboru patologie, přestávají stačit k vysvětlení příčinných vztahů nemoci a v mnohých případech nejsou dost citlivé například k identifikaci jednotlivých nádorových buněk diseminovaných do kostní dřeni. Aby patolog mohl vyšetřovat nemocné v souladu se současnými nároky na diagnostiku onemocnění a zohlednil nové poznatky o chorobných dějích, musí doplňovat své znalosti a výzbroj o nástroje využívané dosud pouze v biologii či genetice.

S narůstajícími možnostmi detekce proteinů (regulačních, či strukturálních) během posledních dvaceti let byl rozvoj patologie *imunohistochemickým směrem* předvojem hlubšího

pohledu do dění v buňkách. Předznamenával období molekulární patologie na úrovni proteinové diagnostiky a komplexní pohled na vzájemné vztahy mezi proteiny v buňce - *proteomiku*. Proteinová diagnostika bude mít stále větší význam, protože kromě identifikace buněčně příznačných antigenních epitopů (tedy diagnostické výtěžnosti) ukazuje i aktuální funkční situaci v buňce (např. buněčnou kinetiku, obr. 1a). Proteinovou diagnostiku můžeme aplikovat nejen *in situ* na histologickém skle (imunohistochemické metody), ale také v periferní krvi, v kostní dřeni a v homogenátu tkáně - pomocí průtokové cytometrie (1). Průtokový cytometr je přístroj, který kombinuje princip fluorescenčního mikroskopu a hematologického analyzátoru a tudíž umožňuje simultánní analýzu velkého počtu částic a současně omezuje faktor subjektivního hodnocení. Standardním výstupem cytometrického vyšetření je zastoupení buněk nesoucích daný antigen vyjádřen v procentech. Výhodou této metody je možnost stanovení koexprese buněčných antigenů, což předpokládá použití monoklonálních, většinou přímo fluorescenčně značených protilátek. Běžné cytometry vybavené argonovým laserem umožňují souběžnou aplikaci tří fluorochromů a tedy trojbarevnou analýzu, která má vyšší citlivost než analýza jednobarevná a její použití je vhodné zejména při detekci minimální reziduální nemoci. Kro-

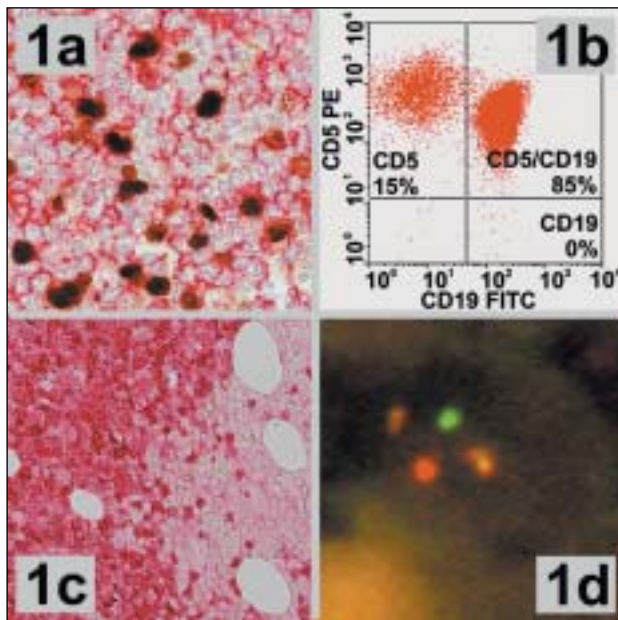
**Obr. 1. Příklad komplexní diagnostiky, v tomto případě lymfomu z buněk pláště („Mantle cell lymphoma“, MCL). PCR reakce k průkazu translokace t(11;14) je součástí každého vyšetření při podezření na tento lymfom, na obrázku není uvedena**

**1a** – imunohistochemický průkaz exprese proteinu Ki-67 (hnědá jaderná pozitivita, peroxidáza / diaminobenzidin), zároveň s průkazem molekuly CD20 (červená membránová pozitivita, alkalická fosfatáza / stálá červeně) v lymfatické uzlině; imunohistochemické vyšetření se dvojnásobným značením umožňuje detegovat proliferativní frakci v CD20 pozitivních nádorových buňkách – vyšetření má význam v prognostickém odhadu chování nádoru;

**1b** – průtoková cytometrie provedená z lymfatické uzliny; identifikace koexpresie molekuly CD5 a CD19 u nádorové populace, která je zastoupená ve vyšetřovaném vzorku jako většina;

**1c** – imunohistochemický průkaz overexpresce proteinu cyklín D1 v kostní dřeni (červená jaderná pozitivita, alkalická fosfatáza / stálá červeně); overexprese vzniká na základě patologické stimulace genu CCND1 kódujícího cyklín D1 při translokaci t(11;14)(q13;q32);

**1d** – průkaz translokace t(11;14)(q13;q32) metodou I-FISH v histologickém řezu lymfatické uzliny (dva fúzní červeno-žluto-zelené signály z translokovaných oblastí, jeden signál zelený – intaktní oblast alelického lokusu 14q32 a jeden signál červený – intaktní oblast alelického lokusu 11q13).



mě analýzy může průtokový cytometr sloužit rovněž ke třídění (sortování) částic, což je zatím využíváno spíše k experimentálním účelům: vše vypracované především v hematologii u leukémií a lymfomů (obr. 1b). Další možnosti proteinové diagnostiky je izolace proteinů a jejich studium pomocí blotovacích technik (western blotting, umožňující identifikaci proteinu na základě jeho fyzikálních vlastností a molekulové hmotnosti a také částečnou kvantifikaci). S postupem vývoje poznání si však uvědomujeme, že je potřebné dívat se na procesy v buňkách komplexně a že využítí jen jednoho přístupu (proteinové diagnostiky) není dostatečné. Proteiny vznikají translací genetické informace z informačních ribonukleových kyselin (mRNA), do kterých byla tato informace přenesena transkripcí z příslušných genů (DNA), a to za fyziologických i patologických podmínek. V mnoha případech rutinního vyšetřování tkání je třeba mít tento přenos genetické informace na zřeteli a ve vybraných případech by měl patolog přistoupit k vyšetření dílčích složek buněčných regulací nejen na horizontální úrovni – tedy při vyšetření exprese proteinů, ale také na úrovni vertikální – tedy při snaze vysvětlit příčinné souvislosti tvorby proteinu na úrovni DNA a RNA (obr. 1c,d). Pomocí imunohistochemických technik můžeme totiž prokázat například akumulaci proteinu v buňce nebo ve tkáni, protein však nemusí být funkční; imunohistochemický průkaz může tedy být, bez znalosti aktivity transkripce a translace zjištěné pomocí molekulárních metod, mylně interpretován jako zvýšená tvorba proteinu.

Ke komplexnímu vyšetření (protein, RNA, DNA) má patolog dobré předpoklady. Ovládá zpracování tkání a dokáže na základě mikroskopického vyšetření vybrat tkáň potřebnou ke specializovaným vyšetřením. Po zmrazení (které uchová strukturu i cytologii buněk a také nukleové kyseliny v dostatečné kvalitě pro jejich izolaci) může patolog identifikovat tu část tkáně, která je chorobně změněna a která by měla být v dalších krocích analyzována. Patolog má tak v rukou první kroky rozhodovacího procesu o tom, jaký proces se vyšetřuje a o tom, které tkáňové struktury, případně které buňky jsou k tomuto vyšetření vhodné (platí zejména u tzv. solidních nádorů). Na základě morfologického vyšetření může patolog navrhnout, jaké spektrum dalších metod je vhodné aplikovat.

Není však možné, aby specializované molekulární vyšetření vykonával patolog sám. Tak jako je chirurgie již po mnoho desetiletí týmovou prací, a je to tým nejen chirurgů, ale také anesteziologů a dalších specialistů, musí také patolog rozvíjet týmovou činnost. Určitý princip týmovosti se spontánně uplatňuje již mnoho let. Například makroskopická diagnostika některých onemocnění je v rukou gastroenterologů vyšetřujících endoskopickými technikami, dermatologů nebo gynekologů. Mezioborová spolupráce je zde potřebná, je třeba ji dále vědomě pěstovat, protože ne na všech pracovištích je ideálně funkční (např. informovanost vyšetřujícího patologa o klinickém stavu pacienta bývá často nedostatečná). Do vlastního týmu patologa je vhodné a dokonce nutné přizvat odborníky z oblasti molekulární diagnostiky, kteří ovládají technologie studia jak proteinů, tak nukleových kyselin, dosud pathology málo využívané. Potenciál znalostí a dovedností se tak sdílí mezi odbornostmi a obohacuje patologa, stejně tak, jako molekulární biologa. Takový tým by měl pracovat nejen na výzkumu určité problematiky (blízké tomu či onomu zařízení patologie), ale i v oblasti diagnostiky. Již v současnosti je jasné, že diagnostika mnohých onemocnění se bez komplexního přístupu neobejde. V rutinní práci patologa zasluhují stále větší záber již zmíněné metody identifikující děje v nádorových buňkách na úrovni genu (DNA), transkriptu (mRNA) a proteinu, především v diagnostice nádorových onemocnění. Identifikace těchto vertikálních regulací jsou podstatné. Můžeme uvést praktický případ s dopadem na terapii:

Imunohistochemické vyšetření exprese proteinu ERBB-2 u nemocných s invazivními ductálními karcinomy mléčné žlázy za účelem indikace terapie humanizovanou monoklonální protilátkou Herceptin (trastuzumab, Genentech, Inc.). Toto vyšetření není v některých případech jednoznačně interpretovatelné. Protože overexprese proteinu je u většiny případů způsobena amplifikací genu ERBB2 (17q21), je obecným trendem podporovat proteinovou diagnostiku diagnostikou genovou - vyšetřením amplifikace genu ERBB2 metodou fluorescenční *in situ* hybridizace - FISH (2), (obr. 2a,b). Jak se nám podařilo prokázat, ne vždy je overexprese proteinu ERBB-2 způsobena amplifikací genu. Při vyšetření mRNA jsme zjistili, že u většiny případů je sice dobrá korelace mezi zvýšeným počtem kopií genu a zvýšenou hladinou transkriptu, ale u některých nemocných může být zvýšená mRNA a overexprese proteinu (3+) způsobena jinými faktory než amplifikací genu (3). V patogenetice tohoto nálezu se tedy uplatňují regulační změny na úrovni transkripce. Kdybychom však přistoupili „jen“ na současný trend diagnostiky, bylo by sporné, zda by nemocné při zjištění overexpresce ERBB-2 proteinu bez amplifikace ERBB2 genu měl být aplikován preparát Herceptin. Z tohoto příkladu tedy vyplývá nutnost komplexního přístupu k diagnostice na základě uceleného laboratorního výstupu s fundovaným epikritickým zhodnocením.

Aplikace Herceptinu u nemocných s karcinomy mléčné žlázy je pouze jedním příkladem. Onkologická terapie se začíná orientovat na léky, které jsou cíleně vyvinuty na některý specifický znak nádorových buněk. Tyto postupy však vyžadují a budou i v budoucnu vyžadovat specializovaná vyšetření. Detekce exprese proteinů pro nasazení terapie humanizova-



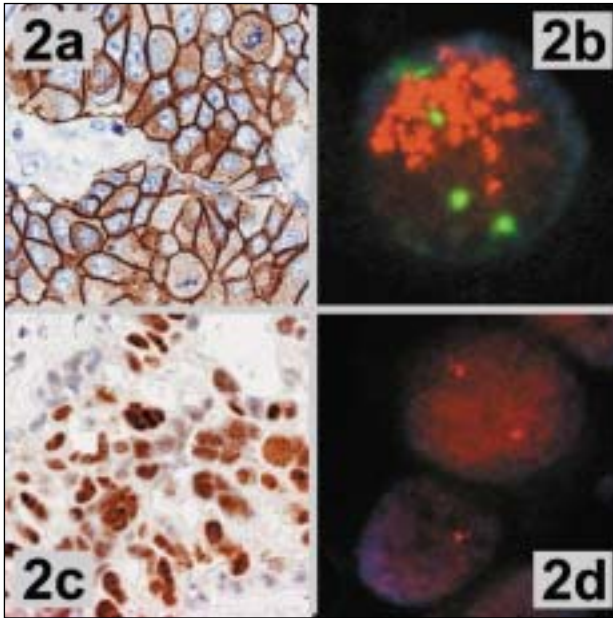
**Obr. 2. Kombinace diagnostických metod u invazivních duktálních karcinomů mléčné žlázy, příklady morfologického vyšetření s navazujícím imunohistochemickým průkazem proteinů a vyšetření metodou I-FISH s lokus specifickými sondami**

**2a** – imunohistochemický průkaz overexpresce proteinu ERBB-2 v histologickém řezu; intenzita reakce je hodnocená 3+ (hnědá membránová pozitivita, HercepTest, DakoCytomation);

**2b** – silná amplifikace genu ERBB2 (červené signály) a zvýšený počet chromosomu 17 (zelené signály) v jádře nádorové buňky v otiskovém preparátu, I-FISH; výsledek overexpresce proteinu (2a) a amplifikace genu (2b) dobře koreluje a pacientka je z tohoto pohledu indikována k terapii Herceptinem;

**2c** – imunohistochemický průkaz proteinu TP53 v histologickém řezu (hnědá jaderná pozitivita, peroxidáza / diaminobenzidin); akumulace proteinu s možností jeho imunohistochemické detekce je projevem patologickým, příčiny jsou však různorodé;

**2d** – průkaz počtu kopií genu TP53 v otiskovém preparátu (červené signály, I-FISH), příklad ztráty heterozygosity s jedním signálem v oblasti genu TP53 v jedné buňce, ve druhé buňce I-FISH ukazuje obě alely genu TP53; tato metoda je pouze orientační, pro detailní analýzu je nutná sekvenace genu TP53.



nými monoklonálními protilátkami je toho příkladem již dnes (výše zmíněný karcinom mléčné žlázy), gastrointestinální stromální nádory - imatinib mesylate (Glivec, Novartis, European, Ltd.), lymfomy B řady – rituximab (Rituxan, Genentech, Inc.). V klinických testech se objevují další preparáty. Z patologie se v tomto ohledu stává obor nejen *diagnostický*, ale také *terapeuticko-indikační*. A to je podstatná změna odehrávající se v posledním desetiletí. Nebude-li patolog schopen indikační podmínky pro leckdy velmi nákladnou terapii stanovit, převezme problematiku ten obor, či ta skupina specialistů, který/ktará si tyto podmínky připraví. Pokud taková odborníci pracují izolovaně, nemají řádnou podporu morfologické diagnostiky a neznají neobyčejnou pestrost patologického spektra nálezů ve vyšetřované tkáni. Při takovém postupu mohou při specializovaných vyšetřeních unikat nejen morfologické podrobnosti, ale i základní informace o jakou tkáň či o jaký typ chorobného děje jde. Zde si dovoluji jen krátce poznamenat do vlastních řad, že cesta extenzivního vyšetřování v rámci oboru patologie za daného počtu erudovaných patologů vedla ke stagnaci vývoje směrem do hloubky a kvality a patologie ztrácí krok i tam, kde má tradičně v diagnostice nezastupitelnou úlohu (zřetelné se to projevuje právě v diagnostice onkologických onemocnění).

Metodou, která spojuje výhody histopatologického vyšetření s pohledem do buněk na úrovni DNA i RNA je *in situ hybridizace*, chromogenní (CISH) nebo fluorescenční (FISH), využívající různě značené sondy (obr. 2b, d). Výhodou *in situ* hybridizace proti PCR je možnost detekce velkých úseků

nukleových kyselin (sondy pokrývají stovky kilobází) a možnost vizualizace přímo ve tkáni bez homogenizace (nutné při izolacích DNA a RNA). V oboru patologie je metoda FISH vhodná pro DNA diagnostiku na jádrech v interfázi (tzv. I-FISH). Tento přístup, na rozdíl od cytogenetického vyšetření, umožní vyšetřovat nejen jednotlivé buňky, ale také histologické řezy. Odpadá nutnost kultivace buněk a především je možné buňky studovat v kontextu se strukturálním uspořádáním tkáně – tak lze přesně identifikovat jednotlivé typy buněk. Navíc lze použít řezy ze tkání fixovaných formolem a zalitých do parafinových bločků, což umožňuje studium retrospektivní nebo takové, kde není možnost získat čerstvé buňky / čerstvou tkáň. Výhodou *in situ* hybridizace je to, že i v případě normálního nálezu, tedy absence hledané změny (např. translokace) lze případ spolehlivě diagnosticky zhodnotit, protože signály jsou přítomny, ale v normálním uspořádání. Při PCR vyšetření absence očekávaného produktu může znamenat nepřítomnost specifické genové změny nebo také variantní změnu nezachycenou použitými primery a v neposlední řadě také neproběhlou reakci (při použití pozitivních a negativních kontrol v každé PCR a při amplifikaci kontrolního genu lze však i při

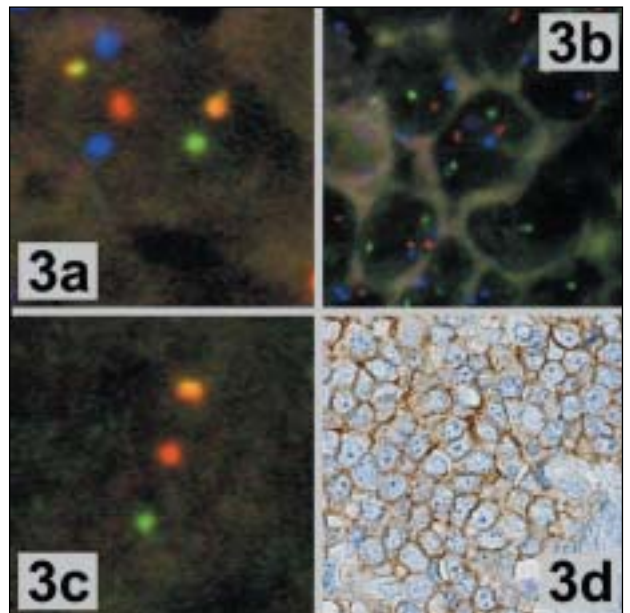
**Obr. 3. Příklady detekce chromosomální translokace t(8;14) metodou I-FISH (Burkittův lymfom; absence translokace u velkobuněčného difusního B lymfomu) a chromosomálního zlomu (u Ewingova sarkomu / periferního neuroepiteliomu, ES/PNET a diagnostický význam imunohistochemického vyšetření)**

**3a** – Burkittův lymfom: průkaz t(8;14)(q24;q32) a počtu kopií chromosomu 8 v jádře nádorové buňky (histologický řez) metodou I-FISH (dva fúzní červeno-zluto-zelené signály z translokovaných oblastí, jeden signál zelený – intaktní oblast alelického lokusu 14q32 a jeden signál červený – intaktní oblast alelického lokusu 8q24, dva signály modré – centromery chromosomu 8);

**3b** – jádra nádorových buněk bez přítomnosti t(8;14)(q24;q32) - dvě intaktní oblasti 8q24 a 14q32, dva signály pro centromery chromosomu 8 u difusního velkobuněčného B lymfomu, nádor se morfologicky podobal Burkittově lymfomu (u případu jsme neprokázali ani variantní translokace t(2;8) a t(8;22)); vyšetření má význam pro další postup v terapii;

**3c** – ES/PNET: průkaz chromosomálního zlomu v oblasti genu EWS na 22q12 metodou I-FISH v jádře nádorové buňky (histologický řez, oddálení zeleného a červeného signálu svědčí pro chromosomální zlom v lokusu EWS genu); vyšetření využívá princip stálého zlomu genu EWS - jde tedy o screening zlomu, pro přesné vymezení jednoho z možných translokačních partnerů je třeba postupovat pomocí PCR; vyšetření napomáhá v diferenciální diagnostice nediferencovaných kulatobuněčných nádorů;

**3d** – imunohistochemický průkaz exprese molekuly CD99 charakteristické pro skupinu nádorů typu ES/PNET (hnědá membránová pozitivita, peroxidáza / diaminobenzidin); vyšetření je relativně specifické a při dobré korelaci s morfologickým obrazem lze diagnosu stanovit spolehlivě; výhodná je ovšem kombinace s metodou I-FISH a následně PCR.



nepřítomnosti produktů PCR vyloučit laboratorní chybu a zvýšit procento jistoty, že hledaná změna není ve vyšetřeném materiálu skutečně přítomna). Pomocí *in situ* hybridizace na jádrech v interázii je možné zjišťovat počty chromosomů (centromerické sondy), specifických genových úseků (např. lokusy s onkogeny – stanovit jejich počet, zjišťovat amplifikace, případně i některé delece, obr. 2b,d). I-FISH je vhodná také k detekci chromosomálních translokací (např. u lymfomu z buněk pláště – obr. 1d, nebo u Burkittova lymfomu – obr. 3a). S výhodou využíváme posouzení chromosomálních zlomů. Je vhodné pro screening translokací základního lokusu s příslušným genem, u kterého existuje více partnerských genů – např. gen EWS na 22q12 má nejméně 8 známých translokací u řady nádorů měkkých tkání a kostí – obr. 3c, tabulka 1. Na úrovni mRNA lze pomocí FISH prokazovat např. klonalitu lymfoidních populací průkazem mRNA pro lehké řetězce imunoglobulinů; *in situ* hybridizace se běžně využívá v diagnostice virových infekcí (EBV, HPV a dalších). Je však nutné zdůraznit, že vyšetření metodou I-FISH je výhodné a žádoucí kombinovat s vyšetřením cytogenetickým, a to vždy, kdy je to možné. Cytogenetické vyšetření považujeme za základní, informující o chromosomálních změnách v mnoha aspektech, zatímco I-FISH je zaměřena na konkrétní předpokládané změny, které indikuje fundovaná histopatologická diagnostika.

Pod pojmem **molekulární diagnostika** se běžně rozumí diagnostika na úrovni nukleových kyselin (i když diagnostika proteinová je bezesporu také součástí molekulární diagnostiky). Na našem pracovišti byla založena Laboratoř molekulární patologie (LaMPa) v roce 1994 (o její praktické uvedení do života se zasloužili spolupracovníci, dr. J. Soukup a Mgr. R. Dahbiová). V té době jsme rozvinuli tzv. diferenciální PCR pro detekci amplifikace genu MYCN (2q24.1) u dětí s neuroblastomem (4). To mělo zásadní význam pro prognosu i terapii onemocnění a výsledky přispěly k indikaci léčby transplantací kmenových hemopoetických buněk. Rozvoj diagnostiky si postupně vyžádal rozšíření laboratoře, změny v týmu i ve vybavenosti pracoviště.

K praktickému provozování molekulární diagnostiky na úrovni **DNA (PCR) a RNA (RT-PCR, reverzně transkriptázová PCR)** je třeba vybavení laboratoře základními přístroji (cyklery, elektroforézy, centrifugy, laminární boxy, hlubokomrazicí boxy, detekční zařízení pro snímání gelů). S tímto vybavením lze začít diagnostiku např. specifických translokací u různých skupin nádorů, zejména lymfomů a nádorů měkkých tkání. Nadstavbou je pak sekvenátor nezbytný pro přesnou analýzu sekvencí bází nukleotidů, viz dále.

V současné době využíváme molekulárních metod k doplnění histopatologické diagnostiky u nádorů měkkých tkání – u **synoviálních sarkomů** – detekce t(X;18) s fúzí genů SYT (SSXT) a SSX1 nebo SSX2 (případně dalších vzácnějších variant) (obr. 4a,b) a u **alveolárních rhabdomyosarkomů** – t(2;13) s geny PAX3/FKHR a t(1;13) s geny PAX7/FKHR (obr. 4c,d). Vymezení typu translokace u alveolárních rhabdomyosarkomů má také prognostický význam (5). U skupiny *Ewingova sarkomu / periferní neuroepiteliom (ES/PNET)* postačuje pro rutinní bioptickou diagnostiku histologický obraz a imunohistochemický průkaz molekuly CD99, případně doplněný o metodu I-FISH s průkazem zlomu genu EWS na 22q12 (obr. 3c,d); partnera genu EWS lze přesně identifikovat jen molekulární analýzou, tedy průkazem specifické fúze genů, tedy genu EWS nejčastěji s genem FLI1 při translokaci t(11;22) (6). Mnohé další jednotky jsou v našem bioptickém materiálu vzácnější, avšak z praktického hlediska není obtížné do algoritmu diagnostiky začlenit PCR/RT-PCR detekci specifických genových přestaveb, pokud je známa sekvence příslušných fúzujících genů. Takovým příkladem je u dětí **kongenitální (infantilní) fibrosarkom** s translokací t(12;15) se vznikem fúzního genu ETV6 a NTRK3 a u dospělých například tzv. **sarkom měkkých tkání ze světlých buněk** (maligní melanom měkkých tkání) s translokací t(12;22) a vznikem fúzního genu ATF1

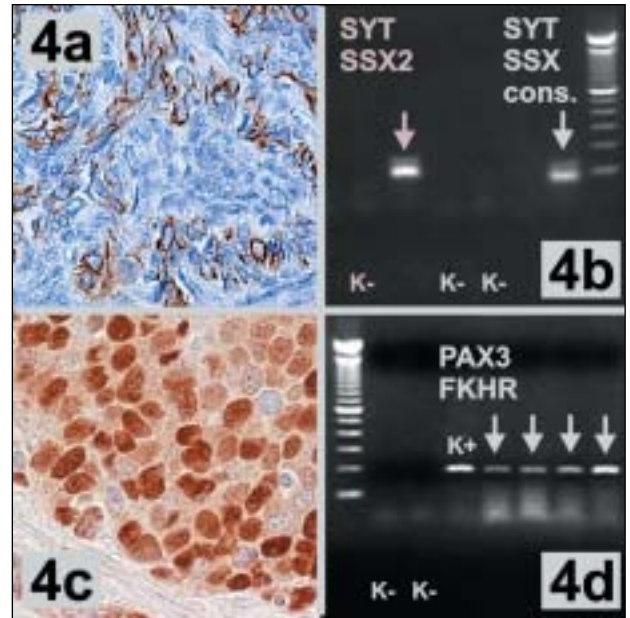
**Obr. 4. Kombinace imunohistochemického vyšetření a vyšetření molekulárního u synoviálního sarkomu (a,b) a alveolárního rhabdomyosarkomu (c,d)**

**4a** – imunohistochemický průkaz exprese cytokeratinů (hnědá cytoplasmatická pozitivita, peroxidáza / diaminobenzidin), náleží zpravidla přítomný u tzv. bifázických forem sarkomu, méně častý u monofázických forem, jehož příklad je na vyobrazení; ne vždy je však vyšetření cytokeratinů pozitivní, pak záleží na zkušenosti patologa, ale s výhodou, zejména u monofázických forem, můžeme použít PCR;

**4b** – RT-PCR průkaz fúze SYT/SSX2 pomocí konsensus a specifických primerů u synoviálního sarkomu;

**4c** – imunohistochemický průkaz exprese myogeninu – regulačního jaderného faktoru charakteristického pro rhabdomyoblasty u různých sarkomů, nejčastěji u rhabdomyosarkomů (RMS), v tomto případě jde o alveolární RMS (hnědá jaderná pozitivita, peroxidáza / diaminobenzidin); diagnosa RMS pomocí imunohistochemie je spolehlivá, je však vhodné nález u alveolárních RMS (nebo při podezření na tento typ RMS) doplňovat pomocí PCR;

**4d** – RT-PCR průkaz fúze PAX3/FKHR u čtyřech nemocných s alveolárním rhabdomyosarkomem; vyšetření je vhodné pro základní diagnostiku, pro sledování minimální residuální nemoci, případně pro ověření čistoty autologního transplantátu hemopoetických kmenových buněk.



a EWS. Obdobná situace je u **myxoidního liposarkomu** s t(12;16) s fúzí genů CHOP a FUS, případně fúze CHOP a EWS při t(12;22). Ve všech případech je však třeba usilovat o získání čerstvého, tedy nefixovaného operačního materiálu, což závisí na spolupráci s chirurgickými a ortopedickými pracovišti. Přehled nejčastějších nádorově příznačných chromosomálních translokací u mesenchymálních nádorů měkkých tkání a kostí uvádí tabulka 1.

U maligních lymfomů je v praktické diagnostice naší laboratoře zavedena detekce klonospecifických přestaveb imunoreceptorových genů (IGH, IGK, TCR) a translokací: t(14;18) u **folikulárních a některých velkobuněčných lymfomů** (včetně kvantifikace produktu), t(11;14) u **lymfomu z buněk pláště**, u tzv. **velkobuněčného anaplastického lymfomu** translokace zahrnující gen ALK a jeho variantní partnery (nejčastěji gen NPM) a translokací t(11;18)(q21;q21) u **MALT lymfomů** (7-11). U všech těchto onemocnění je vhodné provádět kromě diagnostiky primárního nádoru také vyšetření infiltrace kostní dřevě a to jak vstupní, tak kontrolní. Každé molekulární vyšetření je bezvýhradně nutné konfrontovat s vyšetřením cytologickým nebo histologickým. Například translokace t(8;14) se typicky vyskytuje u Burkittova lymfomu (obr. 3a), ale může se prokázat u některých velkobuněčných lymfomů B řady, T lymfoblastického lymfomu a u mnohotného myelomu. Samotné molekulární nebo cytogenetické vyšetření by tak mohlo vést ke zcestné diagnóze.



**Tabulka 1.** Přehled nejvýznamnějších specifických chromosomálních translokací se vznikem fúzních genů u nádorů měkkých tkání a kostí. Detekce translokací je významná jako podpora morfologické diagnostiky a v některých případech je vhodná také ke sledování minimální reziduální nemoci.

Typ nádoru	Translokace	Fúzní geny
alveolární rhabdomyosarkom	t(2;13)(q35;q14) t(1;13)(p36;q14)	PAX3-FKHR PAX7-FKHR
alveolární sarkom měkkých tkání	t(X;17)(p11.2;q25)	ASPL-TFE3
světlobuněčný sarkom (maligní melanom měkkých tkání)	t(12;22)(q13;q12)	ATF1-EWS
kongenitální fibrosarkom a mesoblastický nefrom	t(12;15)(p13;q25)	ETV6-NTRK3
dermatofibrosarcoma protuberans	t(17;22)(q22;q13)	COL1A1-PDGFB
desmoplastický kulatobuněčný nádor	t(11;22)(p13;q12)	WT1-EWS
endometriální stromální sarkom	t(7;17)(p15;q21)	JAZF1-JJAZ1
Ewingův sarkom a periferní neuroepiteliom	t(11;22)(q24;q12) t(21;22)(q22;q12) t(7;22)(p22;q12) t(17;22)(q12;q12) t(2;22)(q33;q12)	EWS-FLI1 EWS-ERG EWS-ETV1 EWS-EIAF FEV-EWS
zánětlivý myofibroblastický nádor	t(2;19)(p23;p13.1) t(1;2)(q22-23;p23)	ALK-TPM4 TPM3-ALK
myxoidní chondrosarkom, extraskeletální	t(9;22)(q22;q12) t(9;17)(q22;q11.) t(9;15)(q22;q21)	EWS-CHN(TEC) RBP56-CHN(TEC) TEC-TCF12
myxoidní liposarkom	t(12;16)(q13;p11) t(12;22)(q13;q12)	TLS(FUS)-CHOP EWS-CHOP
synoviální sarkom	t(X;18)(p11;q11)	SYT-SSX1 SYT-SSX2

Příkladem v praktické aplikaci molekulární diagnostiky je mnoho, přesahují rámec informativního přehledu. Složení mozaiky výsledků jednotlivých vyšetření (histologického, imunofenotypizačního, hybridizačního a tzv. molekulárního) je tedy právě tím, kam by mělo vyšetření v oboru patologie směřovat. K získání podrobnější představy o klonospecifických představách je třeba produkty PCR dále analyzovat - **sekvenovat**. Zjištěné specifické sekvence dané IGH/TCR přestavby pak můžeme využít ke konstrukci primerů vhodných pro detekci minimální reziduální nemoci v kostní dřeni postavené na míru specifické pozice přestavby segmentů imunoreceptorových genů konkrétního pacienta.

**Sekvenační analýza** je samostatnou disciplínou molekulární diagnostiky, která umožňuje identifikovat změny genomu na úrovni nukleotidů – detekce mutací, běžná např. v oblasti genu TP53 (viz např. *data báze mutací na serveru 2. LF UK, Sedláček Z., Trková M.: www.lf2.cuni.cz/projects/germline\_mut\_p53.htm.*) (12), v oblasti tzv. mutátorových genů (geny kódující proteiny sloužící k reparaci DNA) a v řadě dalších oblastí diagnostiky. Specializovanou problematiku velmi dobře podchycenou především genetiky představují *dědičné predispozice* ke vzniku nádorových onemocnění a vyšetřování zárodečných mutací genů zodpovědných za rozvoj těchto chorob – např. genů APC (13), BRCA1 a BRCA2 u žen s karcinomy mléčné žlázy a ovarií (14), u nemocných s medulárními karcinomy štítné žlázy (15) nebo u rodin se syndromem Lee-Fraumeni (16, 17), či tzv. hereditární nepolyposní kolorektální karcinom - HNPCC (dr. Křepelová, Ústav biologie a lékařské genetiky UK 2. LF a FN v Motole). Možnosti jsou prakticky nevyčerpatelné. Sekvenovat produkty PCR reakcí je také vhodné při diagnostice translokací k ověření specifity detegovaného produktu.

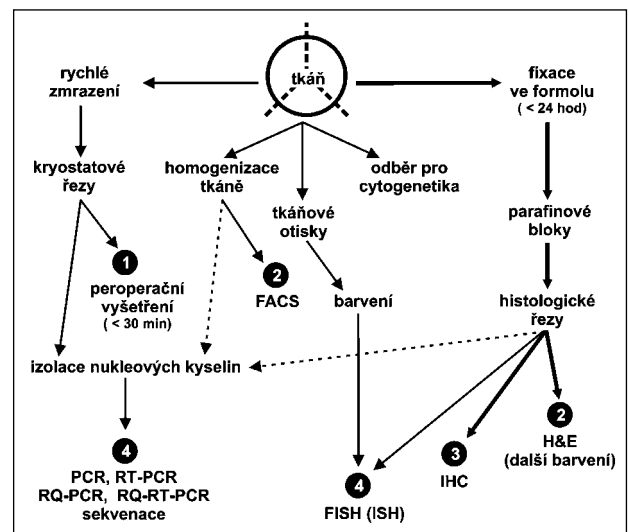
Přednosti PCR a RT-PCR diagnostiky jsou nesporné. Reakce umožní vyšetřit DNA/RNA z obrovského množství buněk. Při výběru nereprezentativního vzorku tkáně však může být v některých případech majoritní příměs buněk, které nejsou předmětem vlastní diagnostiky, a které mohou ovlivnit výsledek reakce - například tzv. smear u převažující polyklonální lymfoidní

populace překrývající specifický pruh minoritně zastoupené nádorové populace monoklonálně přestavěného imunoreceptorového genu, který je diagnostický pro lymfom. Výhodou PCR je vysoká citlivost v identifikaci specifické změny a tím daného typu buňky, která předčí všechny dosud užívané diagnostické přístupy – morfologický a imunofenotypizační (imunohistochemie a průtoková cytometrie). Vysokou citlivost PCR metod běžně využíváme pro diagnostiku nejen primárních patologických procesů (např. lymfomů nebo některých nádorů měkkých tkání), ale také pro diagnostiku procesů diseminovaných do kostní dřeni před, ale zejména také po terapii (detekce tzv. minimální reziduální nemoci) (6, 10).

RT-PCR využívající mRNA identifikuje změny na úrovni transkriptu genu. Aplikuje se nejen tam, kde jsou úseky exonů střídány introny a celá oblast je příliš dlouhá pro DNA PCR diagnostiku, ale také tam, kde je zapotřebí identifikovat produkt transkripce a zjistit, zda je změna v DNA přepisována do RNA. Kvantitativní stanovení transkriptu, např. pomocí LightCycleru (Roche), umožní zjištění účinnosti transkripce a může v mnohých ohledech přispívat k diagnostice (3). **Kvantifikace** specifických úseků nukleových kyselin se stává pro vyšetření mnoha nemocí zásadní. Využívá se metod kvantifikace v reálném čase, tedy kontinuální sledování nárůstu produktu reakce během každého PCR cyklu (**RQ-PCR** a **RQ-RT-PCR**, „real-time quantification“). V některých aplikacích není totiž iden-

tifikace specifické genové změny ve smyslu přítomna / nepřítomna, tak, jak ji stanoví kvalitativní („end-point“) PCR, dostatečná (např. detekce lymfomových buněk v kostní dřeni). Je nutné posoudit, jaké množství specifického produktu je přítomno, tj. sledujeme dynamiku onemocnění a v průběhu času tedy můžeme srovnávat vývoj nemoci a účinnost terapie. Tento přístup je běžný u onemocnění se specifickými geno-

**Schéma 1.** Ošetření nativního operačního materiálu s odběry pro standardní histopatologická a specializovaná vyšetření. Čísla na černém pozadí určují vyšetření v časových souvislostech a také v logickém sledu podle indikační návaznosti. V odběrech pro extrakci nukleových kyselin jsou vhodnější řezy ze zmrazené tkáně (plná čára) před izolací z homogenátu tkáně nebo z řezů získaných z parafinových bloků po fixaci ve formolu (přerušovaná čára).  
FACS – Fluorescence Activated Cell Sorter (průtoková cytometrie); H&E – barvení Hematoxylinem a Eosinem; IHC – Imunohistochemické vyšetření; FISH – Fluorescenční In Situ Hybridizace; ISH – In Situ Hybridizace; RQ-RT-PCR – Real time Quantification-Reverse Transcription PCR



vými přestavbami (např. při translokaci t(14;18) u folikulárních lymfomů) nebo u nemocí se specifickou expresí genů pro dané onemocnění (klonospecifita imunoreceptorových genů u lymfomů, exprese genu kódujícího tyrosin hydroxylázu u neuroblastomů).

Možnosti aplikace molekulární diagnostiky i dalších specializovaných vyšetření komplikují tradiční návyky „chirurgického“ přístupu k ošetření excidovaného nebo resekovaného nádoru – fixace ve formolu. Tento postup se stává opselentní a v dnešní době jej u plánovaných výkonů považujeme za chybu. Je třeba své spolupracovníky z chirurgických oborů vést k širšímu povědomí o možnostech specializované diagnostiky a o výhodách, které přinášejí pro nemocné. Algoritmus vyšetřovacího postupu v našich laboratořích uvádíme ve schématu 1. V případě nouze, kde není možnost hlubokého zmrazení vzorku k následné izolaci nukleových kyselin, doporučujeme tkáň rozdělit a reprezentativní část fixovat v etanolu. Etanol sice není vhodný jako základní fixativum pro histopatologické a imunohistochemické vyšetření, ale na rozdíl od formolu neničí DNA ani mRNA (18).

V blízké budoucnosti lze očekávat rozšiřování spektra uvedených vyšetření. Nevýhody PCR z homogenátů tkání, které mají heterogenní složení, odstraní cílené odběry jednotlivých buněk nebo jejich skupin za pomoci laserové mikrodisekce (19). Přínosem bude nepochybně i využití tzv. sorterů při vyšetření průtokovou cytometrií. Do diagnostiky bude postupně včleňová-

no vyšetření komplexnějšího charakteru a to jak na horizontální úrovni (vyšetření exprese mnoha genů současně pomocí DNA mikročipů, mnoha RNA transkriptů pomocí RNA mikročipů nebo mikročipů zaměřených na zjištění úrovně exprese proteinů), tak na úrovni vertikální – současně stanovení exprese jednoho proteinu, jeho RNA a DNA. Specifické čipové karty s vyšetřením předem definovaného spektra genů deregulovaných u určité nosologické jednotky jsou v současné době zaváděny do diagnostiky u mnohých onemocnění (lymfomy, karcinomy a další) (20). Je jasné, že obor patologie, tak jak je v současnosti provozován, nemůže sám o sobě zabezpečit tato vyšetření. Nicméně by patolog měl stát vedle dalších specialistů (biologů, genetiků) a měl by prosazovat nové diagnostické trendy do praxe. Jen tak bude obor patologie životaschopný. Rudolf Virchow (1821 - 1902) byl průkopníkem patologie ve své době. Takových individualit bylo málo a týmová práce nebyla tak nutná jako dnes. R. Virchow a jeho četní žáci a následovníci používali k diagnostice tehdy moderního přístupu – mikroskopie a histologických technik. I patolog 21. století se musí orientovat na nové laboratorní přístupy a využívat možnosti, které nabízejí. Vidění nemoci jen prizmatem histologického skla se stává věcí minulosti.

**Práce na dílčích projektech je podpořena Výzkumnými záměry MZ ČR a FN v Motole 000 000 64203/6073 a MŠMT ČR 1112 0000 5**

#### Literatura

1. Mandáková, P., Kodet, R., Campr, V.: Korelace výsledků průtokové cytometrie a morfologických nálezů v diagnostice maligních lymfomů z B buněk. *Čas. Lék. čes.*, 142, 2003, 651-655.
2. Mrhalová, M., Kodet, R., Strnad, P.: Korelace exprese c-erbB-2 proteinu (detekce metodou FISH) s membránovou expresí erbB-2 proteinu (detekce metodou IHC) u pacientek s karcinomy mléčné žlázy. *Čas. Lék. čes.*, 140, 2001, 553-559.
3. Mrhalová, M., Kodet, R., Kalinová, M., Hilska, I.: Relative quantification of ERBB2 mRNA in invasive duct carcinoma of the breast: correlation with ERBB-2 protein expression and ERBB2 gene copy number. *Pathol. Res. Pract.*, 199, 2003, 453-461.
4. Dahbiová, R., Kodet, R., Soukup, J., Kavan, P., Šmelhaus, V., Koutecký, J.: Amplifikace N-myc onkogenu u nádorů sympatického nervového systému: Předběžná studie s metodickým aspektem a klinickopatologickou korelací. *Čs. patol.*, 33, 1997, 83-88.
5. Cordon-Cardo, C.: Applications of molecular diagnostics: solid tumor genetics can determine clinical treatment protocols. *Mod. Pathol.*, 14, 2001, 254-257.
6. Sumerauer, D., Vicha, A., Kucerova, H., Kodet, R., Houskova, J., Bedrnicek, J., Eckschlager, T.: Detection of minimal bone marrow infiltration in patients with localized and metastatic Ewing sarcoma using RT-PCR. *Folia Biol (Praha)*, 47, 2001, 206-210.
7. Soukup, J., Kodet, R., Dahbiová, R., Trka, J., Zuna, J.: Detekce monoklonality u dětských lymfomů polymerázovou řetězovou reakcí. *Čs. patol.*, 34, 1998, 131-135.
8. Kodet, R., Mrhalová, M., Krsková, L., Soukup, J., Campr, V., Neskudla, T., Szepe, P., Plank, L.: Mantle cell lymphoma: improved diagnostics using a combined approach of immunohistochemistry and identification of t(11;14)(q13;q32) by polymerase chain reaction and fluorescence in situ hybridization. *Virchows Arch.*, 442, 2003, 538-547.
9. Kodet, R., Mrhalová, M., Krsková, L., Stejskalová, E.: Anaplastický velkobuněčný lymfom: přehled problematiky. *Čs. patol.*, 39, 2003, 102-114.
10. Mrhalová, M., Krsková, L., Kalinová, M., Soukup, J., Kodet, R.: Folikulární lymfomy: molekulární diagnostika t(14;18)(q32;q21) - fluorescenční in situ hybridizace, kvalitativní a kvantitativní PCR. *Čs. patol.*, 39, 2003, 130-137.
11. Soukup, J., Krsková, L., Campr, V.: Nové pohledy na problematiku MALT lymfomu žaludku. *Čs. patol.*, 39, 2003, 120-125.
12. Sedlacek, Z., Kodet, R., Poustka, A., Goetz, P.: A database of germline p53 mutations in cancer-prone families. *Nucleic Acids Res.*, 26, 1998, 214-215.
13. Kohoutova, M., Stekrova, J., Jirasek, V., Kapras, J.: APC germline mutations identified in Czech patients with familial adenomatous polyposis. *Hum. Mutat.*, 19, 2002, 460-461.
14. Machackova, E., Damborsky, J., Valik, D., Foretova, L.: Novel germline BRCA1 and BRCA2 mutations in breast and breast/ovarian cancer families from the Czech Republic. *Hum. Mutat.*, 18, 2001, 545.
15. Jindrichova, S., Kodet, R., Krskova, L., Vlcek, P., Bendlova, B.: The newly detected mutations in the RET proto-oncogene in exon 16 as a cause of sporadic medullary thyroid carcinoma. *J. Mol. Med.*, 81, 2003, 819-823.
16. Sedlacek, Z., Kodet, R., Seemanova, E., Vodvarka, P., Wilgenbus, P., Mares, J., Poustka, A., Goetz, P.: Two Li-Fraumeni syndrome families with novel germline p53 mutations: loss of the wild-type p53 allele in only 50% of tumours. *Br. J. Cancer*, 77, 1998, 1034-1039.
17. Trkova, M., Foretova, L., Kodet, R., Hedvicakova, P., Sedlacek, Z.: A Li-Fraumeni syndrome family with retained heterozygosity for a germline TP53 mutation in two tumors. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 145, 2003, 60-64.
18. Soukup, J., Krskova, L., Hilska, I., Kodet, R.: Ethanol fixation of lymphoma samples as an alternative approach for preservation of the nucleic acids. *Neoplasia*, 50, 2003, 300-304.
19. Orba, Y., Tanaka, S., Nishihara, H., Kawamura, N., Itoh, T., Shimizu, M., Sawa, H., Nagashima, K.: Application of laser capture microdissection to cytologic specimens for the detection of immunoglobulin heavy chain gene rearrangement in patients with malignant lymphoma. *Cancer*, 99, 2003, 198-204.
20. Ciro, M., Bracken, A. P., Helin, K.: Profiling cancer. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 15, 2003, 213-220.



## SOUČASNÉ MOŽNOSTI GENOVÉ TERAPIE KARCINOMU PROSTATY

### CURRENT POSSIBILITIES OF GENE THERAPY OF PROSTATE CANCER

M. ZÁLESKÝ, M. LUKEŠ, R. ZACHOVAL, J. HERÁČEK, J. KUNCOVÁ, M. URBAN

UROLOGICKÁ KLINIKA 3. LF UK A FAKULTNÍ NEMOCNICE KRÁLOVSKÉ VINOHRADY, PRAHA

**Souhrn:** Karcinom prostaty je příčinou smrti u 50 % pacientů s touto diagnózou. Současné možnosti léčby lokálně pokročilého a metastatického karcinomu prostaty jsou nedostatečné. Autoři rozebírají možnosti využití genové terapie karcinomu prostaty. Popsány jsou přístupy k přenosu DNA pomocí virových i nevirálních vektorů, možnosti využití korektivní genové terapie a cytoreduktivní genové terapie přenosem tzv. sebevražedných genů a rovněž možnosti imunoterapie v návaznosti na manipulaci s DNA.

**Klíčová slova:** Karcinom prostaty, genová terapie, imunoterapie

**Summary:** Prostate cancer is cause of death in 50 % of patients with this diagnosis. Contemporary treatment modalities of locally advanced and metastatic prostate cancer are insufficient. Authors discuss possibilities of prostate cancer gene therapy. They describe approaches to DNA transfer by viral and non-viral vectors, possibilities of corrective gene therapy, cytoreductive gene therapy by suicide genes and immunotherapy with DNA manipulation.

**Key words:** Prostate cancer, gene therapy, immunotherapy

Karcinom prostaty je nejčastějším nádorovým onemocněním u mužů ve Spojených státech a zemích západní Evropy. V České republice je druhým nejčastějším nádorovým onemocněním u mužů po karcinomu plic. Incidence karcinomu prostaty, však v posledních desetiletích významně stoupá a dá se předpokládat obdobný trend jako ve výše zmíněných zemích. Lokalizovaný karcinom prostaty je vyléčitelný až v 90 % případů, ať již radikální prostatektomií či radikální radioterapií. Léčba primárně metastatického karcinomu prostaty a relabujícího karcinomu prostaty po selhání loko-regionální terapie však již není léčbou kurativní, a tak téměř 50 % ze všech pacientů na toto onemocnění umírá.

Nedostatečnost léčebných účinků hormonální terapie a chemoterapie u těchto pacientů vede ke zkoumání dalších alternativních přístupů k léčbě tohoto závažného onemocnění. K těmto novým alternativám patří genová terapie, kterou definujeme jako léčbu využívající manipulaci s DNA, ať již v těle pacienta *in vivo* či mimo něj *ex vivo*.

Principy genové terapie můžeme rozdělit do dvou podskupin: korektivní přístup vedoucí k náhradě nefunkčního genu zodpovědného za maligní fenotyp nádorové buňky a cytoreduktivní přístup vedoucí k selektivní smrti nádorových buněk.

V současnosti již vedle základního výzkumu probíhá řada klinických studií, které jsou ve stadiu I a II. K úspěšné genové terapii je nutné určit vhodný gen, cestu aplikace, ať již celkovou či lokální, a zajistit, aby se gen exprimoval jen v maligních buňkách. Stejně důležitý je rovněž výběr vhodného nosiče, který zajistí bezpečný přenos DNA do cílových buněk.

#### Přenos DNA

K přenosu DNA do cílových buněk se využívají tzv. vektory. Ideální vektor je schopen zajistit přenos DNA do cílových buněk, aniž ovlivňuje ostatní buňky organismu, je netoxický pro pacienta i životní prostředí, není imunogenní, ani mutagení a lze ho snadno vyprodukovat ve vysokých koncentracích za nízkou cenu. V současné době neexistuje vektor, který by splňoval všechna výše uvedená kritéria. (1)

#### Nevirové vektory

Nejjednodušší metodou nevirálního přenosu genetické informace je podání DNA ve formě plazmidu. Po systémové aplikaci je však DNA degradována během 5 minut, a tak je zasažena jen malá část cílových buněk. Lepších výsledků je dosahováno s tzv. lipozomovými komplexy, v nichž je DNA plazmid obalen lipidy. Kationtové lipidové pouzdro lipozomového komplexu chrání DNA před degradací, dobře splyne s plazmatickou membránou buněk, a tak zlepšuje úspěšnost přenosu genetické informace do buněk. Výhodou tohoto postupu je také nízká imunogenita vektoru a bezpečnost přenosu, protože DNA plazmid nemá patogenní vlastnosti virů. Důsledkem aplikace lipozomových komplexů je delší biologický poločas vektoru a vyšší transfekční poměr (množství DNA obsažené ve vektorech, která se skutečně dostane do cílových buněk). Většina komplexů je přesto metabolizována v játrech, a proto se ani tato metoda příliš nehodí pro systémovou aplikaci. (2)

Jinou možností přenosu nevirálních vektorů je přenos tzv. antisense oligonukleotidů (ASO). ASO jsou chemicky modifikované části jednovláknové DNA, komplementární k některým z oblastí mRNA vytvořené podle DNA cílového genu. Tvorbou komplexů s mRNA ASO inhibují translaci genu, který chceme tímto způsobem ovlivnit. Úspěšnost užití ASO závisí na přesnosti hybridizace, protože pouze při přesné shodě ASO s cílovou sekvencí mRNA dochází k zablokování translace příslušné mRNA. Použití ASO bylo popsáno zejména v experimentech a klinických studiích s inhibicí translace některých onkogenů (Bcl-2, c-myc atd.) (3-5), ale i růstových faktorů a jejich receptorů (TGF-alfa, EGFR) (6) a také např. anti-apoptického genu clusterinu (7). Nevýhodou ASO podobně jako dalších nevirálních vektorů je jejich krátký biologický poločas, způsobený jejich štěpením endonukleázami.

#### Virové vektory

Největší úspěšnosti v přenosu genetického materiálu je v současnosti dosahováno virovými vektory (8). Pro přenos gene-

tické informace do cílových buněk se využívá několik druhů virů.

**Retroviry** jsou RNA-viry vybavené enzymem reverzní transkriptázou, který přepisuje virovou genetickou informaci z RNA do DNA. Přepsaná virová DNA je poté integrována do genomu hostitelské buňky, kde již trvale zůstává. Genetická informace přenesená retroviry, tak na rozdíl od přenosu DNA-viry, zůstává trvale přítomná v cílových buňkách. Integrace genetické informace do DNA hostitelské buňky má z hlediska genové terapie své výhody (možnost trvalé exprese genů přenesených retrovirem), ale i nevýhody (potenciální riziko virem indukované onkogeneze). Během integrace genetické informace vektoru totiž nelze vyloučit vznik mutací v genomu hostitelské buňky, i když podle všech doposud provedených experimentů je bezpečnost jejich užití vysoká.

Z teoretického hlediska se jedná o velmi slibnou metodu, ale náročnost na přípravu vektoru *in vitro* a špatný transfekční poměr vysvětluje, proč zůstává ve svých výsledcích za očekáváním. Nevýhodou retrovirů je také jejich velikost, která neumožňuje přenos genetické informace větší než 8 kb. (2, 5)

Další skupinou virových vektorů, které se testují i pro léčbu karcinomu prostaty, jsou **adenoviry** (zejména typ 2 a 5). Výhodou těchto DNA-virů je jejich vysoký transfekční poměr, jejich schopnost produkovat vysoké titry v tkáňové kultuře (snadná příprava), přímá lýza tumorové buňky způsobená replikací viru, nízké procento integrace virové DNA do genomu buněk a jejich velikost umožňující přenést informaci až 35 kb.

Relativní nevýhodou je jejich krátkodobý účinek (2-6 týdnů) a jejich vysoká imunogenicita. (2) Po celý život se běžně setkáváme s respiračními adenoviry, a tak imunitní systémem dokážeme rozpoznat jejich povrchové proteiny. Vytvořením imunitní paměti je usnadněno zneškodnění adenovirových vektorů před jejich proniknutím do cílových buněk.

Snížení imunogenicity a tím zvýšení transfekčního poměru je možné dosáhnout vytvořením tzv. „gutless“ adenovirů. Odstranění většiny DNA původního adenoviru způsobuje, že tento virus exprimuje na svém povrchu jen minimum původních proteinů a tím snižuje možnost svého rozeznání imunitním systémem pacienta. Tak je možné zajistit expresi přenesených genů po dobu 4-6 měsíců. (9, 10)

Vstup adenovirů do buněk je zprostředkován pomocí coxsackie-adenovirového receptoru (CAR). Úspěšnost přenosu DNA prostřednictvím adenovirového vektoru je přímo úměrná množství CAR na cílových maligních buňkách. Zvýšením exprese CAR dochází k zvýšení citlivosti k adenovirové infekci i k usnadnění přenosu adenovirovým vektorem. Okegawa a kol. (11) prokázali sníženou expresi CAR v buňkách linie karcinomu prostaty PC3. Stanovení exprese CAR by mohlo být užitečným markerem při výběru pacientů, kteří by mohli profitovat z genové terapie adenovirovým vektorem.

Virus může být rovněž upraven tak, že na jeho povrchu je exprimován nevirový protein (např. některý z integrinů), který usnadňuje jeho vstup do cílových buněk. Tímto způsobem by mohl být vstup přes CAR nahrazen vstupem viru jinou cestou. Zatím je tento přístup zkoumán u retrovirů (12).

Dalším zkoumaným virem je **adeno-asociovaný virus**. Tento virus nemá vlastní replikační vybavení a bez společného napadení buňky adenovirem je neinfekční. Jeho zvláštní vlastností je, že se inkorporuje do lidského genomu vždy na stejné specifické místo (krátké raménko 19. chromozomu). Tuto vlastnost se však dosud nepodařilo zachovat u adeno-asociovaných virů upravených pro genovou terapii.

Viry rodiny **pox virů** (zejména virus vakcinie) mají výhodu ve své velikosti, která dovoluje přenos téměř jakékoliv potřebné genetické informace. Jejich vlastní genom má velikost 186 kb. Tyto DNA-viry obsahují vlastní replikační i transkripční enzymy, a k jejich funkci není nutné působení v jádře hostitelských buněk. Tím se snižuje riziko inzerční mutagenese.

Mezi nevýhody patří vysoká imunogenicita pox virů a jejich dočasná exprese. (2)

## **Korektivní genová terapie**

V literatuře je popsáno mnoho genetických změn zodpovědných za různé fáze vzniku a progresu karcinomu prostaty. Vedle onkogenů je velmi důležitá ztráta tumor-supresorových genů. Jejich náhradou lze teoreticky dosáhnout přeměny nádorové buňky zpět v buňku normální nebo alespoň snížení maligního potenciálu nádorové buňky.

Mnoho badatelů se zabývá možností zvýšení apoptózy přenosem divoké formy genu p53 (wt p53). Protein p53 je zodpovědný za regulaci apoptózy, a proto je důležitým faktorem chránícím buněčný genom. Mutace či ztráta obou alel p53 se vyskytuje u 25-60 % hormonálně independentních karcinomů prostaty (1, 2, 13).

Ko a kol. (14) prokázali, že buňky linie hormonálně-independentního karcinomu prostaty, které byly *in vitro* infikované adenovirem nesoucím wt p53, po přenosu na myš nevytvářely tumor *in vivo*. Na základě tohoto nálezu bylo zahájeno mnoho preklinických i klinických studií. Eastham a kol. (15) prokázali na zvířecím modelu, že po místní aplikaci adenoviru nesoucího wt p53 došlo jak k potlačení růstu primárního tumoru, tak i ke snížení četnosti progresu do metastatického stadia. Přenos wt p53 adenovirovým vektorem (wt p53 Ad) je nyní ve fázi I a II klinických studií. Sweeney a Pisters (16) zkoumají výsledky intraprostatické aplikace wt p53 Ad jako neoadjuvantní léčby před radikální prostatektomií a radioterapií u lokálně pokročilého karcinomu a lokalizovaného karcinomu se špatnými prognostickými znaky.

V dalších klinických studiích je zkoumán efekt přenosu wt p53 adenovirovým vektorem v kombinaci s chemoterapeutiky paclitaxelem, cisplatinou, doxorubicinem, 5-fluorouracilem, methotrexatem a etoposidem. Na zvířecím modelu wt p53 Ad potencoval účinek chemoterapeutik (17, 18). Lze tedy předpokládat, že fáze III klinických zkoušek bude rovněž obsahovat větev kombinující wt p53 Ad s chemoterapií. Na zvířecím modelu je také ověřována možnost zvýšení účinku radioterapie prostřednictvím aplikace p53 Ad (19).

Jak *in vitro* tak *in vivo* je testován společný přenos genu p53 a p21 adenovirovým vektorem (20).

V dalších studiích je ověřován efekt přenosu i jiných genů než p53. Například Allay a kol. (21) publikovali slibné výsledky *in vitro* a *in vivo* ve zvířecím experimentu po aplikaci adenoviru nesoucí divokou formu pro-apoptického genu p16. Dalším genem, jehož přenos adenovirovým vektorem přinesl slibné výsledky je gen PML (progressivní multifokální encefalopatie). Injekce tohoto genu do karcinomu prostaty u myši snížila růst tumoru o 60% (22). Výborných výsledků ve stadiu I klinické studie bylo také dosaženo přenosem genu BRCA 1 retrovirovým vektorem (23). Podobně slibné výsledky byly získány *in vitro* i *in vivo* přenosem genu c-myc retrovirovým vektorem (5). V literatuře je popisován přenos i dalších genů např. bcl-2 či genu kódujícího růstový faktor TGF-beta (2).

## **Cytoreduktivní genová terapie**

Karcinom prostaty stejně jako ostatní nádory vykazuje rozmanitě vícečetné změny DNA. Tento fakt napovídá, že oprava jednoho genu nemusí k reparaci DNA stačit. Zdá se tedy, že mnohem efektivnějším přístupem než přeměna nádorových buněk v buňky nenádorové může být spíše cytoredukce prostřednictvím genové terapie.

Takovou cestou je využití tzv. **sebevražedných genů (suicide genes)** s následným podáním prekurzoru toxické látky (pro-drug) (8). Sebevražedné geny, které jsou přeneseny do genomu nádorových buněk, mohou produkovat protein s enzymatickou aktivitou transformující netoxický prekurzor v aktivní toxickou látku a to selektivně jen v buňkách tumoru. Tato toxická látka způsobí buněčnou smrt nejen v buňkách s exprimovanými sebevražednými geny, ale i v okolních buňkách. Tento

efekt nazývaný jako „bystander efekt“ je zodpovědný za zničení téměř celého tumoru při přenosu genu na pouhých 10 % buněk nádoru (24). Pro tento fenomén existuje několik vysvětlení: a) toxické metabolity částečně přecházejí přes nexy (gap junctions) buněčné membrány, b) poškozené buňky obsahující sebevražedné geny uvolňují toxické látky do okolního mikroprostředí, c) lokální uvolnění cytokinů v důsledku poškození napadených buněk vede ke zvýšení anti-tumorózní odpovědi imunitního systému, d) poškození endoteliálních buněk sebevražednými geny způsobuje ischemii tumoru (1).

V současné době jsou využívány dva druhy terapie přenosem sebevražedných genů s následným podáním prekursoru toxické látky, které jsou v různých stádiích laboratorního a klinického výzkumu (24).

Prvním druhem je přenos genu thymidinkinázy z viru herpes simplex (HSV-tk) s následným podáním gancycloviru (GCV). Thymidinkináza je fosforylační enzym, který fosforylací GCV přemění tento netoxický prekursor v toxickou látku. Ta již nedokáže přejít přes celulární membránu a je inkorporována do nově tvořené DNA. To vede k inhibici DNA polymerázy, k zastavení syntézy DNA a buněčné smrti.

Druhým typem terapie sebevražednými geny je přenos genu bakteriální cytozindeaminázy (CD) *Escherichia coli* s následným podáním 5-fluorocytosinu. CD dokáže přeměnit prekursor 5-fluorocytosin na toxický 5-fluorouracyl (1). V současnosti je však více využíván systém HSV-tk/GCV.

Prioritou cytoreduktivního přístupu je selektivita působení na nádorové buňky. K tomuto účelu se využívá tzv. **tkáňově specifických promotorů**. Promotor je krátká nukleotidová sekvence, která řídí transkripci genu tím, že zprostředkuje jeho vazbu na RNA polymerázu. Ta následně syntetizuje mRNA, podle které je na ribozómech vytvořen výsledný protein. Dosud jsou často používány nespecifické promotory, např. promotor cytomegaloviru či viru RSV (virus Rousova sarkomu), které mohou vést k expresi genu nejen v cílové tkáni tumoru, ale také v ostatních tkání. Tím však dochází k větším systémovým komplikacím. Vestavěním tkáňově specifického promotoru (např. PSA promotoru) do viru spolu s genem HSV-thymidinkinázy vede k expresi tohoto enzymu jen v buňkách produkujících PSA, protože jen tyto buňky mají nezbytnou výbavu a regulační nastavení umožňující expresi genu s PSA promotorem (25). Promotory genů prostatického specifického antigenu, prostatického specifického membránového antigenu (PSMA), hK-2 a promotory dalších specifických sekvencí pro prostatické buňky mohou být využity ke spuštění exprese sebevražedného genu selektivně v nádorové buňce.

Osteokalcinový promotor spolu s HSV-tk v adenovirovém vektoru využili Koenman a kol. (26) k léčbě androgen-independního metastatického karcinomu prostaty. Osteokalcin je nekolagenní kostní protein, který je rovněž produkován některými solidními tumory včetně karcinomu prostaty. Využití promotoru tohoto genu ve spojení se sebevražedným genem vede k selektivnímu poškození buněk tumoru prostaty.

Vzhledem k nízké úspěšnosti přenosu genových vektorů při systémovém podání v důsledku imunitní reakce příjemce a afinitě adenovirů k respiračnímu systému je v současnosti preferována přímá intratumorózní aplikace.

Přenos sebevražedných genů s následným podáním prekursoru toxické látky je využíván v několika klinických studiích v těchto indikacích: 1) lokální recurence po radioterapii, 2) neoadjuvantní aplikace před radikální prostatektomií u lokalizovaného karcinomu prostaty se špatnými prognostickými znaky a 3) kombinace genové terapie sebevražednými geny s radioterapií u lokalizovaného, lokálně pokročilého a metastatického karcinomu prostaty (24, 26, 27).

### Cytoreduktivní imunoterapie

Jednou z nejnádějnějších metod vyžívajících možností manipulace s DNA je vyvolání zvýšené odpovědi imunitního systému na antigeny nádorových buněk.

Vznik a růst tumorů je možný pouze v případě, že tumory dokážou uniknout kontrole imunitního systému. Základní myšlenka imunoterapie nádorů vychází ze skutečnosti, že tumory obsahují řadu různých specifických antigenů, které se mohou stát úspěšným terčem útoku imunitního systému.

V současnosti jsou v nádorové imunoterapii karcinomu prostaty využívány dva základní přístupy, tzv. ex-vivo přístup (buňky tumoru prostaty či imunitního systému jsou geneticky upravené mimo tělo pacienta a ve formě připravených vakcín aplikovány zpět pacientovi) a in-vivo přístup (genetické změny vznikají v těle pacienta či experimentálního zvířete po aplikaci vektoru nesoucího gen pro cytokin, který zvyšuje imunitní odpověď).

### Ex-vivo přístup

Geny pro tvorbu cytokinů je možné přenést do tzv. tumor infiltrujících lymfocytů (TIL), získaných z tkáně tumoru prostaty po operaci či biopsii. TIL jsou izolovány z tkáně tumoru a po přenesení genu pro cytokin do TIL, který zvýší jejich přirozenou anti-tumorózní aktivitu, jsou aplikovány zpět pacientovi. Jinou možností je přenos genů pro cytokiny do nádorových buněk ex-vivo (přenos probíhá mimo tělo pacienta) s následným navrácením těchto buněk zpět do těla. K zajištění bezpečnosti jsou upravené nádorové buňky před jejich navrácením inaktivovány ozářením. Změněné nádorové buňky s produkcí cytokinu indukují imunitní reakci proti vlastním antigenům karcinomu prostaty. Nejčastěji je využíváno přenosu genu IL-2 (interleukin-2), INF-gama (interferon gama), TNF-alfa (tumor necrosis factor alfa), GM-CSF (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor) (2).

Autologní vakcínu připravenou z buněk nádoru prostaty získaných po chirurgickém výkonu použili ve své studii Simons a kol. (28). Do získaných buněk přenesli pomocí retrovirového vektoru gen pro GM-CSF. Po iradiaci buněk byla tato buněčná vakcína aplikována zpět pacientovi. Nežádoucí účinky byly omezeny jen na místo aplikace vakcíny (pruritus, edém a zrudnutí). Krátká doba sledování a malý počet pacientů neumožnily jednoznačnou interpretaci výsledků studie.

Naitoh a kol. (29) ex-vivo přenesli gen IL-2 do nádorových buněk získaných z prostatického karcinomu u potkanů a z buněčné linie karcinomu prostaty R3327-MatLyLu. Nádorové buňky produkující cytokiny aplikovali experimentálním zvířatům na místo vzdálené od primárního tumoru. Po jejich aplikaci došlo k vymizení primárního subkutánního tumoru a navození imunitní paměti na buňky karcinomu prostaty.

Další cestou je využití tzv. autologní celulární vakcíny antigen-prezentujících buněk (APC). Tyto vakcíny jsou připravovány stimulací mononukleárů získaných z periferní krve, které se následně diferencují v antigen-prezentující buňky. Antigen-prezentující buňky derivované z mononukleárů (MD-APC) jsou kultivovány za přítomnosti nádorových antigenů a stávají se z nich zralé APC, které po zpětné aplikaci do organismu předkládají tyto antigeny imunitnímu systému. (30) APC tedy předkládají nádorový antigen T-lymfocytům, které jej identifikují navázaný na hlavní histokompatibilní komplex (MHC). Intracelulární kaskádou biochemických reakcí dojde k aktivaci T-buněk a k jejich proliferaci. Aktivované T-lymfocyty jsou schopny lyzovat buňky, které obsahují antigen a MHC, v tomto případě tedy buňky tumoru.

**Dendritické buňky** jsou považovány za nejvíce potentní antigen-prezentující buňky imunitního systému, které dokážou stimulovat i tzv. naivní T-buňky. Tyto buňky tedy výtečně splňují požadavky na prezentaci nádorového antigenu imunitnímu systému organismu. Studie s vakcínou obsahující dendritické buňky nesoucí peptidy derivované z prostatického specifického membránového antigenu je ve fázi I a II klinického výzkumu. Po aplikaci autologní vakcíny dendritických buněk, které měly na svém povrchu peptidy derivované z PSMA (prostatický specifický membránový antigen), byla zaznamenána pozitivní odpověď u 58% pacientů (31, 32).

## In-vivo přístup

Cytokiny (IL-2, IL-4, IL-10, IL-12, INF, TNF) hrají důležitou roli v aktivaci a proliferaci T-lymfocytů a ovlivňují funkci APC. Antitumorózní aktivita IL-2 a interferonu byla prokázána např. u adenokarcinomu ledviny (33, 34).

Aktivita IL-2 u karcinomu prostaty byla prokázána v experimentu s metastatickým karcinomem prostaty přeneseným do femuru myši. Antitumorózní účinek byl pozorován jak po celkové tak lokální aplikaci (35, 36).

IL-2 je jedním z nejsilnějších anti-tumorózních cytokinů, který ovlivňuje imunitní reakci i když zvýšením exprese MHC antigenů a jednak ovlivněním CD4<sup>+</sup> a CD8<sup>+</sup> T-lymfocytů. IL-2 je bohužel velmi rychle degradován a jeho systémová aplikace je spojena se značnou toxicitou.

V klinických studiích je v současnosti zkoumán efekt aplikace vektoru nesoucího gen pro IL-2, který má zajistit protražované hladiny IL-2 v cílové tkáni a který má při lokální aplikaci minimální celkovou toxicitu. Belldegrun a kol. (37) publikovali výsledky fáze I klinické studie, zkoumající účinek intraprostatické aplikace lipozomových komplexů (nevirové

vektory) obsahujících gen IL-2. Autoři indikovali léčbu jako neoadjuvantní terapii před radikální prostatektomií a jako terapii pokročilého tumoru prostaty. Léčba byla pacienty velmi dobře tolerována a po aplikaci byla prokázána systémová imunitní odpověď organismu a dočasný pokles hladiny PSA. Ve skupině pacientů s progresí karcinomu po předchozí léčbě (radioterapie, hormonální terapie) došlo po aplikaci lipozomových komplexů s genem IL-2 k poklesu hladiny PSA u 60% pacientů a tento pokles trval v souhrnu 10 týdnů.

## Závěr

Genovou terapii doposud nelze považovat za standardní terapii karcinomu prostaty a její užití je omezeno jen na zvířecí experimenty a klinické studie. Z výsledků základního výzkumu je však zřejmý obrovský potenciál skrytý v možnostech ovlivnění genetické informace nádorových buněk genovou manipulací. Stále však chybí klinické studie ve fázi III, které by naznačovaly možnosti širšího využití tohoto přístupu. Genová terapie by však mohla být již relativně brzy využívána u neléčitelného metastatického stadia karcinomu prostaty.

## Literatura:

1. Shalev, M., Thompson, T. C., Kadmon, D., et al.: Gene therapy for prostate cancer. *Urology*, 57, 2001, s. 8-16.
2. Palapattu, G. S., Naitoh, J., Belldegrun, A. S.: Gene therapy for prostate cancer. *New perspectives on an old problem. Urol Clin North Am*, 26, 1999, s. 353-63.
3. Chi, K. N., Gleave, M. E., Klasa, R., et al.: A phase I dose-finding study of combined treatment with an antisense Bcl-2 oligonucleotide (Genasense) and mitoxantrone in patients with metastatic hormone-refractory prostate cancer. *Clin Cancer Res*, 7, 2001, s. 3920-7.
4. Tolcher, A. W.: Preliminary phase I results of G3139 (bcl-2 antisense oligonucleotide) therapy in combination with docetaxel in hormone-refractory prostate cancer. *Semin Oncol*, 28, 2001, s. 67-70.
5. Steiner, M. S., Anthony, C. T., Lu, Y., Holt, J. T.: Antisense c-myc retroviral vector suppresses established human prostate cancer. *Hum Gene Ther*, 9, 1998, s. 747-55.
6. Rubenstein, M., Glick, R., Lichter, T., et al.: Treatment of the T98G glioblastoma cell line with antisense oligonucleotides directed toward mRNA encoding transforming growth factor- $\alpha$  and the epidermal growth factor receptor. *Med Oncol*, 18, 2001, s. 121-30.
7. Gleave, M. E., Miyake, H., Zellweger, T., et al.: Use of antisense oligonucleotides targeting the antiapoptotic gene, clusterin/testosterone-repressed prostate message 2, to enhance androgen sensitivity and chemosensitivity in prostate cancer. *Urology*, 58, 2001, s. 39-49.
8. Hegarty, N. J., Fitzpatrick, J. M., Richie, J. P., et al.: Future prospects in prostate cancer. *Prostate*, 40, 1999, s. 261-8.
9. Hitt, M. A., Addison, C. L., Graham, F. L.: Human adenovirus vectors for gene transfer into mammalian cells. *Adv Pharmacol*, 40, 1997, s. 137-205.
10. Koeneman, K. S., Hsieh, J. T.: The prospect of gene therapy for prostate cancer: update on theory and status. *Curr Opin Urol*, 11, 2001, s. 489-94.
11. Okegawa, T., Li, Y., Pong, R. C., et al.: The dual impact of coxsackie and adenovirus receptor expression on human prostate cancer gene therapy. *Cancer Res*, 60, 2000, s. 5031-6.
12. Gordon, E. M., Chen, Z. H., Liu, L.: Systemic administration of matrix-targeted retroviral vector is efficacious for cancer gene therapy in mice. *Hum Gene Ther*, 12, 2001, s. 193-204.
13. Bookstein, R., MacGrogan, D., Hilsenbeck, S. G., et al.: p53 is mutated in a subset of advanced-stage prostate cancers. *Cancer Res*, 53, 1993, s. 3369-73.
14. Ko, S. C., Gotoh, A., Thalmann, G. N., et al.: Molecular therapy with recombinant p53 adenovirus in an androgen-independent, metastatic human prostate cancer model. *Hum Gene Ther*, 7, 1996, s. 1683-91.
15. Eastham, J. A., Grafton, W., Martin, C. M., Williams, B. J.: Suppression of primary tumor growth and the progression to metastasis with p53 adenovirus in human prostate cancer. *J Urol*, 164, 2000, s. 814-9.
16. Sweeney, P., Pisters, L. L.: Ad5CMVp53 gene therapy for locally advanced prostate cancer - where do we stand? *World J Urol*, 18, 2000, s. 121-4.
17. Nielsen, L. L., Lipari, P., Dell, J., et al.: Adenovirus-mediated p53 gene therapy and paclitaxel have synergistic efficacy in models of human head and neck, ovarian, prostate, and breast cancer. *Clin Cancer Res*, 4, 1998, s. 835-46.
18. Gurmani, M., Lipari, P., Dell, J., et al.: Adenovirus-mediated p53 gene therapy has greater efficacy when combined with chemotherapy against human head and neck, ovarian, prostate, and breast cancer. *Cancer Chemother Pharmacol*, 44, 1999, s. 143-51.
19. Cowen, D., Salem, N., Ashoori, F., et al.: Prostate cancer radiosensitization in vivo with adenovirus-mediated p53 gene therapy. *Clin Cancer Res*, 6, 2000, s. 4402-8.
20. Eastham, J. A., Hall, S. J., Sehgal, I., et al.: In vivo gene therapy with p53 or p21 adenovirus for prostate cancer. *Cancer Res*, 55, 1995, s. 5151.
21. Allay, J. A., Steiner, M. S., Zhang, Y., et al.: Adenovirus p16 gene therapy for prostate cancer. *World J Urol*, 18, 2000, s. 111-20.
22. He, D., Mu, Z. M., Le, X., et al.: Adenovirus-mediated expression of PML suppresses growth and tumorigenicity of prostate cancer cells. *Cancer Res*, 57, 1997, s. 1868.
23. Steiner, M. S., Lerener, J., Greenberg, M., et al.: Clinical phase I gene therapy trial using BRCA 1 retrovirus is safe (abstract). *J Urol*, 159, 1998, s. 132.
24. Shalev, M., Miles, B. J., Thompson, T. C., et al.: Suicide gene therapy for prostate cancer using a replication-deficient adenovirus containing the herpesvirus thymidine kinase gene. *World J Urol*, 18, 2000, s. 125-9.
25. Lu, Y., Steiner, M. S.: Transcriptionally regulated adenoviruses for prostate-specific gene therapy. *World J Urol*, 18, 2000, s. 93-101.
26. Koeneman, K. S., Kao, C., Ko, S. C., et al.: Osteocalcin-directed gene therapy for prostate-cancer bone metastasis. *World J Urol*, 18, 2000, s. 102-10.
27. Teh, B. S., Aguilar-Cordova, E., Kernen, K., et al.: Phase I/II trial evaluating combined radiotherapy and in situ gene therapy with or without hormonal therapy in the treatment of prostate cancer-A preliminary report. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 51, 2001, s. 605-13.
28. Simons, J. W., Mikhak, B., Chang, J. F., et al.: Induction of immunity to prostate cancer antigens: results of a clinical trial of vaccination with irradiated autologous prostate tumor cells engineered to secrete granulocyte-macrophage colony-stimulating factor using ex vivo gene transfer. *Cancer Res*, 59, 1999, s. 5160-8.
29. Naitoh, J., Tso, C. L., Kaboo, R.: Intraprostatic interleukin-2 (IL-2) gene therapy: preliminary results of phase I clinical trial for the treatment of locally advanced prostate cancer (abstract). *J Urol*, 159, 1998, s. 254.
30. Bartholeyns, J., Romet-Lemonne, J. L., Chokri, M., et al.: Cellular vaccines. *Res Immunol*, 149, 1998, s. 647-9.
31. Tjoa, B. A., Lodge, P. A., Salgaller, M. L., et al.: Dendritic cell-based immunotherapy for prostate cancer. *CA Cancer J Clin*, 49, 1999, s. 117-28, 65.
32. Tjoa, B. A., Simmons, S. J., Elgamal, A., et al.: Follow-up evaluation of a phase II prostate cancer vaccine trial. *Prostate*, 40, 1999, s. 125-9.
33. Rosenberg, S. A., Lotze, M. T., Muul, L. M.: A progress report on the treatment of 157 patients with advanced cancer using lymphokine activated killer cells and interleukin-2 or high dose interleukin-2 alone. *New England J Med*, 316, 1987, s. 889-897.
34. Atzpodien, J., Korfer, A., Evers, P.: Low dose subcutaneous recombinant interleukin-2 in advanced human malignancy: A phase II outpatient study. *Molecular Biol*, 2, 1990, s. 18-26.
35. Kocheril, S. V., Grignon, D. J., Wang, C. Y., et al.: Responsiveness of human prostate carcinoma bone tumors to interleukin-2 therapy in a mouse xenograft tumor model. *Cancer Detect Prev*, 23, 1999, s. 408-16.
36. Hautmann, S. H., Huland, E., Huland, H.: Local intratumor immunotherapy of prostate cancer with interleukin-2 reduces tumor growth. *Anticancer Res*, 19, 1999, s. 2661-3.
37. Belldegrun, A., Tso, C. L., Zisman, A., et al.: Interleukin 2 gene therapy for prostate cancer: phase I clinical trial and basic biology. *Hum Gene Ther*, 12, 2001, s. 883-92.



## SCINTIGRAFIE POMOCÍ $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI V DIAGNOSTICE MNOHOČETNÉHO MYELOMU: SENZITIVNÍ UKAZATEL BIOLOGICKÉ AKTIVITY CHOROBY

### TECHNETIUM $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI SCINTIGRAPHY IN PATIENTS WITH MULTIPLE MYELOMA: A SENSITIVE MARKER OF THE BIOLOGICAL DISEASE ACTIVITY

MYSLIVEČEK M.<sup>1</sup>, BAČOVSKÝ J.<sup>2</sup>, KAMÍNEK M.<sup>1</sup>, KORANDA P.<sup>1</sup>, VYTRÁSOVÁ M.<sup>2</sup>, HUŠÁK V.<sup>1</sup>, ŠCUDLA V.<sup>2</sup>, NEKULA J.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> KLINIKA NUKLEÁRNÍ MEDICÍNY FAKULTNÍ NEMOCNICE A LF UP OLOMOUC

<sup>2</sup> III. INTERNÍ KLINIKA FAKULTNÍ NEMOCNICE A LF UP OLOMOUC

<sup>3</sup> RADIOLOGICKÁ KLINIKA FAKULTNÍ NEMOCNICE A LF UP OLOMOUC

**Souhrn: Východiska:** V posledních několika letech byly publikovány práce, vesměs předběžného charakteru, o využití  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI jako potenciálního vhodného radiofarmaka u pacientů s mnohočetným myelomem. **Typ studie a soubor:** Cílem naší studie bylo na reprezentativním souboru pacientů zhodnotit úlohu  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI scintigrafie v detekci postižení skeletu a měkkých tkání u mnohočetného myelomu a monoklonální gamapatie nejistého významu, posoudit aktivitu onemocnění a zjistit vztah různých typů akumulace  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI při scintigrafii ke klinickému stavu nemocných. Do studie bylo zařazeno 102 pacientů s mnohočetným myelomem a 32 pacientů s monoklonální gamapatií nejistého významu. **Metody a výsledky:** Celotělová scintigrafie v přední a zadní projekci byla prováděna 10 min. po i. v. aplikaci 800 MBq  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI. K hodnocení scintigramů bylo použito semikvantitativního skóre v souladu s rozsahem a úrovní akumulace  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI (sumační skóre). Výsledky scintigrafie byly korelovány s klinickými a laboratorními nálezy. 83 pacientů mělo aktivní onemocnění a 19 bylo v remisi. Byla nalezena signifikantní korelace sumačního skóre s klinickým stavem pacientů a s markery aktivity mnohočetného myelomu. Senzitivita scintigrafie v detekci aktivního mnohočetného myelomu dosáhla 93%, specificita 79%. **Závěry:** Celotělová scintigrafie pomocí  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI může sloužit jako jednoduchý a senzitivní ukazatel biologické aktivity mnohočetného myelomu a umožňuje s vysokou senzitivitou odlišit pacienty v remisi od pacientů s relapsem onemocnění po terapii.

**Klíčová slova:**  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI; celotělová scintigrafie; mnohočetný myelom; typy akumulace  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI při scintigrafii; posouzení aktivity onemocnění

**Summary: Backgrounds:** In the last few years, a number of preliminary reports have been published on  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI as a potential tracer in patients with multiple myeloma. **Design and Subjects:** Aims of our study was to evaluate a role of  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI scintigraphy in the detection of myeloma bone disease and myeloma lesions in soft tissues in multiple myeloma and monoclonal gammopathy of unknown significance, in assessing myeloma activity, and to evaluate the relationship of different patterns of  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI uptake with clinical status and stage of disease in representative group of patients. 102 consecutive patients with multiple myeloma and 32 patients with monoclonal gammopathy of unknown significance were enrolled in the study. **Methods and results:** Anterior and posterior whole-body scans were obtained 10 min after administration of 800 MBq  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI. Using semiquantitative uptake score the radiotracer uptake was graded according to extension and intensity (summed score). Scintigraphic findings were correlated with clinical and laboratory data. 83 patients with multiple myeloma had active disease and 19 were in remission. The uptake score correlated significantly with clinical status of the disease and markers of disease activity. Overall sensitivity and specificity of  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI scintigraphy in detecting myeloma bone disease and in assessing myeloma activity were 93% and 79%, respectively. **Conclusions:** Whole body scanning with  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI provides a simple and sensitive index of biological activity of disease. A negative scan clearly indicates remission and the uptake score correlates with markers of activity of the disease.

**Key words:**  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI; whole body scintigraphy; multiple myeloma; pattern of uptake; assessing myeloma activity

## Úvod

V posledních asi 15 letech se v nespecifické onkologické diagnostice začalo široce využívat  $^{99m}\text{Tc}$  methoxyisobutylisonitridu ( $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI nebo sestamibi), původně zavedeného do klinické praxe koncem 80. let k vyšetření perfuze myokardu.  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI scintigrafie byla indikována k detekci nejrůznějších primárních nádorů a jejich metastáz [1] včetně maligních nádorů prsu [2, 3], plic [4, 5], mozku [6], štítné žlázy [7], muskuloskeletálních sarkomů [8], maligních lymfomů [9] a tumorů příštitných tělísek [10]. V posledních několika letech byly rovněž publikovány práce o využití  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI jako potenciálního vhodného radiofarmaka u pacientů s mnohočetným myelomem [11-19].

K hodnocení rozsahu a aktivity MM a sledování průběhu onemocnění se doposud využívá rtg vyšetření skeletu, biopsie kostní dřeni se stanovením míry její infiltrace plazmatickými buňkami vyjádřené v procentech, stanovení hladiny paraproteinu (MIG) v séru a moči a hodnoty hemoglobinu v krevním obraze. Biologická aktivita myelomu je posuzována dle vyšetření beta-2-mikroglobulinu, tymidinkinázy v séru, CRP, stanovení proliferativní aktivity LI plazmocytů (labeling index), indexu apoptózy a markerů osteolytické aktivity (ICTP) [20, 21, 22].

Všechna tato vyšetření mají své limity [23]. Rtg vyšetření sice prokáže spolehlivě osteolytické léze, nerozliší ale, zda se jedná o aktivní onemocnění nebo reziduální osteolýzu bez

aktivní proliferace plazmatických buněk [18]. Pomocí rtg vyšetření navíc nelze detekovat přítomnost choroby v kostní dřeni a měkkých tkáních. Biopsie kostní dřene je klasická invazivní vyšetřovací metoda, ale nemusí vždy poskytnout spolehlivou informaci o rozsahu onemocnění [23]. Ukázalo se, že akumulace <sup>99m</sup>Tc-MIBI v kostní dřeni může sloužit jako indikátor aktivity MM, což je zvláště důležité u nesekrečních nebo solitárních plazmocytomů.

U nemocných s MM byly popsány různé typy akumulace <sup>99m</sup>Tc-MIBI a stupeň této akumulace vyjádřené semikvantitativním skóre vykazoval korelaci s klinickým stavem nemocných i stadiem onemocnění [24, 25]. Korelace byla zjištěna také s hodnotami paraproteinu a procentem plazmatických buněk v kostní dřeni [24]. Tyto práce však vesměs měly předběžný charakter a analyzovaly soubory s malým počtem nemocných.

Cílem naší studie bylo na reprezentativním souboru pacientů zhodnotit úlohu <sup>99m</sup>Tc-MIBI scintigrafie v detekci postižení skeletu a měkkých tkání u MM a monoklonální gamapatie nejistého významu (MGNV), posoudit aktivitu onemocnění a zjistit vztah různých typů akumulace <sup>99m</sup>Tc-MIBI při scintigrafii ke klinickému stavu nemocných a stadiu onemocnění.

### Soubor nemocných a metody

Do studie bylo zařazeno 102 pacientů s MM (41 mužů, 61 žen, průměrný věk 62 let, věkové rozmezí 37 až 80 let) a 32 pacientů s monoklonální gamapatií nejistého významu (MGNV; 12 mužů, 20 žen, průměrný věk 62 let, věkové rozmezí 31 až 80 let). Diagnóza a staging onemocnění byly stanoveny v souladu se standardními kritérii [26].

**Tab. 1. Semikvantitativní hodnocení akumulace <sup>99m</sup>Tc-MIBI v kostní dřeni dle rozsahu jejího postižení (skóre E).**

Skóre E	Rozsah akumulace <sup>99m</sup> Tc-MIBI v kostní dřeni
E1	páteř, pánev
E2	páteř, pánev, žebra nebo proximální epifyzy humerů a femorů
E3	páteř, pánev, žebra a distální epifyzy humerů a femorů

**Tab. 2. Semikvantitativní hodnocení akumulace <sup>99m</sup>Tc-MIBI v kostní dřeni dle stupně akumulace (skóre I).**

Skóre I	Stupeň akumulace <sup>99m</sup> Tc-MIBI v kostní dřeni
I1	nižší než v myokardu
I2	stejný jako v myokardu
I3	vyšší než v myokardu

**Tab. 3. Způsob klasifikace scintigramů dle sumačního skóre (SS).**

Typ scintigramu	Sumační skóre
N	1
D	2–6
F a F+D	7

**Tab. 4. Distribuce typu <sup>99m</sup>Tc-MIBI scintigramů u nemocných s aktivním onemocněním nebo v remisi (n = 102).**

Typ <sup>99m</sup> Tc-MIBI scintigramu	Klinický stav pacientů	
	aktivní MM, n = 83	neaktivní MM, n = 19 (iniciální stadium. IA bez nutné léčby, n = 8; remise po léčbě, n=11)
N	6	15
D	42	3
F a F+D	35	1

$\chi^2 = 48,8, P < 0,001$

Všichni nemocní podstoupili přehledné rtg vyšetření skeletu, biopsii kostní dřene se stanovením % plazmatické infiltrace (PB), indexu apoptózy (Apo), labeling indexu (LI), dále byl stanoven paraprotein (MIG) v séru a v moči, C-reaktivní protein (CRP), beta-2-mikroglobulin v séru (B2M), tymidinkináza v séru (sTK), LDH, hemoglobin (HB), kalcium v séru

**Tab. 5. Korelace mezi stupněm akumulace <sup>99m</sup>Tc-MIBI v kostní dřeni (sumačním skóre) a markery aktivity MM.**

Markery aktivity MM	R	P
PB	0,472	<0,001
MIG	0,39	<0,001
sTK	0,34	<0,001
B2M	0,27	<0,001
LI	0,35	<0,001
CRP	0,18	<0,05
1CTP	0,199	<0,05
HB	-0,3	<0,001
Apo	-0,19	<0,05

**Tab. 6. Distribuce typu <sup>99m</sup>Tc-MIBI scintigramů u pacientů s aktivním onemocněním ve vztahu ke stadiu MM (n=83).**

Typ <sup>99m</sup> Tc-MIBI scintigramu	Klinická stadia skupiny nemocných s aktivním MM		
	I. stadium	II. stadium	III. stadium
N	0	4	2
D	2	18	22
F a F+D	2	12	21

$\chi^2 = 2,46, P = 0,65$  (NS)

**Tab. 7. Diagnostická přesnost <sup>99m</sup>Tc-MIBI scintigrafie v detekci aktivního MM (n=102).**

Senzitivita	93% (77/83)
Specificita	79% (15/19)
PPC	95% (77/81)
NPC	71% (15/21)
Diagnostická přesnost	90% (92/102)

PPC – pozitivní předpovědní cena, NPC – negativní předpovědní cena

**Tab. 8. Scintigrafické nálezy nemocných s monoklonální gamapatií nejistého významu (MGNV; n = 32).**

Typ <sup>99m</sup> Tc-MIBI scintigramu	MGNV (n = 32)
N	25
D (SS 2)	7
D (SS 3 – 6)	0
F nebo F+D	0

**Tab. 9. Scintigrafické nálezy nemocných bez známek aktivního onemocnění (n = 19).**

Typ <sup>99m</sup> Tc-MIBI scintigramu	Charakteristika pacientů	
	Stadium IA; n = 8 (pouze sledování pac. bez nutnosti terapie)	Remise; n = 11 (po předchozí terapii)
N	4	11
D (SS 2)	0	0
D (SS 3)	3	0
F+D	1	0

(Ca), marker kostní resorpce (ICTP) a kostní novotvorby (PICP).

Klinická a laboratorní vyšetření byla prováděna ve stejném termínu, maximálně však v jednoměsíčním odstupu od  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI scintigrafie.

Celotělová scintigrafie v přední a zadní projekci byla prováděna 10 min. po i.v. aplikaci 800 MBq  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI na scintilační kameře Apex Helix, Elscint (způsob akvizice „step and shoot“, 300 s/projekce, matice 256 x 256) nebo scintilační kameře E-CAM, Siemens (kontinuální posun lůžka 12 cm/min., matice 256 x 1024). Kamery byly vybaveny dvěma detektory s nízkoeenergetickými paralelními HR kolimátory.

Scintigramy byly klasifikovány následujícím způsobem: jako typ N byl hodnocen scintigram při fyziologické distribuci  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI, typ D při difúzní akumulaci radioindikátoru v kostní dřeni, typ F v případě přítomnosti fokální akumulace  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI v kostní dřeni nebo extramedulárně a typ D+F při kombinaci předchozích dvou typů.

Scintigramy typu D byly dále hodnoceny semikvantitativně podle rozsahu postižení (skóre E, tab.1) a stupně akumulace  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI v kostní dřeni (skóre I, tab.2). U všech pacientů bylo vypočítáno sumační skóre (SS=E+I) [20]. Scintigramy typu D tedy dle rozsahu postižení kostní dřene a stupně akumulace  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI dosahovaly hodnot sumačního skóre 2 až 6. Pro statistickou analýzu bylo navíc přiřazeno sumační skóre 1 scintigramům typu N a sumační skóre 7 scintigramům typu F a F+D (tab.3).

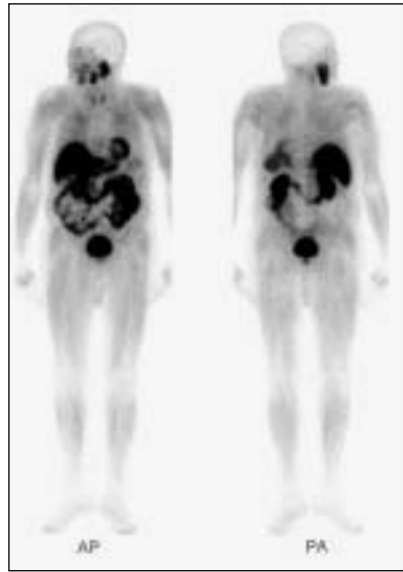
Výsledky byly statisticky zpracovány pomocí Chi-kvadrát analýzy, analýzy ANOVA a LSD testů a korelační analýzy (vztah mezi SS a jinými proměnnými). Za signifikantní byly považovány hodnoty  $P < 0,05$ . Dále byla vypočítána senzitivita, specifita, pozitivní a negativní prediktivní cena a diagnostická přesnost  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI scintigrafie v detekci nemocných s aktivním MM, přičemž při detekci aktivního MM byly za „zlatý standard“ považovány výsledky laboratorních vyšetření dle standardních kritérií [26].

## Výsledky

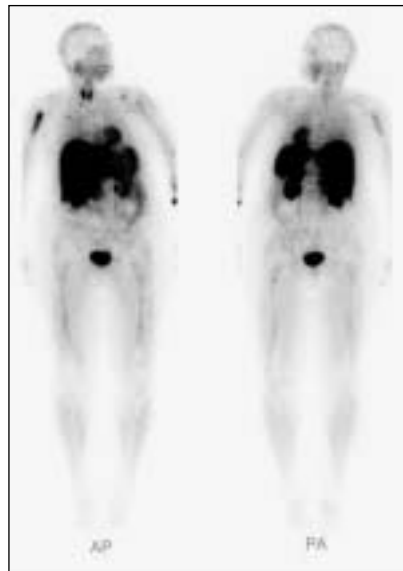
Ze 102 pacientů s MM mělo 83 aktivní onemocnění. Jednalo se o nemocné s nově diagnostikovaným myelomem, kteří vyžadovali léčbu nebo s relapsem MM. Z 19 pacientů bez známek aktivního onemocnění bylo 8 v klinickém stadiu IA, u nichž nebyla indikována žádná terapie, 11 nemocných bylo v remisi po předchozí léčbě. Remise byla definována jako stav s  $< 5\%$  plasmatických buněk v kostní dřeni a s redukcí MIG po léčbě  $> 75\%$ .

21 ze 102 nemocných mělo typ scintigramu N (21%), 45 typ D (44%) a typ F nebo F+D mělo 36 pacientů (35%). Chi-kvadrát analýza ukázala signifikantní rozdíl ( $\chi^2 = 48,8$ ;  $P < 0,001$ ) v distribuci typu  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI scintigramů mezi pacienty s aktivním onemocněním a pacienty v iničiálním stadiu MM bez známek aktivity či v remisi (tab. 4).

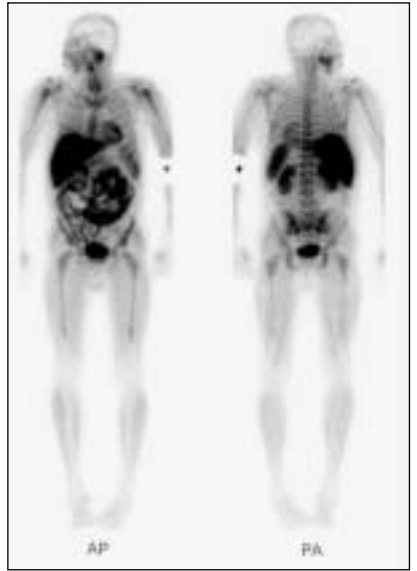
*Obr. 1. Scintigram typu N. Při celotělové  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI scintigrafii v přední a zadní projekci lze diferencovat pouze fyziologickou akumulaci radioindikátoru ve slinných žlázách, štítnici, myokardu, játrech, gastrointestinálním traktu a močovém měchýři. Absence patologické akumulace v kostní dřeni i měkkých tkáních.*



*Obr. 3. Scintigram typu F. Na celotělových scintigramech v přední a zadní projekci je patrná patologická akumulace  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI fokálního typu ve vícečetných ložiscích v lebce, hrudníku, proximálním humeru vpravo, v levém humeru, femorech a v oblasti levého bérce.*



*Obr. 2. Scintigram typu D. Patologická akumulace  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI difúzního typu na celotělových scintigramech v přední a zadní projekci v kostní dřeni sternu, žeber, páteře, kostí pánve, humerů a femorů ( skóre E 3, skóre I 2, sumační skóre 5).*



*Obr. 4. Scintigram typu F+D. Na celotělových  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI scintigramech v přední a zadní projekci je patrná patologická akumulace radioindikátoru jednak difúzního typu v kostní dřeni sternu, žeber, páteře, kostí pánve, humerů a femorů, jednak fokální akumulace na přední stěně hrudníku vpravo (šipka) a v žebrech a v oblasti levého bérce (šipka).*



Z 36 pacientů s typem  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI scintigramu F a F+D mělo 35 aktivní onemocnění (35/36), tj. 97%. Aktivní onemocnění mělo také 42/45 pacientů s typem scintigramu D (93%). 15/19 pacientů s typem scintigramu N (79%) bylo v remisi. Z 81 nemocných s patologickým scintigramem (s typem scintigramu D, F nebo F+D) mělo 95% (77/81) aktivní onemocnění. Pouze 4 pacienti bez známek aktivního onemocnění (v klinickém stadiu IA) vykazovali patologický typ scintigramu; 3 měli typ D se sumačním skóre 3 a 1 pacient typ F+D (tab. 4). Různé typy  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI scintigramů s různým sumačním skóre jsou na obr. 1 až 4.

Zjišťovali jsme dále vztah mezi stupněm akumulace  $^{99m}\text{Tc}$ -

MIBI (sumačním skóre) a markery aktivity MM. Signifikantní pozitivní korelace byla nalezena s MIG, procentem plazmatických buněk v kostní dřeni (PB), LI, sTK, B2M, CRP a ICTP. Signifikantní negativní korelace byla nalezena mezi SS a hladinou hemoglobinu a Apo (tab.5).

Z celkového počtu 83 nemocných s aktivním MM byli ve stadiu I 4 (5%) pacienti, ve stadiu II 34 (41%) a ve stadiu III 45 (54%) pacientů. 6 pacientů z 83 s aktivním onemocněním vykazovalo při  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI scintigrafii typ scintigramu N (7%). Chi-kvadrát analýza nevykázala signifikantní rozdíl mezi distribucí typu scintigramů u nemocných v různých stádiích onemocnění ( $\chi^2 = 2,46$ ;  $P=0,65$ ; tab.6). U 40 pacientů (48%) s aktivním myelomem ve II. a III. stadiu jsme našli typ scintigramů D a u 33 (40%) pacientů typ F nebo F+D. Pouze 2 pacienti s aktivním MM v I. stadiu měli  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI scintigram typu D a 2 typu F+D. Ani jeden pacient ze dvou s typem scintigramu D a aktivním MM v I. stadiu neměl sumační skóre vyšší než 4 (u jednoho bylo SS 2, u druhého 3).

Senzitivita  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI scintigrafie v detekci aktivního mnohočetného myelomu v celém souboru nemocných dosáhla 93%, specifická 79%, pozitivní prediktivní cena 95%, negativní prediktivní cena 71% a diagnostická přesnost 90% (tab.7). Ve skupině 32 nemocných s MGNV mělo fyziologickou distribuci  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI v kostní dřeni (typ scintigramu N) 25 pacientů, u 7 jsme zaznamenali typ scintigramu D se sumačním skóre 2 (tab. 8).

## Diskuze

U nemocných s MM jsme při scintigrafii zaznamenali několik typů akumulace  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI: fyziologický, difúzní, fokální a kombinaci fokální a difúzní akumulace. Z celkového počtu 102 pacientů s MM zavzatých do naší studie bylo 79% s normálním scintigrafickým nálezem v remisi, zatímco 95% nemocných s patologickým scintigramem mělo aktivní onemocnění. Zjistili jsme vysoké hodnoty senzitivity i specifity  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI scintigrafie v detekci nemocných s aktivním onemocněním a schopnost metody odlišit je od pacientů v remisi (93%, resp. 79%).

99% nemocných s typem scintigramu F nebo F+D bylo v klinickém stadiu MM II nebo III. Byla nalezena statisticky signifikantní pozitivní korelace mezi sumačním skóre  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI scintigramů a dalšími markery aktivity MM (MIG, PB, sTK, B2M, LI, CRP, ICTP). Přítomnost patologické akumulace  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI v kostní dřeni, její rozsah a stupeň lze proto dle našeho názoru považovat za indikátor klinického stavu pacientů s MM.

K podobným závěrům dospěli i další autoři. Alexandrakís a spol. [25] zjistili v souboru 35 nemocných, že aktivita MM je přímo úměrná stupni akumulace  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI v kostní dřeni. Rovněž Balleari a spol. [19] konstatovali, že  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI scintigrafie velmi těsně reflektuje aktivitu MM v kostní dřeni s vysokou senzitivitou a specificitou a považují tuto zobrazovací metodu jako spolehlivé vyšetření při stagingu a sledování nemocných s MM. Fonti a spol. [17] kvantifikovali po i.v. aplikaci  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI na scintigramech a vzorcích kostní dřeni in vitro u 24 pacientů s MM, 3 pacientů s MGNV a 2 zdravých dobrovolníků míru akumulace  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI a pokusili se verifikovat intracelulární lokalizaci tohoto radiofarmaka. Mikroautoradiografie prokázala lokalizaci  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI uvnitř plazmatických buněk infiltrujících kostní dřev. Jejich nálezy prokázaly, že stupeň MIBI akumulace in vitro i in vivo má vztah k procentu infiltrujících plazmatických buněk, které radiofarmakum akumulují ve svém vnitřním kompartmentu. Svaldi a spol. [27] na souboru 46 nemocných s MM popisují, že difúzní typ  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI scintigramu reflektuje vyšší procento plazmatických buněk v kostní dřeni a považují  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI scintigrafii za efektivní metodu v diagnostice biologicky aktivního myelomu. Pace a spol. [24] na základě vyšetření souboru 39 pacientů rovněž považují  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI scintigrafii za velmi senzitivní metodu k identifikaci pacien-

tů s aktivním onemocněním, k selekci pacientů vyžadujících terapii a umožňující spolehlivě odlišit pacienty v remisi od nemocných s relapsem choroby. Prokazují také korelaci s klinickým stavem i stadiem choroby. Naše studie signifikantní korelaci  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI scintigrafie s klinickým stadiem choroby neprokázala.

V naší skupině 32 nemocných s MGNV mělo dle očekávání fyziologickou distribuci  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI v kostní dřeni (typ scintigramu N) a tedy žádnou infiltraci plazmatickými buňkami 25 pacientů, u 7 jsme však zaznamenali typ scintigramu D se sumačním skóre 2. Pro nálezy u těchto 7 pacientů jsme neměli adekvátní vysvětlení. Wakasugi a spol. [28] hodnotili potenciál  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI v detekci kostních metastáz ve srovnání s konvenčními radiofarmaky pro scintigrafii skeletu. V rámci studie vyšetřili pomocí  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI scintigrafie 124 kontrolních pacientů bez přítomnosti abnormalit skeletu a kostní dřev. U 90% z nich zjistili mírně zvýšenou akumulaci  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI v kostní dřeni páteře, sterna a žeber. Proto nelze typ scintigramu D se sumačním skóre 2 považovat za jednoznačný patologický nále. Pace a spol. [24] považovali za normální nejen typ  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI scintigramu N, ale rovněž typ D se sumačním skóre 2. Výsledky výše uvedených autorů podporují skutečnost, že scintigrafické nálezy typu D se sumačním skóre 2 bychom v našem souboru pacientů s MGNV mohli rovněž považovat za fyziologické.

Čtyři pacienti bez známek aktivního onemocnění (v klinickém stadiu IA) vykazovali patologický typ scintigramu; 3 měli typ D se sumačním skóre 3 a 1 typ F+D (tab. 9). Přes jednoznačně patologické scintigramy nebyla u těchto 4 nemocných vzhledem ke klinickému stadiu IA a absenci známek aktivity choroby indikována žádná terapie a scintigrafické nálezy byly při statistické analýze souboru hodnoceny jako falešně pozitivní. Jeden z těchto nemocných však zemřel za 3 měsíce po vyšetření na aktivní MM s klinickými i laboratorními známkami rychlé progresy choroby včetně hyperkalcémie a insuficience ledvin. U dalšího z těchto nemocných se objevily klinické i laboratorní známky aktivního onemocnění během 4 měsíců a musela být zahájena chemoterapie.  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI scintigrafie předpověděla u těchto dvou pacientů rozvoj aktivního onemocnění dříve než ostatní konvenční laboratorní vyšetření. Výše uvedené naznačuje, že by mohla mít  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI scintigrafie prediktivní roli při sledování pacientů s MM ve stadiu IA, kteří jsou zatím ještě bez klinických a laboratorních známek aktivity onemocnění.

U 3 nemocných s typem scintigramu F+D a přítomností extramedulárních ložisek MM jsme využili  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI scintigrafii k určení optimálního místa pro punkční biopsii. Scintigrafické vyšetření tak přispělo ke zpřesnění stagingu onemocnění.

Prognostický význam  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI scintigrafie a možnost využití metody při sledování pacientů s mnohočetným myelomem po léčbě bude předmětem naší další studie.

## Závěry

Celotělová scintigrafie pomocí  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI může sloužit jako jednoduchý a senzitivní ukazatel biologické aktivity mnohočetného myelomu. U jednotlivých typů akumulace  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI pacientů s MM jsme našli signifikantní korelaci se stupněm aktivity onemocnění v kostní dřeni i měkkých tkáních a dále s klinickým stavem onemocnění. Korelaci scintigrafických nálezů s klinickým stadiem MM jsme neprokázali. Vyšetření umožňuje s vysokou senzitivitou odlišit pacienty v remisi od pacientů s relapsem onemocnění po terapii. Na základě  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI scintigrafie lze rovněž stanovit optimální místo pro punkční biopsii zláště při podezření na postižení měkkých tkání. Některé předběžné nálezy v naší studii naznačují, že by  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI scintigrafie mohla mít prediktivní roli při sledování pacientů s MM v klinickém stadiu IA a monitorování nesekrečního myelomu.

**Tato práce byla podpořena IGA MZ ČR NC6724-3/2001**



## Literatura

1. Müller ST, Guth-Tougelides B, Creutzik H. Imaging of malignant tumours with MIBI-<sup>99m</sup>Tc SPECT [abstract]. J Nucl Med 1987; 28: 562P.
2. Khalkhali I, Mena I, Diggles L. Review of imaging techniques for the diagnosis of breast cancer: a new role of prone scintimammography using technetium-99m-sestamibi. Eur J Nucl Med 1994; 21: 357-62.
3. Prats E, Aisa F, Abos MD, et al. Mammography and <sup>99m</sup>Tc-MIBI scintimammography in suspected breast cancer. J Nucl Med 1999; 40: 296-301.
4. Kao CH, Wang SJ, Lin WY, et al. Differentiation of single-solid lesions in the lungs by means of single photon emission tomography with technetium-99m-methoxyisobutylisonitrile. Eur J Nucl Med 1993; 20: 249-54.
5. Bom HS, Kim YC, Song HC, et al. Technetium-99m-MIBI uptake in small cell lung cancer. J Nucl Med 1998; 39: 91-94.
6. Soler C, Beauchesne P, Maatougui K, et al. Technetium-99m sestamibi brain single-photon emission tomography for detection of recurrent gliomas after radiation therapy. Eur J Nucl Med 1998; 25:1649-57.
7. Folds I, Levay A, Stotz G. Comparative scanning of thyroid nodules with technetium-99m-methoxyisobutylisonitrile. Eur J Nucl Med 1993; 20: 330-33.
8. Soderlund V, Jonsson C, Bauer HCF, et al. Comparison of technetium-99m-MIBI and technetium-99m-tetrofosmin uptake by musculoskeletal sarcomas. J Nucl Med 1997; 38: 682-86.
9. Ziegels P, Nocaudie M, Huglo D, et al. Comparison of technetium-99m methoxyisobutylisonitrile and gallium-67 citrate scanning in the assessment of lymphomas. Eur J Nucl Med 1995; 22: 126-31.
10. Taillefer R, Boucher Y, Potvin C, Lambert R. Detection and localization of parathyroid adenomas in patients with hyperparathyroidism using a single radionuclide imaging procedure with technetium-99m-sestamibi (double-phase study). J Nucl Med 1992; 33: 1801-07.
11. Durie BGM, Waxman A, Jochelson M, et al. Technetium-99m-MIBI scanning in multiple myeloma (MM) [abstract]. Proc Am Soc Clin Oncol 1994; 13: 411.
12. Unlu M, Haznedar R, Atavci S, et al. Detection of bone lesion in multiple myeloma using Tc-99m MIBI scintigraphy [abstract]. Eur J Nucl Med 1995; 22 [Suppl]: 739.
13. Tirovola EB, Biassoni L, Britton KE, et al. The use of 99m-Tc-MIBI scanning in multiple myeloma. Br J Cancer 1996; 74: 1815-20.
14. Adams BK, Fataar A, Nizami MA. Technetium-99m-sestamibi uptake in myeloma. J Nucl Med 1996; 37: 1001-02.
15. El-Shirbiny AM, Yeung H, Imbracio M, et al. Technetium-99m-MIBI versus fluorine-18-FDG in diffuse multiple myeloma. J Nucl Med 1997; 38:1208-10.
16. Catalano L, Pace L, Califano C, et al. Detection of focal myeloma lesions by technetium-99m-sestaMIBI scintigraphy. Haematologica 1999; 84:119-24.
17. Fonti R, Del Vecchio S, Zannetti A, et al. Bone marrow uptake of <sup>99m</sup>Tc-MIBI in patients with multiple myeloma. Eur J Nucl Med 2001; 28: 214-20.
18. Alexandrakis MG, Kyriakou DS, Passam F, et al. Value of Tc-99m sestamibi scintigraphy in the detection of bone lesions in multiple myeloma: comparison with Tc-99m methylene diphosphonate. Ann Hematol 2001; 80: 349-53.
19. Balleari E, Villa G, Garre S, et al. Technetium-99m-sestamibi scintigraphy in multiple myeloma and related gammopathies: a useful tool for the identification and follow-up of myeloma bone disease. Haematologica 2001; 86: 78-84.
20. Ščudla V, Bačovský J. Prognostické faktory u mnohočetného myelomu. In: Adam Z a spol.: Mnohočetný myelom a další monoklonální gamapatie, edit. Masarykova univerzita Brno, 1999, 157-73.
21. Ščudla V, Ordeltová M. Klinický a biologický význam vyšetřování proliferativních charakteristik plazmocytů u mnohočetného myelomu. In: Adam Z a spol.: Mnohočetný myelom a další monoklonální gamapatie, edit. Masarykova univerzita Brno, 1999, 175-84.
22. Ščudla V, Ordeltová M, Bačovský J, et al. Conception of the inverse relationship between the proliferation and apoptosis activity in plasma cell compartments of patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance and multiple myeloma. Hematol J 2003; 4: (in press).
23. Pace L, Catalano L, Del Vecchio S, et al. Predictive value of technetium-99m sestamibi in patients with multiple myeloma and potential role in the follow-up. Eur J Nucl Med 2001; 28: 304-12.
24. Pace L, Catalano L, Pinto AM, et al. Different patterns of technetium-99m sestamibi uptake in multiple myeloma. Eur J Nucl Med 1998; 25: 714-20.
25. Alexandrakis MG, Kyriakou DS, Passam FH, et al. Correlation between the uptake of Tc-99m-sestaMIBI and prognostic factors in patients with multiple myeloma. Clin Lab Haematol 2002; 24: 155-59
26. Durie BGM, Salmon SE. A clinical staging system for multiple myeloma: correlation of measured myeloma cell mass with presenting clinical features, response to treatment and survival. Cancer 1975; 36: 842-54.
27. Svaldi M, Tappa C, Gebert U, et al. Technetium-99m-sestamibi scintigraphy: an alternative approach for diagnosis and follow-up of active myeloma lesions after high-dose chemotherapy and autologous stem cell transplantation. Ann Hematol 2001; 80: 393-97.
28. Wakasugi S, Noguti A, Katuda T, et al. Potential of <sup>99m</sup>Tc-MIBI for detecting bone marrow metastases. J Nucl Med 2002; 43: 596-602.

# informace

## ONKOLOGICKÁ MEDAILE ONCOLOGY MEDAL

GERYK E.  
MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV, BRNO

Dovolujeme si informovat širší zdravotnickou veřejnost o záměru vydat medaili, která by byla trvalejší připomínkou na onkologickou péči, evidenci zhoubných novotvarů a snahu o zachování zdraví české populace. Pamětní medaile již od antických dob vyjadřovaly památné události, které si jejich tvůrci přáli zachovat v paměti budoucích generací. I v současnosti platí, že ve srovnání s papírem nebo počítačem, poškozeným ohněm nebo virem, má myšlenka vyjádřená v kovu trvalejší hodnotu. Ochrana zdraví a zachování života patří k základním hodnotám, které si budeme více než jindy uvědomovat od května 2004 v Evropské Unii při setkání, rozloučení a životních výročích.

Zdraví není všechno, ale všechno ostatní bez zdraví není ničím. Údaje o nádorech jsou jako mince se dvěma stranami. Na jedné jsou varování o jejich pokračujícím výskytu a bolestném průběhu nemoci. Na druhé je velká pravděpodobnost jeho prodloužení při dodržování zásad, snižujících známá rizika. Jejich odlišné nahromadění ve způsobu života je příčinou rozdílů ve výskytu nádorů u mužů a žen, v různém věku a geografických oblastech. Pochopení tohoto rizika je prvním krokem k postupné nápravě.

S uvedeným záměrem byla připravena ražba námětové medaile „Evidence nádorů – podpora jejich diagnostiky, terapie a prevence v České republice“, která by měla upozornit také na nutnost zachovat evidenci nádorů jako podmínku pro správné rozhodování v medicíně. Evidence nádorů v ČR od roku 1951 zavazuje ke kontinuitě dat, s věrohodností, založenou na identifikaci osobních údajů každého nemoc-

ného a jejich ochraně. Podmínkou je oboustranná důvěra mezi nemocným a zdravotníkem s vědomím, že údaje o zdraví a nemoci umožňují zajistit co nejlépe a efektivně lékařskou péči.

Společenská závažnost nádorů dokládá celosvětově očekávaný počet téměř 30 milionu léčených. Představa, že zdraví je možné zlepšit jen nařizování řídicích orgánů je chybná. Nenajdou své uplatnění, pokud doporučené návrhy nebudou přijímány a nebudou součástí denního rozhodování každého člověka. Není náhodou, že roční počet téměř 70 tisíc nádorů a 360 tisíc léčených, zařazuje českou populaci u řady diagnóz na přední místa mezinárodního srovnání jako důsledek kompromisů odborné a laické veřejnosti. Pohled na tyto počty přináší etické obavy z hlediska změn v genofondu a rostoucího objemu nákladů k zajištění standardní péče u onkologicky nemocných.

Kdy se podaří prosadit do způsobu života zásady prevence nádorů, společně také pro řadu dalších nemocí? Nebude třeba pak už pozdě? I k takovému zamyšlení může vést krab, jako symbol rakoviny, probodený mečem. Zatímco s jeho výtvarným řešením je možné se setkat na řadě odborných a populárních publikací, je rytecké ztvárnění této tematiky na medaili světově ojedinělé. K významu jejího poselství přispívá také zobrazení legendární lidské postavy podle kresby Leonarda da Vinci, věnec z lipových listů a názvy firem, které ražbu podpořily. Patří jim poděkování stejně jako autorkám ryteckého návrhu D. Charousové a P. Hanzlíkové. Na přípravě medaile se významně podílelo vedení Střední uměleckopřmyslové a Vyšší odborné školy v Jablonci nad Nisou a špičkoví odborníci Bižuterie Česká Mincovna a.s., jejíž rytci a medailéři s velkou odpovědností a kvalitou uskutečnili tuto unikátní ražbu, která zůstane trvalou mezinárodní ukázkou dovednosti českých rukou a pokračující snahy o zlepšení zdraví. Poselství této medaile mohou naplnit všichni, kteří ji drží v rukou, ať už podporou svého vlastního zdraví, nebo svých spoluobčanů.

# VLIV ÚNAVY NA KVALITU ŽIVOTA ONKOLOGICKÝCH PACIENTŮ

## THE INFLUENCE OF FATIGUE ON THE QUALITY OF LIFE OF CANCER PATIENTS

BRYCHTA M.<sup>1</sup>, HNILICA K.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> RADIOTERAPEUTICKÁ A ONKOLOGICKÁ KLINIKA 3. LF UK A FN KV V PRAZE

<sup>2</sup> KATEDRA KULTUROLOGIE FF UK V PRAZE A ÚSTAV PRO HUMANITNÍ STUDIA V MEDICÍNĚ  
1. LF UK V PRAZE

**Souhrn:** *Východiska:* kvalita života onkologických pacientů je důležitým aspektem komplexní onkologické terapie. *Soubor pacientů a metody:* V práci prezentujeme výsledky výzkumu kvality života onkologických pacientů, které byly realizovány v ČR v letech 2000 až 2001. Výzkum byl realizován u pacientů s heterogenní populací nádorových onemocnění na 30 onkologických a hematooonkologických pracovištích v České republice. 384 pacientů ve věkovém rozmezí 24–89 let vyplnilo spolu se svým ošetřujícím lékařem dotazník. Údaje získané z dotazníku byly dále statisticky zpracovávány. *Výsledky:* V průměru si pacienti nejvíce stěžují na únavu, dále na bolesti, na psychické tenze, na nevolnost a nejméně na zácpu a průjem. *Shrnutí:* Únava je ve sledovaném souboru pacientů hlavním přímým faktorem ovlivňujícím kvalitu života. Psychická tenze, míra bolesti, hladina hemoglobinu, nevolnost, zácpa i průjem ovlivňují kvalitu života především nepřímo, svými vlivy na únavu.

**Klíčová slova:** kvalita života, únava, bolest, anemie, psychické tenze, dyspeptické obtíže, onkologická léčba, analgetická léčba, opioidní analgetika

**Summary:** *Common ground:* The quality of life of the oncologic patients is an important aspect of complex oncologic treatment. *Population and methodology:* We present outcomes of the research focused on the quality of life of the oncologic patients, which passed in the Czech Republic between the years 2000 and 2001. The research was realized with a population of patients with heterogeneous malignancies at 30 oncologic and hematoooncologic sites in the Czech Republic. 384 patients in the age between 24 and 89 years filled in the form with the help of their physician. The data was then statistically processed. *Results:* The patients mostly complained on fatigue, pain, psychical tension and nausea. Constipation and diarrhea were least inconvenient. *Conclusion:* Fatigue is the main factor that affects the quality of life. Psychical tension, pain, level of hemoglobin, nausea, constipation, and diarrhea affect the quality of life primarily indirectly via fatigue.

**Key words:** quality of life, fatigue, pain, anemia, psychical tension, dyspepsia, oncologic treatment, analgesic treatment, opioid analgesics

### ÚVOD

Zájem o kvalitu života onkologických pacientů je nedílným aspektem pohledu lékaře na komplexní onkologickou léčbu zhoubných nádorových onemocnění. Ve srovnání se zahraničím však není v České republice kvalitě života onkologických pacientů věnována systematická pozornost. Zejména chybí analytické práce. Tato situace vedla ke zorganizování dvou dotazníkových akcí, které se snaží o zmatování situace v ČR, a které poskytly a nadále poskytují nové informace k tomuto aktuálnímu tématu.

První z těchto dotazníkových akcí se týkala kvality života žen s karcinomem prsu. Vzorek v ní tvořily ženy, které jsou sdruženy ve svépomocné organizaci ARCUS onko-centrum. Šlo o explorační studii, v níž byla snaha identifikovat pořadí důležitosti jednotlivých faktorů, které ovlivňují kvalitu života těchto pacientek, a strukturu vztahů mezi těmito faktory a kvalitou života. Ukázalo se, že vlivy onemocnění a jeho terapie na psychosomatické problémy jsou jednak přímé (vnímání a reflexe změn, k nimž dochází v důsledku destrukce rozmanitých buněk a tkání), jednak nepřímé, způsobené sekundárními důsledky onemocnění a jeho léčby.

Ve druhé studii, jejíž výsledky jsou hlavním předmětem tohoto sdělení, jsme ověřovali, zda pořadí problémů, s nimiž se setkává heterogennější populace onkologických pacientů, odpovídá pořadí zjištěnému u předchozí populace pacientek, a dále jsme testovali určitý model struktury vztahů mezi únavou, psychickými tenzemi, bolestmi, zažívacími potížemi, anémií a kvalitou života, k němuž jsme dospěli – post hoc – ve výzkumu prvním. Podle tohoto modelu je hlavním faktorem, ovliv-

ňujícím kvalitu života onkologických pacientů, únava. Bolest, zažívací potíže a psychické tenze (a rovněž hladina hemoglobinu) mají sice na kvalitu života rovněž přímý vliv, jejich vliv je však především zprostředkovaný: tyto proměnné především spoluurčují míru únavy, která je sama klíčovým faktorem ovlivňujícím kvalitu života onkologických pacientů.

### PRVNÍ VÝZKUM

Na přelomu let 2000/2001 proběhl v ČR výzkum kvality života žen s karcinomem prsu (Hnilica 2001a). Vzorek tvořily ženy, které jsou sdruženy ve svépomocné organizaci ARCUS onko-centrum. Výzkum realizovala agentura IRBIS ve spolupráci s vedením onko-centra ARCUS a za finanční podpory farmaceutické firmy JANSSEN-CILAG. Ve výzkumu bylo osloveno celkem cca 700 žen, u nichž byl diagnostikováno onkologické onemocnění prsu. Ženy byly požádány o anonymní vyplnění dotazníku, v němž byly otázky, týkající se různých dimenzí kvality života.

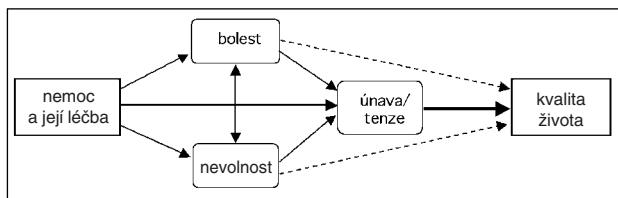
Vyplněné dotazníky vrátilo celkem 448 žen ve věkovém pásmu mezi 32 a 83 roky; v průměru jim bylo cca 58 let ( $M = 57,9$ ;  $SD = 9,8$ ).

Na základě tří relativně nezávislých analýz jsme se pokusili odhalit faktory, které způsobují pacientkám nejvíce problémů. Všechny tři analýzy vedly ke zjištění *stejného pořadí* psychosomatických problémů. Jsou jimi (v tomto pořadí důležitosti):

1. únava a tělesná slabost
2. psychické tenze, pocity napětí, deprese, bezmoci, úzkosti a strachu

3. bolest a s ní související jevy (poruchy hybnosti, špatný spánek atd.)
  4. nevolnost (zažívací problémy, průjem, zácpa, zvracení, nechutenství) a vypadávání vlasů.
- Výsledek analýz tohoto výzkumu nás vedl k vytvoření hypotetického modelu vztahů mezi nemocí, její léčbou, psychosomatickými faktory a kvalitou života, který znázorňujeme v obrázku číslo 1.

Obrázek č. 1. Hypotetický model struktury vztahů mezi nemocí, její léčbou, psychosomatickými problémy a kvalitou života.



Šipky znázorňují v tomto hypotetickém modelu kauzální působení. Jednotlivé psychosomatické problémy (únava, tenze, bolest a nevolnost) jsou v tomto modelu chápány jako důsledky nemoci a její léčby. Kvalita života je v tomto modelu nejvíce ovlivněna únavou a psychickými tensemi (psychickým napětím, depresemi, pocity bezmoci, úzkosti a strachu). Ty samy jsou ovlivněny jednak samotnou nemocí a její léčbou, jednak bolestmi a „nevolnostmi“ (zažívacími problémy, průjmy, zácpou, zvracením, nechutenstvím atp.). Vliv nemoci a její léčby na kvalitu života je zprostředkovaný těmito psychosomatickými proměnnými.

Jsme si ovšem vědomi toho, že jde o zčásti zjednodušující výřez. Například permanentní psychické tenze – a konečnou i celkově špatná kvalita života – mohou být jednou ze spolupříčin vývinu karcinomu (viz Chen et al., 1995); lidé odlišně senzitivní na vnímání bolesti nebo různě náchylní na zvracení, zácpu, průjmy atp. mohou prožívat stejný objektivní somatický stav a stejné formy terapie značně odlišně; depresivnímu jedinci patrně zhorší samotné stigma „rakoviny“ kvalitu života výrazněji než méně depresivnímu atd. Nicméně rozvinutý karcinom a jeho léčba mají nesporné vlivy na tyto psychosomatické děje, jak ukazují mimo jiné příspěvky některých autorů ve sbornících redigovaných Bullingerovou, Siegristem a Ravens-Sieberem (2000) nebo Martym a Pecorellim (2001).

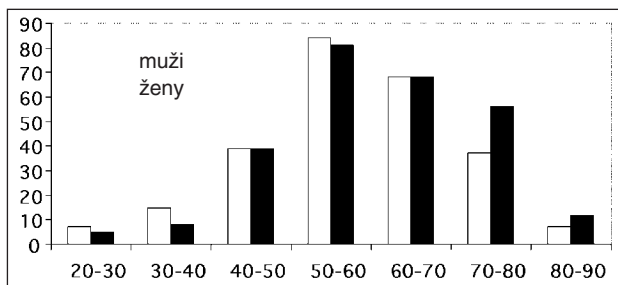
## DRUHÝ VÝZKUM

V roce 2000 bylo farmaceutickou společností Janssen-Cilag osloveno 30 českých onkologických a hematologických pracovišť s žádostí o spolupráci při vyplnění dotazníku zaměřeného na analgetickou terapii, kterou provádí u svých pacientů. Část dotazníku o subjektivních pocitech vyplňovali pacienti, doplňující údaje o léčbě jejich ošetřující lékaři (Hnilica, 2001b).

## Demografické údaje

Výzkumu se zúčastnilo celkem 384 respondentů, z nichž bylo 183 mužů (47,7%) a 201 žena (52,3%). Respondenti byli ve

Graf č. 1. Věkové rozložení souboru.



věkovém pásmu od 24 do 89 let. V průměru jim bylo 60 let, muži byli o cca půl roku mladší než ženy ( $M_{\text{muži}} = 58,9$ ;  $M_{\text{ženy}} = 60,6$ ). Rozdíl mezi průměry není statisticky významný. Věkové rozložení souboru ukazuje graf číslo 1.

## Soubor diagnóz

Nejvíce diagnóz se týkalo karcinomu plic (21,1%), karcinomu gastrointestinálního traktu (20,8%), karcinomu prsu (15,6%), urologických karcinomů (9,6%), gynekologických karcinomů (8,3%) a karcinomů ORL (6,3%). Mezi méně časté patřily kryptogenní karcinomy, hematologické karcinomy, maligní melanomy, sarkomy měkkých tkání. Rozložení nejčastějších diagnóz ukazuje tabulka číslo 1.

Tab. č. 1. Výskyt nejčastějších diagnóz (podle pohlaví).

	POHLAVÍ				CELKEM	
	muž		žena			
	N	%	N	%	N	%
Karcinom plic	62	33,9 %	19	9,5 %	81	21,1 %
Karcinomy GIT	42	23,0 %	38	18,9 %	80	20,8 %
Karcinom prsu	1	0,5 %	59	29,4 %	60	15,6 %
Karcinomy URO	30	16,4 %	7	3,5 %	37	9,6 %
Karcinomy gynekologické			32	15,9 %	32	8,3 %
Karcinomy ORL	20	10,9 %	4	2,0 %	24	3,3 %

## Metoda

Pacienti vyplnili dotazník, v němž byly především otázky, týkající se jejich psychosomatických problémů. Ošetřující lékař kromě toho vyplnil další dotazník, v němž uvedl aplikované formy terapie, předepsané léky a hladinu hemoglobinu pacienta.

Pro jasnost a přehlednost uvádíme celý dotazník v příloze. Faktorová analýza prvního dotazníku vedla k extrakci pěti oblastí psychosomatických problémů, jimiž jsou únava, psychické tenze, bolesti, fyzická nevolnost (žaludeční potíže) a zácpa. Tyto faktory společně vysvětlují cca 68% variability skóru.

Únavu zjišťovaly celkem čtyři položky (například „Byla/a jste unaven/a?“; „Cítil/a jste se slabý/á?“). Z těchto čtyř položek jsme sestavili celkovou škálu únavy. Tato škála je vysoce reliabilní (alfa = 0,88).

Psychické tenze zjišťovaly jiné čtyři položky (například „Cítil/a jste napětí?“; „Cítil/a jste obavy?“). Rovněž škála sestavená z těchto položek je vysoce reliabilní (alfa = 0,87).

Bolest byla měřena rovněž čtyřmi položkami (například „Měl/a jste bolesti?“; „Narušovala Vaše bolest Vaše každodenní aktivity?“). Škála sestavená z těchto čtyř položek je uspokojivě reliabilní (alfa = 0,75).

Nevolnost byla zjišťována třemi položkami (například „Zvracel/a jste?“; „Měl/a jste žaludeční potíže?“). I škála sestavená z těchto tří položek je uspokojivě reliabilní (alfa = 0,71).

Poslední faktor vytvořily dvě položky, které se týkaly zácpy („Měl/a jste zácpu?“) a průjmu („Měl/a jste průjem?“). Tyto dvě položky spolu korelovaly nepříliš vysoce a záporně ( $r = -0,15$ ;  $p < 0,003$ ). Pro možnost stanovení pořadí problémů jsme z těchto dvou položek sestavili sumární škálu zácpy. Protože však jde o škálu málo reliabilní a sotva unidimenzionální, ve strukturním modelu jsme ji nepoužili.

Kvalita života byla zjišťována otázkou: „Jak byste ohodnotil/a celkovou kvalitu svého života v průběhu minulého týdne?“ Stupnice odpovědí byla od 1 (= velmi špatná) do 7 (= vynikající). Většina pacientů uvedla, že kvalita jejich života je poměrně špatná (56% udalo hodnoty mezi 1 a 3).

Hladinu hemoglobinu uváděl lékař. V celém vzorku byly zjištěny tyto hodnoty: aritmetický průměr ( $M =$ ) 118,47 g/l, standardní odchylka ( $SD =$ ) 19,04 g/l.

## VÝSLEDKY

### Pořadí problémů

V průměru si pacienti v tomto vzorku nejvíce stěžují na únavu, dále na bolest, na psychické tenze, na nevolnost a nejméně na zácpa a průjem. To ukazují průměry (M) a standardní odchylky (SD), jež uvádíme spolu s počty pacientů (N) v tabulce číslo 2.

Tabulka č. 2. Pořadí problémů respondentů s heterogenními nádory.

	M	SD	N
únavu	2,84	0,76	384
bolest	2,61	0,78	384
tenze	2,07	0,75	384
nevolnost	1,85	0,71	384
zácpa/průjem	1,53	0,53	384

Poznámka: Škála je od 1 = „vůbec ne“ do 4 = „velmi“.

Rozdíly mezi všemi průměry jsou statisticky vysoce signifikantní. V tabulce číslo 3 uvádíme testy rozdílů v podobě dvojic průměrů.

Tabulka č. 3. Testy rozdílů mezi psychosomatickými problémy (párové t-testy).

	párové rozdíly		t	df	p <
	M	SD			
únavu - bolest	0,23	0,74	6,07	383	0,0005
bolest - tenze	0,54	0,78	13,62	383	0,0005
tenze - nevolnost	0,22	0,86	4,92	383	0,0005
nevolnost - zácpa	0,32	0,78	8,05	383	0,0005

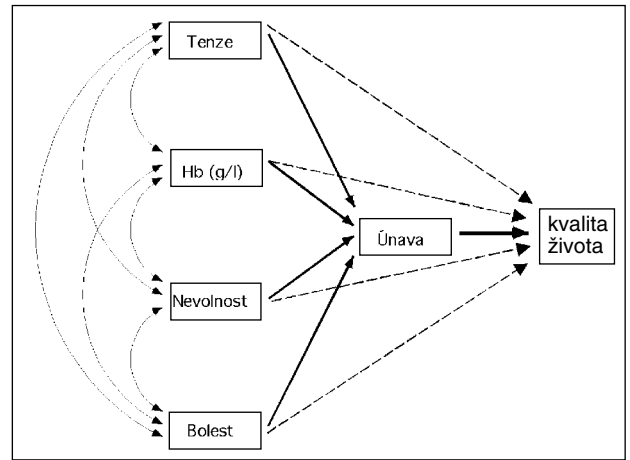
Například průměrný rozdíl mezi únavou a bolestí činí (M =) 0,23. Tento rozdíl je při 383 stupních volnosti (df) statisticky vysoce signifikantní (t = 6,07; p < 0,0005). Pacienti si tedy stěžují na únavu v průměru signifikantně více než na bolest. Totéž platí i o rozdílech mezi všemi ostatními po sobě jdoucími průměry. Nejvýraznější je rozdíl mezi bolestmi a psychickými tenzemi (M = 0,54). Tento rozdíl svědčí rovněž o změně průměrné odpovědi. Zatímco na únavu a bolest si pacienti stěžují „dost“ (škálová hodnota ≈ 3), na tenze a nevolnosti si pacienti stěžují pouze „trochu“ (škálová hodnota ≈ 2). U zácpy je škálová hodnota na hranici mezi „trochu“ a „vůbec ne“.

### Strukturální model

V návaznosti na závěry minulého výzkumu vykonaného u pacientek s karcinomy prsu (Hnilica, 2001a) a na některé literární prameny (Bullinger, Siegrist a Ravens-Sieberer, 2000; Harper, 2000; Khayat, 2000; Marty a Pecorelli, 2001) jsme vyšli v tomto výzkumu z předpokladu, že kvalita života onkologických pacientů je ovlivněna především únavou. Proto jsme testovali hypotézu, podle níž mezi jednotlivými psychosomatickými proměnnými a kvalitou života existují vztahy znázorněné v následujícím grafu (Hnilica, 2002). Kromě probíraných psychosomatických proměnných jsme do modelu zahrnuli i hladinu hemoglobinu, u níž se postuluje výrazný vztah k únavě, a to zejména při anémii, vznikající v důsledku některých forem léčby (viz například Itri, 2001).

Půlkulaté dvoustranné šipky zde znamenají korelace (r) mezi proměnnými, jednostranné přímé šipky koeficienty regrese (beta). Předpokládáme tedy, že mezi tenzí, hladinou hemoglobinu, nevolností a bolestí existují signifikantní korelace (dvoustranné šipky). Tyto proměnné ovlivňují kvalitu života pacientů zčásti jednak přímo, především však spoluurčují míru únavy, která je sama klíčovým faktorem ovlivňujícím hodnocení kvality života onkologických pacientů. To naznačují jed-

Obrázek č. 2. Obecný model struktury vztahů mezi psychosomatickými problémy a kvalitou života (pro vysvětlivky viz text).



nostranné šipky, které směřují od tenzí, hemoglobinu, nevolnosti a bolestí jednak přímo ke kvalitě života (přerušované jednostranné šipky), jednak k únavě (plně jednostranné šipky). Nejsilnější jednostranná šipka pak směřuje od únavy ke kvalitě života.

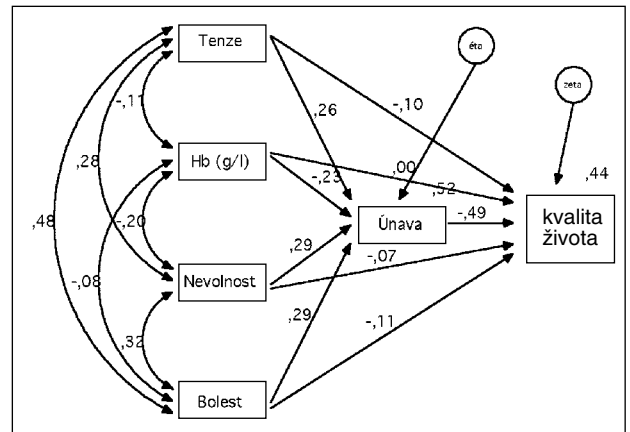
Výsledky testu modelu u celého souboru pacientů uvádíme v následujícím grafu. Číslice vedle šipek informují o velikosti korelačních a regresních koeficientů. Číslice nad obdélníky (únavou a kvalitou života) informují o proporci vysvětlené variance dané proměnné (R<sup>2</sup>).

V celém souboru je tak například korelace mezi tenzí a bolestí vysoce signifikantní (r = 0,48); rovněž tak korelace mezi tenzí a nevolností (r = 0,28) a nevolností a bolestmi (r = 0,32) jsou vysoce signifikantní.

Regresní koeficient tenze a únavy činí (beta =) 0,26, tenze a kvality života (beta =) -0,10: čím vyšší tenze, tím vyšší míra únavy a současně horší kvalita života. Rovněž bolest vykazuje signifikantní nezávislé vlivy jak na únavu (beta = 0,29), tak na kvalitu života (beta = -0,11). Hladina hemoglobinu a nevolnost vykazuje signifikantní nezávislé vlivy na únavu, nikoliv však na kvalitu života. Únava má na kvalitu života ze všech proměnných nejvýraznější vliv (beta = -0,49). Únava sama je těmito čtyřmi proměnnými vysvětlena z 52% (0,52); kvalita života je vysvětlena současným působením všech pěti faktorů ze 44% (0,44).

Přes přijatelnost uvedeného modelu k vysvětlení souvislosti mezi psychosomatickými problémy a kvalitou života se však ukazuje, že jej bude vhodné v průběhu dalších výzkumů upřesňovat a modifikovat. Ukázalo se zejména, že pro jednotlivé

Obrázek č. 3. Model struktury vztahů mezi psychosomatickými problémy a kvalitou života – celkový vzorek.

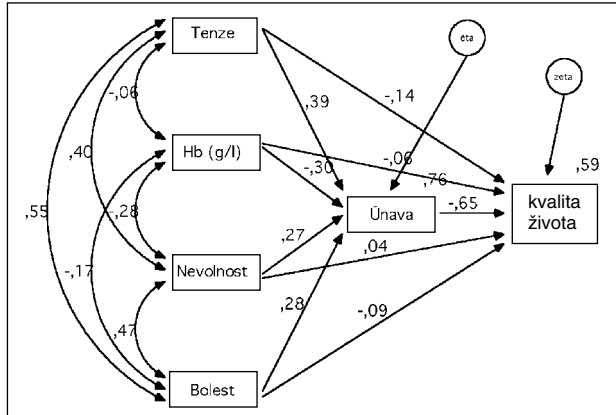




diagnózy platí poněkud jiné vztahy. Pro ilustraci uvádíme dva zčásti odlišné výsledky, které jsme zjistili u karcinomu plic a u gynekologických karcinomů. U obou diagnóz je únava klíčovým faktorem; liší se však ve vlivu ostatních faktorů.

U *karcinomu plic* je únava hlavním a (s regresní vahou -0,65) takřka jediným faktorem ovlivňujícím kvalitu života. Hladina hemoglobinu (Hb), nevolnost a bolest ovlivňují nezávisle a významně výši únavy, nikoliv však kvalitu života. Pouze psychická tenze má i zde významný nezávislý vliv na kvalitu života (beta = -0,14).

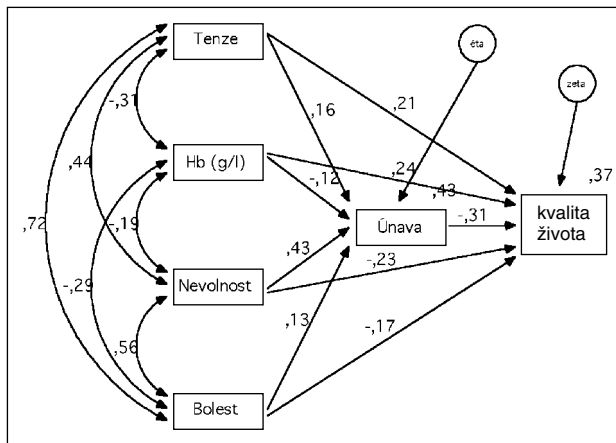
Obrázek č. 4. Model struktury vztahů mezi psychosomatickými problémy a kvalitou života u karcinomu plic.



Únava je u karcinomu plic vysvětlena ostatními čtyřmi faktory ze 76%. Kvalita života je vysvětlena spolupůsobením těchto pěti faktorů z 59%.

U *gynekologických nádorů* je situace značně odlišná. Tenze, hladina hemoglobinu, nevolnost i bolest sice vykazují i zde významné vlivy na únavu, nicméně tyto čtyři faktory vykazují současně silné a nezávislé vlivy na kvalitu života. Vliv únavy zde není relativně tak silný (beta = -0,31). Navíc zde celkově tento model nevysvětluje kvalitu života tak dobře jako u karcinomu plic (z 37%).

Obrázek č. 5. Model struktury vztahů mezi psychosomatickými problémy a kvalitou života u gynekologických nádorů.



Překvapivá je významná a kladná váha regresního koeficientu mezi tenzí a kvalitou života (beta = 0,21): čím vyšší tenze, tím lepší kvalita života těchto pacientek. Za upozornění stojí i velmi vysoká korelace mezi psychickou tenzí a bolestmi (r = 0,72).

Za zmínku dále stojí, že pacienti s karcinomem plic (KP) se od pacientek s gynekologickými karcinomy (GK) statisticky významně *neliší* v kvalitě života ( $M_{KP} = 3,51$ ;  $M_{GK} = 3,13$ ;

$t_{(109)} = 1,33$ ;  $p = 0,19$ ), v intenzitě únavy ( $M_{KP} = 2,73$ ;  $M_{GK} = 2,82$ ;  $t_{(111)} = -0,59$ ;  $p = 0,56$ ), v intenzitě bolesti ( $M_{KP} = 2,52$ ;  $M_{GK} = 2,55$ ;  $t_{(111)} = -0,19$ ;  $p = 0,85$ ), v intenzitě tenzí ( $M_{KP} = 1,98$ ;  $M_{GK} = 2,05$ ;  $t_{(111)} = -0,45$ ;  $p = 0,66$ ), v intenzitě nevolnosti ( $M_{KP} = 1,70$ ;  $M_{GK} = 2,80$ ;  $t_{(111)} = -0,76$ ;  $p = 0,45$ ) ani v hladině hemoglobinu ( $M_{KP} = 120,8$ ;  $M_{GK} = 114,4$ ;  $t_{(106)} = 1,78$ ;  $p = 0,08$ ). Jde tedy pouze o *strukturní* rozdíl.

**Analgetická terapie: její druhy, efektivita a vedlejší účinky**

V námi sledovaném souboru byli pacienti analgeticky léčeni standardními léky z celé široké škály analgetik (WHO). Vzhledem k tomu, že jsme chtěli vysledovat i některé rozdíly ve skupině silných opioidů (transdermální fentanyl proti ostatním silným opioidům), byla použita analgetika rozdělena do čtyř skupin: 1. neopioidní analgetika, 2. slabá opioidní analgetika, 3. silná opioidní analgetika morfinového typu, 4. transdermální fentanyl. Použitá analgetika a procentuální zastoupení jednotlivých analgetických skupin v souboru ukazuje tabulka číslo 4.

Tabulka č. 4. Procentuální zastoupení skupin analgetik a jednotlivá použitá analgetika.

analgetická skupina	zastoupení v souboru	použitá analgetika
neopioidní analgetika	19,8%	Ibuprofen, Diclofenat, Indomethacin, Algifen, Surgam, Paracetamol, Spasmoveralgin, H-směs, Dinyl, Valetol, Ataralgin, Ketonal
slabé opioidy	33,2%	Tramal, DHC, Valoron, Fortral, Codein, Protradon
silné opioidy morfinového typu	34,8%	MST, Vental, Slovalgin, Dipidolor, Dolsin
transdermální fentanyl	12,2%	Durogesic

Zajímalo nás dále, jaký byl vztah prováděné medikamentosní analgetické terapie k některým aspektům obecné celkové kvality života pacientů. Porovnávali jsme jednotlivé skupiny analgetické terapie s celkovou fyzickou výkonností a unavitelností, s psychickými změnami a gastrointestinálními obtížemi. Mezi jednotlivými skupinami analgetik a otázkami týkajícími se *omezení denní aktivity, koníčků, slabosti, unavitelnosti či nutnosti odpočívát* nebyly shledány zajímavější a významnější rozdíly. Procento výskytu těchto obtíží bylo ve skupině neopioidních analgetik a slabých opioidních analgetik v průměru kolem 47-53%, zatímco u silných opioidních analgetik kolem 75-80%, což lze jistě vysvětlit i tím, že slabá opioidní analgetika se spíše užívají u pacientů s mírnější bolestí a v lepším celkovém zdravotním stavu a při méně pokročilém stupni nádorového onemocnění.

Při sledování *psychické výkonnosti a psychických potíží* jsme zjistili některé zajímavé a výrazné rozdíly mezi skupinami silných opioidů (viz tabulka číslo 5). Při srovnání silných opioidů morfinového typu s transdermálním fentanylem vyznívají tyto rozdíly v oblasti napětí, soustředění a paměti výrazně v neprospěch silných opioidů morfinového typu.

Podobně zajímavé rozdíly vycházely i v oblasti *gastrointestinálních potíží* v závislosti na prováděné analgetické terapii. Jak ukazuje tabulka číslo 6, byl výskyt žaludečních potíží, nechutenství, zvracení a zácpy ve skupině silných opioidů mor-

Tabulka č. 5. Analgetická terapie a psychické problémy.

analgetická terapie	poruchy soustředění	pocit napětí	zhoršená paměť
neopioidní analgetika	29,8%	26,6%	14,9%
slabé opioidy	27,6%	33,0%	11,9%
silné opioidy morfinového typu	55,9%	38,4%	34,8%
transdermální fentanyl	42,5%	25,5%	17,2%

Tabulka č. 6. Analgetická terapie a GIT obtíže.

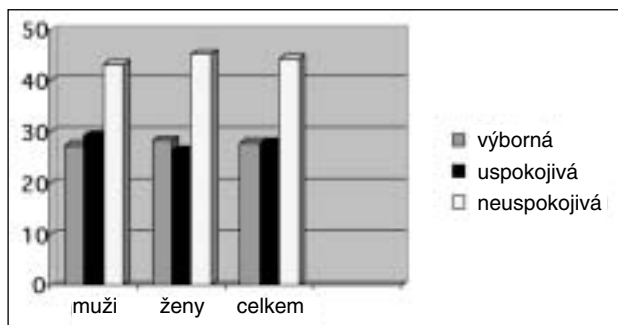
analgetická terapie	nechutenství	žaludeční obtíže	zvracení	zácpa
neopioidní analgetika	38,9%	13,6%	3,9%	20,9%
slabé opioidy	39,7%	12,2%	5,8%	16,9%
silné opioid morfiového typu	54,0%	29,2%	16,4%	34,8%
transdermální fentanyl	46,9%	21,6%	9,6%	21,3%

fiového typu výrazně vyšší než u skupiny léčené transdermálním fentanylem. Procento zácpy ve skupině léčené fentanylem bylo prakticky stejné jako ve skupině neopioidních analgetik a skupině slabých opioidních analgetik.

Celkový efekt analgetické terapie byl zjišťován dotazem na průměrnou bolest v uplynulém týdnu. Užitá byla vizuální analogová škála (VAS) s rozpětím hodnot 1 - 10. Za vynikající efekt analgetické terapie označujeme v této studii hodnoty 0 až 3, za uspokojivý efekt hodnoty 4-5 a za neuspokojivý efekt hodnoty 6-10. Průměrnou hodnotou v této škále u celého sledovaného souboru bylo 6,3.

Výsledky ukazuje graf číslo 2. Jako neuspokojivou analgetickou terapii hodnotilo v celém souboru 44,26% dotazovaných. Když jsme rozdělili soubor dle pohlaví, ukázalo se, že o něco hůře hodnotili analgetickou terapii ženy (45,22% neuspokojivé analgetické terapie) než muži (43,24%).

Graf č. 2. Efektivita analgetické terapie.



Pokusili jsme se analyzovat výskyt bolesti v jednotlivých skupinách analgetické terapie. Měli jsme možnost hodnotit tlumení bolesti jako takové a dále posouzení tlumení bolesti denní a noční. Výsledky ukazuje tabulka číslo 7. Čísla uvedená v tabulce ukazují procentuální výskyt přítomnosti středně silné a silné bolesti při užití jednotlivých skupin analgetik.

Tabulka č. 7. Analgetická terapie a bolest.

analgetická terapie	bolest	bolest ve dne	bolest v noci
neopioidní analgetika	46,5%	56,0%	42,5%
slabé opioidy	54,3%	57,1%	43,5%
silné opioidy morfiového typu	67,6%	74,3%	62,9%
transdermální fentanyl	68,1%	77,6%	60,5%

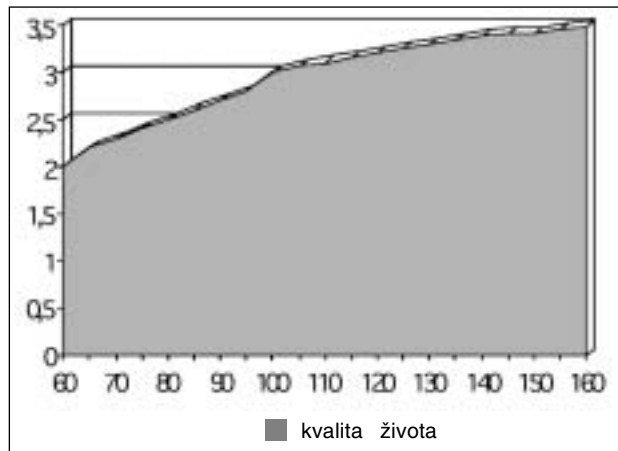
Tlumení bolestí ve skupině neopioidních analgetik a slabých opioidů je vyšší než ve skupině silných opioidů, což souvisí jistě i s užitím silných opioidů u výraznějších a intenzivnějších bolestí. Skupina silných opioidů, rozdělená zde uměle na silné opioidy morfiového typu a transdermální fentanyl, poskytuje srovnatelnou účinnost analgetické léčby. Jak vyplývá z prací Ahmedzaie et al. (1994, 1997), Donnera (1996) Donnera et al. (1998) i Sloana (1998), transdermální fentanyl poskytuje srovnatelnou účinnost s perorálním morfinem při současně nižším výskytu vedlejších účinků léčby. Shodně

závěry vyplývají i ze zpracovaných materiálů získaných dotazníkovou akcí i z našich českých pracovišť (Výsledky průzkumu na kvalitu života onkologických pacientů, 2001).

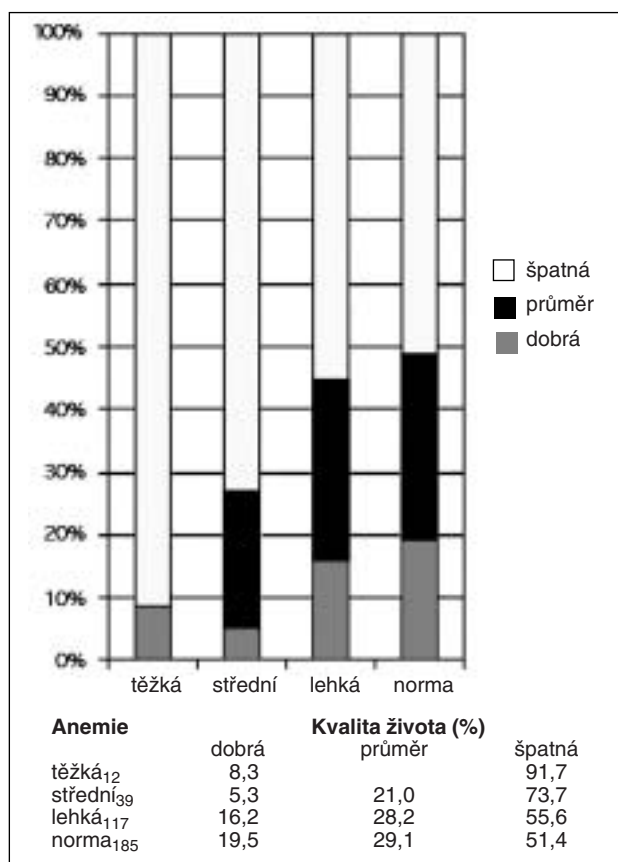
### Anemie, únava a kvalita života

Jak jsme již ukázali, nemá hladina hemoglobinu (míra anemie) bezprostřední vliv na kvalitu života. Odhlédneme-li však od ostatních faktorů v modelu, lze zjistit vztahy mezi kvalitou života a tíží anemie. Grafy číslo 3 a 4 dokumentují skutečnost, že kvalita života je určitou funkcí míry anemie.

Graf č. 3. Vztah mezi hladinou hemoglobinu a kvalitou života.

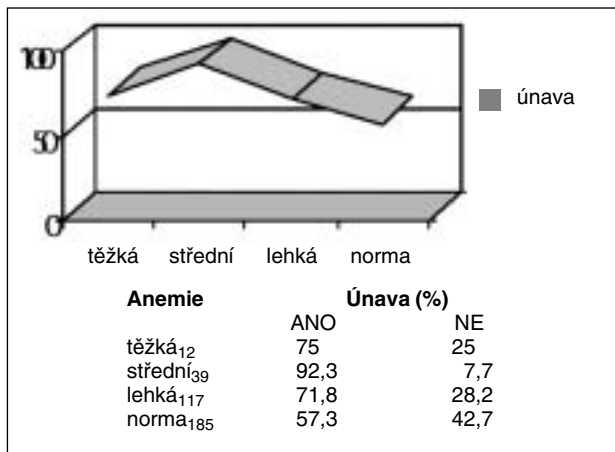


Graf č. 4. Kvalita života a anemie.



Vliv hloubky anemie na únavu, která je pro kvalitu života rozhodující, ukazuje pak graf číslo 5. (Menší ovlivnění únavy při těžké anemii je dle našeho názoru způsobeno chybou malých čísel.)

Graf č. 5. Únava a anemie.



## DISKUSE A ZÁVĚR

Vlivy onemocnění a jeho terapie na psychosomatické problémy a tím i kvalitu života jsou jednak přímé (vnímání a reflexe změn, k nimž dochází v důsledku destrukce rozmanitých buněk a tkání), jednak nepřímé, způsobené sekundárními důsledky onemocnění a jeho léčby.

Pořadí psychosomatických faktorů, jež komplikují onkologickým pacientům život, poukazuje na základní vliv *únavy*. Po únavě následují bolesti a psychické tenze. Pořadí důležitosti těchto dvou faktorů může být v různých forem karcinomu patrně odlišné. Na poslední dvě místa se řadí žaludeční potíže a zácpa/průjem. Testovaný *strukturní model* ukazuje, že bolest, nevolnost, psychické tenze a rovněž hladina hemoglobinu mají sice na kvalitu života rovněž přímý vliv, jejich vliv je však především zprostředkovaný: tyto proměnné především spoluurčují míru únavy, která je sama klíčovým faktorem ovlivňujícím kvalitu života onkologických pacientů. Dále se ukázalo, že vliv únavy na kvalitu života je závislý na typu diagnózy. U některých diagnóz (například u karcinomu plic) je únava klíčovým a takřka jediným faktorem, ovlivňujícím kvalitu života, u jiných (například u gynekologických karcinomů) je únava jedním z více v principu takřka rovnocenných faktorů,

ovlivňujících kvalitu života pacientek. Kromě komplementárních experimentálních šetření by ovšem bylo třeba tento model ověřovat na větších skupinách pacientů se stejnými diagnózami. Tato strategie by umožnila testovat rozdíly jak v pořadí psychosomatických problémů, s nimiž se setkávají onkologičtí pacienti s různými diagnózami, tak ve struktuře vztahů mezi těmito psychosomatickými problémy a kvalitou života. Při sledování vlivů léčby na kvalitu života a míru únavy jsme došli k potěšujícím závěrům. Kvalita života našeho souboru onkologických pacientů nebyla ovlivněna použitou modalitou onkologické léčby. V oblasti výskytu únavy jsme zjistili signifikantně nižší míru únavy při užití kurativní radioterapie v porovnání s pacienty léčenými paliativní radioterapií. Vysvětlení je v celkově lepším zdravotním stavu pacientů léčených s kurativním záměrem (méně pokročilé stavy onkologického onemocnění). Tato nižší míra výskytu únavy jistě svědčí i o dobré a kvalitní podpůrné terapii při kurativně prováděné radioterapii.

Při shrnutí efektivity analgetické terapie ve sledovaném souboru můžeme konstatovat, že dostatečná analgetická odpověď byla navozena u 55,74% pacientů (výborný + uspokojivý efekt analgetické terapie – viz graf č. 2). Tyto závěry by pro nás mohly být uspokojivé, vezmeme-li v potaz údaje ze světového písemnictví, kde je udáváno, že 50-80% nádorové bolesti je nedostatečně léčeno. I když nemůžeme principiálně od analgetické léčby u nádorových onemocnění očekávat vymizení bolesti (cílem je jistě vymizení bolesti, lze ale akceptovat i snížení intenzity bolesti na přijatelnou, neobtěžující úroveň) vyplynul z dotazníkové akce další zajímavý údaj. Pacienti léčení neoploidními analgetiky a slabými opioidy udávali přítomnost bolesti v 48,9%, pacienti léčení silnými opioidy (silné opioidy + transdermální fentanyl) měli přítomnou bolest v 67,8%. Otázkou zůstává, proč je u těchto pacientů bolest nedostatečně tlumena, jestliže se udává, že až 90% pacientů s nádorovou bolestí může být efektivně léčeno. Z pohledu farmakoterapie by jednou z možných odpovědí mohlo být, že u pacientů užívajících slabá analgetika se příliš dlouho vyčkává s přechodem na 3. stupeň analgetického žebříčku - silná opioidní analgetika. U pacientů užívajících silná opioidní analgetika pak nedostatečná volba dávky či nevyužití možnosti rotace opioidů. Zde jistě máme rezervy a možnosti, jak našim pacientům zmírnit bolest a zkvalitnit tak jejich život.

## Literatura

- Ahmedzai S. et al.: Transdermal fentanyl in cancer pain. The TTS – Fentanyl Multicentre Study group. *Journal of Drug Development* 6, 1994, 93-97
- Ahmedzai S. et al.: Transdermal fentanyl versus Sustained-release Oral Morphine in Cancer Pain :Preference, Efficacy and Duality of Life. *Journal of Pain and Symptom Management* 13, 5, 1997, 254-261
- Breitbart W.,Chander S.et al.: An Alternative Algorithm for dosing Transdermal fentanyl for Cancer-Related Pain. *Oncology* 14, 2000, 695-705
- Bullinger, M., Siegrist, J., Ravens-Sieberer, U. (Hrsg.): *Lebensqualitätsforschung aus medizinpsychologischer und soziologischer Perspektive*. Göttingen: Hogrefe, 2000.
- Donner B.: Direct conversion from oral morphine to transdermal fentanyl: a multicenter study in patients with cancer pain. *Pain* 64, 1996, 527-534
- Donner B et al.: Long term treatment of cancer pain with transdermal fentanyl. *Journal of Pain and Symptom Management* 15, 1998, 168-175
- Harper, P.: Recent progress in improving quality of life in cancer patients. *International Journal of Pharmaceutical Medicine* 14, 2000, 66-67.
- Hnilica, K.: *Výzkum kvality života žen s karcinomem prsu. (Závěrečná zpráva.)* Praha: Janssen-Cilag/IRBIS/ARCUS, 2001a.

- Hnilica, K.: *Výzkum kvality života onkologických pacientů. (Závěrečná zpráva.)* Praha: Janssen-Cilag/IRBIS, 2001b.
- Hnilica, K.: Kvalita života onkologických pacientů. *Československá psychologie* 46, 2002, 22-34.
- Chen, C. C., David, A. S., Nunnerley, H., Michell, M., Dawson, J. L., Berry, H., Dobbs, J., & Fahy, T.: Adverse life events and breast cancer: A case-control study. *British Medical Journal* 311, 1995, 1527-1530.
- Itri, L. M.: Epoetin alfa intervention for anemia-related fatigue in cancer patients. In M. Marty a S. Pecorelli (Eds.): *Fatigue and Cancer*. Amsterdam: Elsevier 2001, 129-143.
- Khayat, D.: The many causes of quality of life deficit in cancer patients. *International Journal of Pharmaceutical Medicine* 14, 2000, 70-71.
- Klener, P.,Vorlíček, J.: *Podpůrná léčba v onkologii*. Galén 1998
- Marty, M., Pecorelli, S. (Eds.): *Fatigue and Cancer*. Amsterdam: Elsevier 2001
- Sloan P. A. et al.: A Clinical Evaluation of Transdermal Therapeutic systém Fentanyl for the Treatment of the Cancer Pain. *Journal of Pain and Symptom Management* 16, 1998, 102-111
- Výsledky průzkumu na kvalitu života onkologických pacientů.* Dux-Consulting, 2001

**PŘÍLOHA 1 – DOTAZNÍK**

Iniciály pacienta:																																																																																	
Rok narození:					Pohlaví: muž žena																																																																												
Datum vyplnění:																																																																																	
<table style="width:100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th colspan="10"></th> <th align="center">ano</th> <th align="center">ne</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td colspan="10">1. Unavuje Vás vykonávání namáhavějších činností, jako je nošení těžkých nákupů nebo kufrů ?</td> <td align="center">1</td> <td align="center">2</td> </tr> <tr> <td colspan="10">2. Unavují Vás dlouhé procházky?</td> <td align="center">1</td> <td align="center">2</td> </tr> <tr> <td colspan="10">3. Unavuje Vás krátká chůze venku?</td> <td align="center">1</td> <td align="center">2</td> </tr> <tr> <td colspan="10">4. Musíte zůstat v posteli nebo na židli po většinu dne?</td> <td align="center">1</td> <td align="center">2</td> </tr> <tr> <td colspan="10">5. Potřebujete pomoc při jídle, oblékání, mytí nebo použití WC?</td> <td align="center">1</td> <td align="center">2</td> </tr> </tbody> </table>																				ano	ne	1. Unavuje Vás vykonávání namáhavějších činností, jako je nošení těžkých nákupů nebo kufrů ?										1	2	2. Unavují Vás dlouhé procházky?										1	2	3. Unavuje Vás krátká chůze venku?										1	2	4. Musíte zůstat v posteli nebo na židli po většinu dne?										1	2	5. Potřebujete pomoc při jídle, oblékání, mytí nebo použití WC?										1	2
										ano	ne																																																																						
1. Unavuje Vás vykonávání namáhavějších činností, jako je nošení těžkých nákupů nebo kufrů ?										1	2																																																																						
2. Unavují Vás dlouhé procházky?										1	2																																																																						
3. Unavuje Vás krátká chůze venku?										1	2																																																																						
4. Musíte zůstat v posteli nebo na židli po většinu dne?										1	2																																																																						
5. Potřebujete pomoc při jídle, oblékání, mytí nebo použití WC?										1	2																																																																						
<b>Během minulého týdne:</b>										<b>vůbec ne</b>	<b>trochu</b>	<b>dost</b>	<b>velmi</b>																																																																				
6. Byl/a jste omezen/a ve své práci nebo při jiných každodenních činnostech?										1	2	3	4																																																																				
7. Byl/a jste omezen/a ve svých koníčcích nebo jiných činnostech ve svém volném čase?										1	2	3	4																																																																				
8. Pociťoval/a jste nedostatek dechu?										1	2	3	4																																																																				
9. Měl/a jste bolesti?										1	2	3	4																																																																				
10. Ohodnoťte prosím svou bolest zakroužkováním jednoho čísla, které nejlépe vystihuje vaši průměrnou bolest v uplynulém týdnu.																																																																																	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	nesnesitelná																																																																							
žádná																																																																																	
<b>Během minulého týdne:</b>										<b>vůbec ne</b>	<b>trochu</b>	<b>dost</b>	<b>velmi</b>																																																																				
11. Musel/a jste odpočívat?										1	2	3	4																																																																				
12. Měl/a jste potíže se spaním vyvolané bolestí?										1	2	3	4																																																																				
13. Cítil/a jste se slabý/á?										1	2	3	4																																																																				
14. Chyběla Vám chuť k jídlu?										1	2	3	4																																																																				
15. Měl/a jste žaludeční obtíže?										1	2	3	4																																																																				
16. Zvracel/a jste?										1	2	3	4																																																																				
17. Měl/a jste zácpu?										1	2	3	4																																																																				
18. Měl/a jste průjem?										1	2	3	4																																																																				
19. Byl/a jste unaven/a?										1	2	3	4																																																																				
20. Narušovala bolest Vaše každodenní aktivity?										1	2	3	4																																																																				
21. Bylo obtížné se soustředit na takové věci, jako je čtení novin nebo sledování televize?										1	2	3	4																																																																				
22. Cítil/a jste napětí?										1	2	3	4																																																																				
23. Cítil/a jste obavy?										1	2	3	4																																																																				
24. Cítil/a jste podráždění?										1	2	3	4																																																																				
25. Pociťoval/a jste stísněnost?										1	2	3	4																																																																				
26. Měl/a jste potíže zapamatovat si věci?										1	2	3	4																																																																				
27. Zasahovala Vaše fyzická kondice nebo léčba do Vašeho rodinného života?										1	2	3	4																																																																				
28. Zasahovala Vaše fyzická kondice nebo léčba do Vašich společenských aktivit?										1	2	3	4																																																																				
29. Způsobila Vám Vaše fyzická kondice finanční obtíže?										1	2	3	4																																																																				
30. Způsobila Vám léčba finanční obtíže?										1	2	3	4																																																																				
U následujících otázek prosím zakroužkujte v rozmezí od 1 do 7 tu odpověď, která se pro Vás nejlépe hodí																																																																																	
31. Jak byste ohodnotil/a svoje celkové zdraví v průběhu minulého týdne?										1	2	3	4	5	6	7																																																																	
velmi špatné								vynikající																																																																									
32. Jak byste ohodnotil/a svoji celkovou kvalitu života v průběhu minulého týdne?										1	2	3	4	5	6	7																																																																	
velmi špatná								vynikající																																																																									
33. S kterými z uvedených obtíží jste se svěřil/a lékaři?																																																																																	
.....																																																																																	
34. S kterými z uvedených obtíží jste se lékaři nesvěřil/a?																																																																																	
.....																																																																																	
<b>Vyplní ošetřující lékař</b>																																																																																	
Iniciály pacienta:					Pohlaví: muž žena																																																																												
Rok narození:					Jméno lékaře:																																																																												
Datum vyplnění:																																																																																	
Základní diagnóza pacienta:																																																																																	
Typ chemoterapie:																																																																																	
Aktinoterapie: ano ne					Pokud ano, uveďte typ: kurativní paliativní																																																																												
Hodnota Hb: ..... g/l																																																																																	
HKT:					Název přípravku:																																																																												
Současná léčba bolesti:																																																																																	
Způsob podání:					Celková denní dávka (mg, g):																																																																												
Zahájení (měsíc/rok):																																																																																	
Ukončení (měsíc/rok nebo označte zda pokračuje):																																																																																	



## DIFÚZNÍ B-VELKOBUNĚČNÝ LYMFOM PROJEVUJÍCÍ SE JAKO AUTOIMUNNÍ HEMOLYTICKÁ ANEMIE. DIAGNOSTICKÁ ÚSKALÍ

### DIFFUSE LARGE B-CELL LYMPHOMA MANIFESTING AS AUTOIMMUNE HEMOLYTIC ANEMIA. DIAGNOSTIC PITFALLS

SOUKUP P.<sup>1</sup>, MAALOUF J.<sup>1</sup>, KOUBA M.<sup>1</sup>, PÍSAČKA M.<sup>1</sup>, KAČÍRKOVÁ P.<sup>1</sup>, ČERMÁK J.<sup>1</sup>, POHLREICH D.<sup>1</sup>,  
PYTLÍK R.<sup>2</sup>, CETKOVSKÝ P.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ÚSTAV HEMATOLOGIE A KREVŇÍ TRANSFÚZE, PRAHA

<sup>2</sup> I. INTERNÍ KLINIKA VŠEOBECNÁ FAKULTNÍ NEMOCNICE, PRAHA

**Souhrn:** Autoimunní hemolytická anémie (AIHA) s tepelnými i chladovými protilátkami je relativně vzácné onemocnění, které bývá často sdružené s jinými nemocmi, například s maligními lymfoproliferacemi. Zde uvádíme případ pacientky s difúzním velkobuněčným B-lymfomem s postižením kostní dřeně, který se manifestoval jako těžká AIHA s tepelnými i chladovými protilátkami a byl jako AIHA léčen. Až časný relaps AIHA vedl k odhalení základní diagnózy. Pacientka byla dále léčena kombinovanou chemoterapií s Rituximabem, která vedla k rychlému vymizení titrů jak tepelných tak chladových protilátek. Uvádíme dále přehled literatury a zdůrazňujeme nutnost včasného vyšetření kostní dřeně před zahájením imunosupresivní léčby pro AIHA.

**Klíčová slova:** autoimunní hemolytická anémie, difúzní velkobuněčný lymfom, rituximab

**Abstract:** Autoimmune hemolytic anemia (AIHA) with combined warm and cold agglutinins is a relatively rare disorder, frequently associated with other diseases, e.g. malignant lymphomas. We report a case of diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) with bone marrow infiltration with initial manifestation as severe AIHA with warm and cold agglutinins. The patient received therapy for AIHA until early relapse unmasked the underlying malignancy. The patient then received combination chemotherapy with Rituximab (anti-CD20 monoclonal antibody), which led to rapid disappearance of antibody titres. We include a review of literature and emphasise the importance of early bone marrow examination before starting immunosuppressive therapy for AIHA.

**Keywords:** autoimmune haemolytic anaemia, diffuse large B-cell lymphoma, rituximab

#### Úvod

Autoimunní hemolytická anémie (AIHA) s tepelnými i chladovými protilátkami byla poprvé popsána v roce 1969[9] a navržena coby samostatná klinická jednotka v roce 1985 Shulmanem a kol. [1]. Její incidence se uvádí kolem 8% všech případů AIHA. Bývá často sdružena s jinými onemocněními: nejčastěji jde o systémový lupus erythematosus (SLE) či jiné autoimunní systémové onemocnění nebo maligní lymfoproliferace či jiné onemocnění [2,3,4,5]. Hemolýza může být poměrně těžká a přes iniciační dobrou odpověď na kortikoidy [1,7] může tato AIHA recidivovat či přecházet do formy chronické hemolytické anémie a vyžadovat tak další léčbu, která však nebývá tak účinná, jako v případě klasického typu AIHA s tepelnými protilátkami. V případě sekundární AIHA je nutné závčas diagnostikovat a zaléčit primární příčinu.

#### Popis případu

U 37-leté pacientky, bez významnějšího předchorobí se od začátku prosince 2002 začala objevovat progredující únava, dušnost, tinitus, vertigo a otoky dolních končetin. 22. 12. 2002 byla akutně přijata do okresní nemocnice pro celkové zhoršení stavu, febrilie (až 40 °C) a kolapsy. Byla zjištěna těžká makrocytární anémie s mírnou leukocytózou a normálním počtem destiček, dále hyperbilirubinémie a pozitivita přímého Coombsova testu. Stav uzavřen jako suspektní AIHA a byla zahájena terapie kortikoidy (Solumedrol 1g denně). Dne 23. 12. byla pacientka přeložena na naše pracoviště. Na základě imunohematologického vyšetření potvrzena diagnóza AIHA s tepel-

nými i chladovými protilátkami (IgG negativní, pozitivní chladové, stopy tepelných, C3c a C3d pozitivní, anti-I a anti-i pozitivní-viz Tabulka 1). Bylo pokračováno v podávání kortikoidů ve stejné dávce, po osmi dnech, vzhledem k minimálnímu efektu, přidán cyklofosfamid (200 mg i.v.). Pro neuspokojivý účinek této kombinace byly za další čtyři dny zahájeny plasmaferézy (celkem 5 sezení s výměnou 2000 ml plasmy a substitucí 5% albumínem). Došlo ke stabilizaci červeného krevního obrazu, výraznému poklesu titru všech protilátek a normalizaci hodnot bilirubinu. Současně s plasmaferézami se snižovala dávka kortikoidů i cyklofosfamidu, jehož podávání bylo pro trombocytopenii záhy ukončeno. Od počátku bylo pátráno po eventuální primární příčině tohoto stavu, provedli jsme kompletní náběry k objasnění virologické, imunologické, revmatologické a infekční etiologie, či etiologie nádorové a také CT hrudníku, břicha, malé pánve. Na základě jediných signifikantních nálezů (CA 125-69 IU/l, a cystoid pravého ovária dle CT) indikováno gynekologické vyšetření, které však bylo negativní. Kontrolní hladina Ca 125 již prakticky v normě (31,6, norma < 35 kIU/l), Elektroforéza bílkovin neprokázala přítomnost M komponenty. Dále provedena aspirace kostní dřeně s cytologickým nálezem pro AIHA atypicky těžké dyserytropoezy, s 3% atypických lymfoidních elementů (FACS negativní ve smyslu klonální lymfoproliferace). Následná trepanobiopsie neprokázala přítomnost maligních lymfoidních elementů, pouze hypocelulární hematopoezu s hyperplázií erytropoezy. Pacientka byla v dobrém klinickém stavu propuštěna 24. 1. 2003 do ambulantní péče se stabilním červeným krev-

ním obrazem, normálními biochemickými parametry a nulovým titrem chladových protilátek. Byla převedena na perorální podávání kortikoidů (Prednison 80 mg).

Během ambulantního období (od 24.01 do 20.03.2003) byly hodnoty krevního obrazu stabilizované v mezích normy při terapii Prednisone 40 mg p.o. a Cyclofosfamidem 50 mg p.o. až do 20.3., kdy dochází po viróze k poměrně náhlému poklesu hodnot červeného krevního obrazu. Pacientka byla akutně přijímána dne 27. 3. s recidivou AIHA s vysokým titrem chladových protilátek a přítomností i tepelných protilátek (Tabulka 1). Vzhledem k předchozím zkušenostem byla okamžitě zahájena kombinovaná imunosuprese (Solumedrol 250 mg a Cyklofosfamid 150 mg p.o. a provedeny plazmaferézy (celkem 14x, viz tab.). Skutečnost, že se jedná o velmi časný relaps nás vedla k zopakování veškerých vyšetření pátrajících po primární příčině, včetně CT a aspirace kostní dřevě. Kromě poněkud objemnější sleziny ve srovnání s předchozím CT, nebyla prokázána žádná patologie. Vyšetření aspirátu kostní dřevě bylo bez výraznějších atypií, CA 125-19 kIU/l (v mezích normy). Pro prudký pokles hodnoty trombocytů bylo podáváno Cyklofosfamidu po týdnu ukončeno. Přesto nadále setrvává trend výrazného poklesu trombocytů, těžká anemie a neustále vysoký titr protilátek. Proto bylo 16.4. zopakováno vyšetření kostní dřevě včetně trepanobiopsie. Cytologicky v kostní dřevě nalezeno 36,6% lymfoidních blastických elementů s odpovídajícím nálezem při cytometrickém vyšetření (37 % CD 19,20,22,38, FMCT a LC kappa+). Cytogeneticky nález 48 XX, s rozsáhlými změnami karyotypu (FISH na c-myc normální; IgH 2 kopie na chromozomu 14 a třetí kopie na marker chromozomu; BCL-2 3 kopie genu nejspíše při trisomii chromozomu 18 a čtvrtá kopie na marker chromozomu. Hybridizační studie probíhá). Histologicky z trepanobiopsie kostní dřevě potvrzena diagnóza difúzního velkobuněčného B-lymfomu. 16.4. dochází k výraznému zhoršení celkového stavu s kvalitativní poruchou vědomí, hyperkalcémií, hyperfosfatémií a laboratorními známkami pre-renální insuficience (Ca - 4.09 mmol/l, P - 2.48 mmol/l, K - 4.8 mmol/l, U - 27.8 mmol/l, Kr - 88 umol/l, LD 12.0 ukat/l, bilirubin - 42.7 umol/l, B2-mikroglobulin - 3.6 ug/l, CA 125- 83.2 IU/l, Clearance Kr 0.7 ml/s, Tubulární resorpce - 0.954). Stav zvládnut konzervativní léčbou (hyperhydratace, bifosfonáty, kalcitonin, atd.) a dne 18. 4. zahájen první cyklus R-CHOP (Rituximab den 1 a 15, Cyklofosfamid, Vincristin, Adriamycin, Prednison-modifikovaná dávka vzhledem k již chronické kortikoterapii). Chemoterapii pacientka snesla bez výraznějších komplikací. Od osmého dne cyklu podáváno G-CSF pro neutropenii, celkem 12 dní. Titr jak chladových tak tepelných protilátek promptně poklesl na nulové hodnoty (Tabulka 1). V době odeslání této publikace pacientka po druhém cyklu R-CHOP dosáhla kompletní dřeňové remise. V plánu podání celkem tří cyklů tohoto režimu a následně 3 cykly ESAP (včetně mobilizačního) s následnou vysokodávkovanou chemoterapií s podporou autologních kmenových krvetvorných buněk.

## Diskuse

AIHA s kombinovanými tepelnými a chladovými protilátkami je relativně vzácnou klinickou jednotkou. Často bývá sekundární při základním systémovém onemocnění nebo v rámci maligní nemoci nejčastěji lymfoproliferace (většinou níže a středně maligní B-lymfoproliferace). Jako v případě klasické AIHA s tepelnými protilátkami zahrnuje léčba v první řadě imunosupresi a to hlavně kortikoidy, eventuálně s přidáním cyklofosfamidů či cyklosporínu A. Dále lze zvažovat splektomii, podávání imunoglobulinů, Danazol či provádění plazmaferéz, které sice mohou z oběhu přechodně odstranit IgM protilátky ale jejichž efekt bývá dočasný. Nové modality zahrnují podávání anti-CD 20 monoklonální protilátky (ritu-

ximab), kdy výsledky zejména u sekundárních AIHA s chladovými protilátkami jsou celkem povzbudivé [5,7,8]. Účinnost Rituximabu v těchto popsaných případech lze vysvětlit i faktem, že se jedná o sdruženou AIHA s maligní lymfoproliferací, nejčastěji typu B-non Hodgkinského lymfomu, kde Rituximab se stává součástí léčebných protokolů [10,11]. V případě maligních lymfoproliferací může AIHA jednak onemocnění předcházet, jednak se vyskytovat současně [2]. Zdá se, že chladové protilátky jsou produktem maligního klonu [4] ale přesný mechanismus jejich vzniku nebyl zatím podrobně vysvětlen [2]. Cytogeneticky byl pozorován častější výskyt trizomie chromozomu 3 v případech AIHA s chladovými protilátkami sdruženou s maligními lymfomy [6].

U naší pacientky v době stanovení diagnózy probíhala velice těžká hemolýza s přítomností tepelných i chladových protilátek spolu s aktivací komplementu a IgM anti I a anti-i protilátek (Tabulka 1). Počáteční léčba vysokými dávkami metylprednisolonem nevedla k očekávanému zlepšení (jak laboratornímu tak klinickému), proto byl přidán cyklofosfamid a po několika dnech byly zahájeny plazmaferézy. Pátrání po eventuální primární příčině neprokázalo žádnou významnou patologii, kromě zvýšené hodnoty CA-125 a cytologického nálezu z aspirátu kostní dřevě, kde byla popsána těžká dysplázie červené krevní řady a přítomnost 3 % atypických lymfoidních elementů. Imunofenotypizační vyšetření neprokázalo klonalitu těchto elementů, cytogeneticky byl zcela normální nález, ani histologické vyšetření kostní dřevě nepotvrdilo nic, co by svědčilo pro lymfoidní patologii. V době provedení vyšetření kostní dřevě byla pacientka již 10 dní léčena vysokými dávkami kortikoidů a 4 dny cyklofosfamidem. Tato intenzivní terapie byla nezbytně nutná pro velice těžkou probíhající hemolýzu. Vzhledem k tomu, že pacientka nakonec zareagovala na kombinovanou terapii (normalizace krevního obrazu a titru chladových i tepelných protilátek), byl stav uzavřen jako idiopatická AIHA. U nemocné došlo velice záhy k relapsu hemolýzy, který byl rezistentní k dříve účinné terapii. Na základě této skutečnosti, znovu provedené vyšetření kostní dřevě (cytologie, FACS, histologie) potvrdilo diagnózu difúzního velkobuněčného B-lymfomu a byla zahájena příslušná léčba.

Vzhledem k tomu, že vysoce maligní lymfomy jsou výborně citlivé na podávání kortikosteroidů a cyklofosfamid (většinou součást standardní chemoterapie lymfomů), je velice pravděpodobné, že v době provedení iniciačního vyšetření kostní dřevě a CT vyšetření, kdy byla pacientka již několik dní léčena těmito léky pro těžkou hemolýzu, byla nálož nádoru snížena a maligní lymfom proto nebyl diagnostikován. Ke stanovení diagnózy došlo až při relapsu, kdy byly podávány nižší dávky kortikoidů (podávání cyklofosfamidu bylo přerušeno pro těžkou trombopenii) a nádorová nálož byla již vyšší po iniciační přechodné odpovědi. Třetí vyšetření kostní dřevě s nálezem infiltrace maligními lymfoidními buňkami bylo tak definitivní z hlediska diagnostiky.

Je známo, že podávání dokonce i nízkých dávek kortikosteroidů může pozměnit cytologický i histologický nález a tím výrazně znesnadnit stanovení diagnózy především lymfoproliferativních onemocnění (například podávání kortikoidů u alekemie akutní lymfoblastové leukémie, kdy je podezření na těžkou aplastickou anémii může vést k oddálení diagnózy a potažmo cílené léčby). Jelikož je AIHA s chladovými protilátkami u jinak zdravých jedinců poměrně vzácné onemocnění, je vždy nutné pátrat po primární příčině a je zejména potřeba hned zpočátku vyloučit lymfoproliferativní onemocnění. Z výše uvedeného vyplývá, že je vhodné provádět vyšetření kostní dřevě před zahájením kortikoterapie, což, jak se však ukázalo v tomto případě, není vždy možné vzhledem k probíhající, život ohrožující hemolýze.

**Tabulka 1. Dynamika titrů protilátek, krevního obrazu a biochemických parametrů.**

Datum	Hgb	Retik	Plt	LD	Bili	IgG	C3c	C3d	v 37 °C	v 4 °C	t 4 °C I	t 4 °C i	t 4 °C vl
23. 12.	3,7	54	186	8,5	55,4	neg	2+	3+	stopy	4+	253	8	4000
27. 12.	4,9	177	172	7,4	33,8	neg	neg	2+	neg	4+	512	16	4000
30. 12.	5,5	83	177	7,5	37,3	neg	4+	3+	neg	4+	nt	nt	nt
02. 01.	4,1	83	506	7,5	37,3	neg	1+	3+	stopy	4+	2000	8000	4000
06. 01.	9,8	69	182	5,2	23,7	neg	1+	1+	neg	1+-2+	128	128	128
08. 01.*	11,0	np	199	np	26,8						16	neg	16
08. 01.!											16	neg	16
10. 01.	9,8	np	168	np	21,6	neg	stopy	1+	neg	neg	16	neg	16
20. 01.	10,1	8	69	6,1	7,9				neg	neg	8	neg	2
28. 01.	13,4	40	217	10,9	9,5	neg		1+	neg	neg			
27. 02.	14,3	27	256	12,9	6,8	neg		neg	neg	neg			
21. 03.	10,2	49	290	10,4	36,9	neg		3+	neg	1+			
27. 03.	5,6	48	489	12	68,4	neg	4+	3+	1+	4+	2000	4000	4000
03. 04.	7,0	90	70	np	25,8	1+	1+	1+	2+	4+	4000		
07. 04.	7,7	37	29	5,3	42,4	neg		2+	2+	3+	512	1000	1000
11. 04.	6,0	11	19	9,6	71,6	neg		2+	neg	3+	2000		
14. 04.	7,3	4	13	10,4	44,6	stopy		3+	stopy	4+	1000	32	1000
18. 04.	7,8	np	17	14	40,5								
22. 04.	9,8	11	44	13,1	10,3			2+	neg	2+	256	512	256
28. 04.	10,1	3	9	7,4	14,6	neg		1+	neg	stopy	64	neg	32
06. 05.	11,2	np	36	np	8,0	neg		neg	neg	neg			

Hgb = hemoglobin; retik = retikulocyty (promile); plt = trombocyty; LD = laktát dehydrogenáza; bili = celkový bilirubin; v 37 °C = volné protilátky při 37 °C; v 4 °C = volné protilátky při 4 °C; t 4 °C I = titr anti-I protilátek při 4 °C; t 4 °C i = titr anti-i protilátek při 4 °C; t 4 °C vl = titr volných protilátek při 4 °C; neg = negativní; nt = netitrováno; np = neprovedeno; \* = před plasmaferézou; ! = po plasmaferéze

**Tabulka 2. Přehled léčby.**

Datum	Kortikoidy	Cyklofosamid	Plasmaferéza	ERD	Tromb
<b>1. hospitalizace (23. 12. 2002- 24. 01. 2003)</b>					
23. 12. 2002	1000 mg SM				
30. 12. 2002	1000 mg SM	200 mg i. v.			
03. 01. 2003	1000 mg SM	200 mg i. v.	Ano (3. 1.-5. 1.)*		
06. 01. 2003	500 mg SM	200 mg i. v.	Ano*		
10. 01. 2003	250 mg SM	200 mg i. v.	Ano*		
13. 01. 2003	125 mg SM				
22. 01. 2003	80 mg PDN			17 TU	0
<b>Ambulantní sledování</b>					
28. 01. 2003	40 mg PDN	50 mg p. o.			
<b>2. hospitalizace (27. 03. 2003-12. 05. 2003)</b>					
27. 03. 2003	250 mg SM	150 mg p. o.			
03. 04. 2003	250 mg SM	100 mg i. v.	Ano (2. 4.-15. 4.)*		
08. 04. 2003	125 mg SM				
11. 04. 2003	125 mg SM				
14. 04. 2003	125 mg SM				
18. 04. 2003	80 mg SM	R- CHOP			
22. 04. 2003	125 mg SM			38 TU	14 TU

SM- Solumedrol, PDN- Prednison, R-CHOP- MabThera (Rituximab) + CHOP

\*Plasmaferézy: I. hospitalizace- 5x, II. hospitalizace- 14x

ERD = počet transfúzních jednotek (TU) erymas

Tromb = počet transfúzních jednotek TK a TKS (poolované trombocyty a trombocyty z aferézy)

**Tabulka 3. Výsledky vyšetření kostní dřenež a zobrazovacích metod.**

Datum	Sternální punkce	Imunofenotyp	Trepanobiopsie	CT	Cytogen
02. 01. 03	Těžká dyserytropoeza, 3% atypických lymfoidních elementů	Neprokázána monoklonální lymfoidní populace			22 mitóz 46 XX
06. 01. 03			Hypocelulární trilineární hemopoieza s hyperplazí erytropoesou, bez výraznějších morfol. změn		
08. 01. 03				Bez přítomnosti jasně zvětšených LU, Cystoid pravého ovaria, ostatní nálezy v normě	
28. 03. 03	Méně dysplastické změny než minule, 1.8% aktivovaných lymfocytů	Neprokázána monoklonální lymfoidní populace			
05. 04. 03				Slezina je proti minule o poznání větší, obvyklé struktury LU, H nezměněny. Cystoid ovaria neprokázán	
16. 04. 03	36.6% lymfoidních. blastických elementů, polymorfní, silná basofilie cytoplasmy, dysplázie erytropoezy	37% CD 19,20,22, 38, FMC7, lehké řetězce kappa	Výrazná intersticiální infiltrace maligním lymfomem B řady ze středně velkých až velkých bb CD 20 +		48 XX, Komplexní změny karyotypu

LU = lymfatické uzliny; H = hepar; CT = počítačová tomografie; cytogen = cytogenetika

#### Literatura

- SHULMAN et al: Autoimmune hemolytic anemia with both cold and warm antibodies. JAMA 1985, Mar 22-29; 253(12): 1746-8
- S.SALLAH,G. SIGOUNAS, P. VOS, N.P. NGUYEN: Autoimmune hemolytic anemia in patients with non-Hodgkin's lymphoma: Characteristics and significance. Annals of Oncology 11: 1571-1577,2000
- MORI A., TAMARU J., SUMI H., KONDO H.: Beneficial effects of rituximab in primary cold agglutinin disease refractory to conventional therapy. Eur J Haematol. 2002, Apr., 68(4): 243-6
- McNICHOLL FP: Clinical syndromes associated with cold agglutinins. Transfus Sci 2000, Feb-Apr; 22(1-2): 125-33
- BERENTSEN S, TJONNBJORD GE, BRUDEVOLD R et al: Favourable response to therapy with anti-CD20 monoclonal antibody rituximab in primary chronic cold agglutinin disease. Br J Haematol 2001;115:79-83
- MICHAUX et al: Trisomy 3 is a consistent chromosome change in malignant lymphoproliferative disorders preceded by cold agglutinin disease. Br J Haematol 1995 Oct; 91(2):421-4
- MORSELLI, LUPI, POTENZA et al: Mixed warm and cold autoimmune hemolytic anemia: complete recovery after 2 courses of rituximab treatment. Blood, 1 May 2002, Vol 99, Number 9: 3478-9
- ENGELHARDT, JAKOB, RUTER et al: Severe cold hemagglutinin disease (CHD) successfully treated with rituximab. Blood, 1 September 2002, Vol 100, No. 5: 1922-23
- Neuvedeno: A case of malignant lymphoma with cold agglutinins. Br J Haematol 1969, Jul 5; 3(661): 33-7
- PETTENYELL R, LINCH D: Position paper on the therapeutic use of rituximab in CD 20 positive diffuse large B-cell Non-Hodgkin's lymphoma. Br J Haematol 2003 Apr; 121(1):44-8
- BOYE, ELTER, ENGERT: An overview of the current clinical use of anti CD 20 monoclonal antibody rituximab. Ann Oncol 2003 Apr; 14(4):520-35

## KOSTNÍ METASTÁZY. PATOGENEZE, DIAGNOSTIKA A LÉČBA

### BONE METASTASES. PATHOGENESIS, DIAGNOSTIC AND TREATMENT

KLENER P.

1. interní klinika 1. LF UK a ÚHK, Praha

**Souhrn:** Kostní metastázy jsou častou komplikací u nemocných s různými zhoubnými nádory, zejména u karcinomu prsu, prostaty a plic. V patogenезi kostních metastáz se uplatní interakce různých cytokinů (např. IL-1, IL-6, TNF, TGF  $\beta$ , osteoprotegerin), které vedou k aktivaci osteoklastů a k resorpci kosti. Diagnostika se opírá o zobrazovací metody (rtg kostí, scintigrafie, CT, MR) a o biochemické vyšetření (degradační produkty kolagenu, koncentrace kalcia). Cílem léčby je omezit nežádoucí důsledky kostních metastáz (bolest, hyperkalcémie, patologické fraktury, komprese míchy) a zlepšit kvalitu života nemocných. Léčba kostních metastáz je multimodální. Uplatní se chirurgická léčba, radioterapie i systémová léčba (chemoterapie, hormonální léčba, bisfosfonáty). Zvláště výhodné jsou bisfosfonáty, protože tlumí nejen bolest, ale efektivně snižují hyperkalcémii svým tlumivým účinkem na aktivitu osteoklastů.

**Klíčová slova:** kostní metastázy, komplikace kostních metastáz, hyperkalcémie, cytokiny, bisfosfonáty

**Summary:** Bone metastases are a common cause of morbidity in patients with many types of cancer, including breast, prostate and lung tumors. In the pathogenesis, interactions of different cytokines (e.g. IL-1, IL-6, TNF, TGF  $\beta$ , osteoprotegerin) play a role, resulting in activation of osteoclasts and bone resorption. Diagnosis is based on imaging methods (simple radiography, scintigraphy, CT, MR) and on biochemical examination (degradation products of collagen, calcium level). The goals of treatment for bone metastases are to reduce the occurrence of skeletal-related events (pain, hypercalcemia, pathologic fractures and spinal cord compression) and to improve quality of life. Current management of skeletal lesions involves a multimodality approach including surgery, radiotherapy and particularly systemic therapy (chemotherapy, hormonal therapy, bisphosphonates). Bisphosphonates not only reduce the pain but effectively decrease serum calcium level by interfering with osteoclast activity.

**Key words:** bone metastases, skeletal-related events, cytokines, hypercalcemia, bisphosphonates

Skelet je velmi častou cílovou tkání pro metastázy nerůznějších primárních nádorů. Pomineme-li mnohočetný myelom, kde je postižení skeletu pravidlem, metastazuje do kostí nejčastěji karcinom prsu, karcinom prostaty a bronchogenní karcinom. Do kostí však mohou metastazovat i jiné nádory, zejména adenokarcinom ledviny, karcinom močového měchýře, karcinom štítné žlázy, maligní melanom a vzácněji další nádory (**Tab. 1**). Metastázy do skeletu znamenají vždy špatnou prognózu s omezenou vyhlídkou na přežití. U bronchogenního karcinomu je při kostních metastázách průměrná doba přežití 6-8 měsíců, u karcinomu prsu 50-55 měsíců, u karcinomu prostaty až 4 roky. Nejčastějším klinickým symptomem kostních metastáz je bolest vznikající při destrukci trabekulární struktury kosti. Dřeňové prostory kostí jsou inervovány nociceptivními C-vlákny citlivými na změny intraoseálního tlaku. Kromě toho se předpokládá, že mezi humorálními faktory uvolňovanými nádorovými buňkami je i bradykinin, substance P a další cytokiny, které působí iritačně na C-vlákna. Ke vzniku bolesti přispívá též dráždění periostu, útlak nervů a svalový spasmus. Dále se mohou objevit příznaky hyperkalcémie, které jsou zpočátku nenápadné (anorexie, polyurie), později se objevuje zácpa, dehydratace, emoční labilita

**Tab. 1. Nádory nejčastěji metastazující do skeletu.**

(mnohočetný myelom)  
karcinom prsu  
karcinom prostaty  
bronchogenní karcinom  
adenokarcinom ledviny  
karcinom močového měchýře  
maligní melanom  
karcinom štítné žlázy

neuroendokrinní nádory  
maligní lymfomy  
karcinom kůry nadledvin  
meduloblastom  
kolorektální karcinom

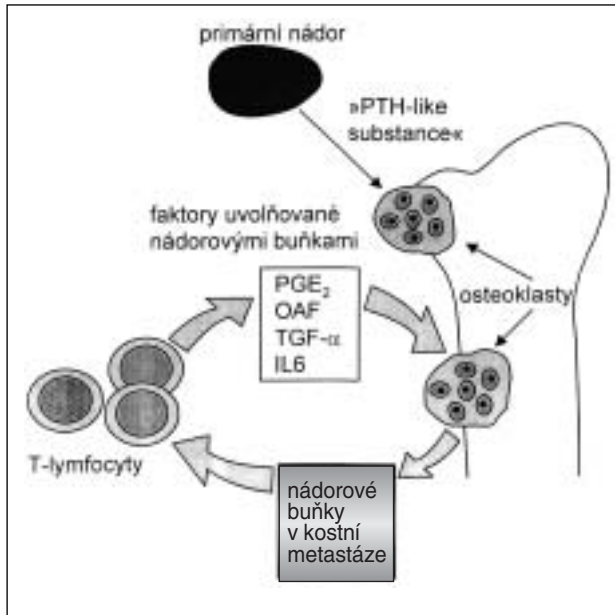
a psychická alterace (2). Při hodnotách kolem 3,5 mmol/l vzniká tzv. hyperkalcemická krize, projevující se komatózním stavem a rizikem srdeční zástavy. Metastázy do osového skeletu se projevují příznaky z komprese míchy.

#### Patogeneze kostních metastáz

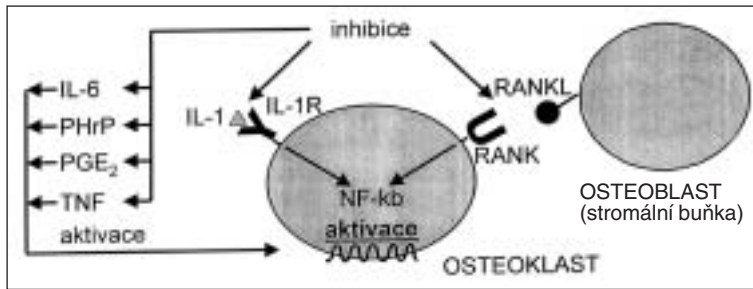
Metastázy vznikají nejčastěji v bohatě vaskularizované tkáni (v tzv. „červené kostní dřeni“), tj. v obratlích, v proximálních partiích dlouhých kostí a v lebce. Bohatá cévní síť však není jedinou podmínkou vzniku metastázy. Uplatňují se též mechanismy chemoatrakce a podmínky speciálního mikroprostředí (18). Většina nádorů vytváří *osteolytické metastázy* (**Obr. 1**). Nádorové buňky produkují různé cytokiny zejména interleukin-1, interleukin 6, TGF  $\alpha$  (transforming growth factor), TNF (tumor necrosis factor) nebo jiné substance (PTHrP – parathormon related peptid), které inhibují osteoblasty a stimulují osteoklasty (16,22). Vzniká ohraničená destrukce kosti a hyperkalcémie. *Osteosklerotické (osteoblastické) metastázy* jsou méně časté (u karcinomu prostaty, někdy u karcinomu prsu nebo meduloblastomu). Předpokládá se, že nádorové buňky karcinomu prostaty uvolňují parakrinní substance jako TGF  $\beta$ , IGF (insuline-like growth factor), PA (plasminogen activator) a endoteliny, které stimulují osteoblasty. Avšak i v případě osteosklerotických metastáz dochází k aktivaci osteoklastů a resorpci kosti, mimo jiné stimulací osteoklastů prostřednictvím zvláštního receptoru zvaného RANK (receptor aktivátor nukleárního faktoru kappa B). Ligand pro tento receptor (RANKL) se tvoří v osteoblastech a stromálních buňkách. Vazba ligandu na receptor působí aktivaci nukleárního faktoru kappa-B, dalšího aktivačního faktoru osteoklastů (3). Podobně jako RANKL akti-



Obr. 1.: Zjednodušené schéma osteolýzy u kostních metastáz. OAF (osteoclast activating factor) je totožný s IL-1.



Obr. 2: Schéma inhibičních účinků osteoprotegerinu na aktivaci osteoklastů. Osteoprotegerin inhibuje jednak vazbu ligandu pro RANK (receptor pro nukleární faktor kappa-B), jednak aktivaci faktorů uvolňované z nádorových buněk.



vuje osteoklasty ještě další faktor produkovaný osteoblasty-osteopontin. Tato aktivací cesta je znázorněna na obr. 2, který současně ukazuje účinek inhibitoru této reakce, kterým je osteoprotegerin. Interakce mezi faktory ovlivňujícími aktivitu osteoklastů a osteoblastů jsou značně složité a mohou se zde uplatnit ještě další cytokiny, jejichž výdej stimuluje TGFβ, jako je např. IL-11 nebo VEGF (vascular endothelial growth factor). Za fyziologických okolností jsou aktivátory v rovnováze s inhibitory, z nichž nejvýznamnější je již zmíněný osteoprotegerin.

### Diagnostika kostních metastáz

Léčbě kostních metastáz předchází jejich diagnostika. K té se používají jednak zobrazovací metody, jednak biochemická vyšetření (tab. 2). Zobrazovací metody zahrnují prostý rtg snímek skeletu, CT nebo scintigrafii <sup>99m</sup>techneciem. Poněkud citlivější je magnetická rezonance, popřípadě PET (pozitronová emisní tomografie). Biochemická vyšetření jsou zaměřena především na detekci degradačních produktů kolagenu I. typu, uvolňovaných při osteolýze. Tyto degradační produkty se vylučují ledvinami, a proto je lze detekovat též v moči. Jsou to hydroxyprolin, pyridinolin, N-telopeptid, C-telopeptid, PTHrP, u osteosklerotických lézí kostní frakce alkalické fosfatázy a osteokalcitonin (7). Vyšetřujeme je buď v séru nebo v moči, kde se hodnoty korigují ve vztahu ke kreatininu (15). Normální hodnoty jsou shrnuty v tab. 2.

Ukazatelem osteolýzy je též zvýšená koncentrace kalcia. Za hraniční hodnotu považujeme 2,7-2,9 mmol/l.

Tab. 2. Diagnostika kostních metastáz.

#### Zobrazovací metody

rtg snímek  
počítačová tomografie  
scintigrafie skeletu  
magnetická rezonance  
(PET)

#### Biochemické metody

v séru:

kostní izoenzym

osteokalcin

N-terminální telo-peptid

C-terminální telo-peptid

kostní sialoprotein

hydroxyprolin volný

normální hodnoty

ALP 0,26-0,40 ukat/l

5,22 ug/l

3-39ug/l

postmenopauza 8-55ug/l

6-38nmol/l

0,3-7,2 nmol/l (0,03-0,72ng/l)

3,3-15,3 ug/l

0-42 umol/l

v moči (ve vztahu ke kreatininu):

hydroxyprolin

N-terminální telo-peptid

C-terminální telo-peptid

pyridinolin

deoxy-pyridinolin celkový

deoxy-pyridinolin volný

9-22 mmol/mol kreatininu

3-65 umol/mol kreatininu

110-340 ng/mmol kreatininu

30-69 umol/mol kreatininu

9-20 umol/mol kreatininu

2-7 umol/mol kreatininu

Uvedené hodnoty jsou vztaženy na průměr populace, mohou být rozdílné, podle použité laboratorní metodiky.

### Terapeutické možnosti

Terapie kostních metastáz je v podstatě paliativní a jejím cílem je hlavně zpomalit progresi onemocnění a zlepšit kvalitu života nemocného. Lze použít různé metody a jejich vzájemné kombinace.

#### Radioterapie

Patrně nejvýznamnější paliativní metodou je v současné době radioterapie. Může mít různé formy. Nejčastěji se používá zevní ozáření, aplikované v různých dávkách a v různých frakčních schématech (23,24). Nejčastěji se ozáří dávkou 30 Gy v 10 denních frakcích (21). Výhodou ozáření je nejen častá regrese metastázy, ale i výrazný analgetický účinek (29). Při mnohočetných

kostních metastázách je výhodnější použít radionuklidy. Používají se β-zářiče, a to buď <sup>89</sup>Sr-stroncium (Metastron) nebo <sup>153</sup>Sm-samarium (Quadramet). Metastron je vodný roztok stroncium chloridu pro nitrožilní aplikaci, běžná dávka je 1,50 MBq/kg v pomalé i. v injekci. Po aplikaci mizí rychle z cirkulace a váže se v místech s aktivní osteogenezí mj. i v kostních metastázách. Po krátkodobém zesílení bolestí nastává úleva během 2-4 týdnů. Nežádoucí účinky jsou trombocytopenie a leukopenie. Quadramet je samarium lexidronam, který vazbou na fosfáty získá vysokou afinitu ke kostní tkáni. Podává se v dávce 37 MBq/kg během 1 minuty nitrožilně. Tolerance je dobrá, analgetický účinek se projevuje do 2-10 dnů. Radioterapie může být kombinována s radiosenzibilizační léčbou, nejlépe s nízkými dávkami cisplatinu nebo karboplatinu. Přečasně zhoršení bolestí při zahájení radioterapie se vysvětluje edémem nervových pletení, kterému lze částečně čelit podáním glukokortikoidů.

#### Medikamentózní léčba (tab.3)

Systémová chemoterapie primárního nádoru má zpravidla na kostní metastázy jen omezený účinek.

Hormonální léčba má naproti tomu v paliativní léčbě kostních metastáz významné místo u hormonálně závislých nádorů. Metastázy karcinomu prsu reagují příznivě na inhibitory aromatáz (anastrozol, letrozol, aromasin, LH-RH analogy), účinné mohou být též androgeny. U karcinomu prostaty jsou lékem volby antiandrogeny (flutamid, bicalutamid), popřípadě estrogeny nebo přípravky kombinující estrogen s cytostatikem (estramustinfosfát). Příznivý účinek může mít u hormonálně

**Tab. 3. Farmakoterapie v léčbě kostních metastáz.**

chemoterapie primárního tumoru
hormonální léčba
<b>prs:</b> inhibitory aromatáz
anastrozol
letrozol
aromasin
LH-RH analoga
androgeny
<b>prostata:</b> antiandrogeny
flutamid
bicalutamid
LH-RH analoga
estrogeny
<b>bisfosfonáty</b>
hypokalcemizující léky
glukokortikoidy
kalcitonin
galium nitrát
<b>analgetika</b>

závislých nádorů též tzv. ablativní hormonální léčba (ovarektomie, orchiektomie).

**Bisfosfonáty** zasluhují zvláštní pozornost. Základem jejich chemické struktury je vazba P-C-P, která vzniká náhradou atomu kyslíku ve vazbě P-O-P kyseliny pyrofosforečné (difosforečné). Vznikají tak sloučeniny chemicky stabilní a zároveň rezistentní ke štěpení endogenní fosfatázou (1,4). Při vysoké afinitě ke kostnímu apatitu chrání mikrostrukturu kosti a zvyšují její mechanickou odolnost. V současné době je k dispozici relativně široký výběr bisfosfonátů, lišících

se vzájemně substituenty vázanými na atom uhlíku (**tab. 4**). Mezi bisfosfonáty 1. generace patří přípravky s jednoduchými substituenty (CH<sub>3</sub>, OH, Cl), bisfosfonáty 2. generace obsahují postranní řetězec s atomem dusíku v aminoskupině (aminobisfosfonáty). Nejúčinnější se zdají bisfosfonáty 3. generace s heterocyklickým kruhem obsahujícím 2 atomy dusíku (27). Rozdíly v chemické struktuře jednotlivých bisfosfonátů jsou odpovědné za určité odlišnosti jejich biologického účinku (10). Bisfosfonáty mají velmi komplexní účinky, které jsou shrnuty v **tab. 5**. Pro léčbu kostních metastáz je nejvýznamnější inhibiční účinek na aktivitu osteoklastů, výrazný hypokalcemizující účinek a velmi dobrý účinek analgetický. U bisfosfonátů 3. generace byly prokázány v experimentech i přímé protinádorové účinky jejich zásahem do transdukční kaskády, jak je uvedeno v tab. 5.

**Tab. 4: Přehled klinicky používaných bisfosfonátů.**

1. generace	etidronát klodronát	(Didronel) (Bonafos, Lodronat)
2. generace	tiludronát pamidronát alendronát ibandronát	(Skelid) (Aredia) (Fosamax) (Bondronát)
3. generace	risedronát zolendronát	(Actonel) (Zometa)

**Tab. 5. Mechanismus účinku bisfosfonátů a jejich uplatnění v léčbě a profylaxi kostních metastáz.**

<b>v léčbě kostních metastáz</b>
zvyšují mechanickou odolnost kosti
inhibují humorální působky indukující osteolýzu
inhibují aktivitu osteoklastů
působí apoptózu osteoklastů
působí zvýšený výdej osteoprotegerinu
<b>v léčbě průvodních symptomů</b>
působí analgeticky
snižují hyperkalcémii
<b>v profylaxi kostních metastáz</b>
mění mikroprostředí a znesnadňují nidaci nádorových buněk
omezují adhezní schopnosti buněk
působí uvolnění inhibičních cytokinů z extracelulární matrix
<b>protinádorové účinky *)</b>
aktivují kaspázy a indukují apoptózu (snižují produkci bcl-2)
působí „down regulaci“ integrinů a lamininu
(omezují angiogenezi)
inhibují syntézu farnesyldifosfonátu a blokuji farnesylyaci ras
(mají antiproliferační účinky)
*) prokázány u bisfosfonátů 3. generace

**V léčbě hyperkalcémie** se musíme postarat především o dostatečnou hydrataci nemocného tak, aby diuréza stoupla nad 3 l/den (tj. příjem 4-6 l denně), užitečné je i podání natrium fosfátu nebo glukokortikoidů (9). Hypoglykemizující účinek má kromě bisfosfonátů též galium nitrát a některá cytostatika. Při hrozící hyperkalcemické krizi použijeme kalcitonin (Miacalcic) 2-8j 2-4krát denně.

**Analgetická léčba** je nedílnou součástí komplexní léčby kostních metastáz (28). Z farmakologických prostředků jsou lékem první volby bisfosfonáty, často se však neobejdeme bez aplikace narkotických anodyn (17). Nejčastěji používáme morfin nebo fentanyl v různých aplikačních formách.

### Chirurgická léčba

Chirurgická, resp. ortopedická léčba, má relativně omezené uplatnění, ale zvažuje se tam, kde hrozí patologická fraktura. Provádí se exkochleace metastázy a vyplnění dutiny cementem, popřípadě osteosyntéza kovovým materiálem (26). Někdy se však uchylujeme ke konservativnímu postupu (fixace ortézou nebo korzetem). Při metastázách do obratlů a v případě akutně vzniklé míšní komprese při patologické fraktuře obratle je indikován neurochirurgický výkon do 24 hodin. S ohledem na prognózu se volí výkony dekomprese, stabilizační či resekční. Při předpokládané krátké době přežití nemocného (kratší než 2 měsíce) se zpravidla chirurgický výkon neindikuje.

### Experimentální léčba a profylaxe

Experimentální léčba je zaměřena několika směry. V profylaxi metastáz se zkouší různé prostředky ovlivňující jednotlivé etapy metastatické kaskády. Tyto přípravky však nebyly studovány specificky z hlediska profylaxe kostních metastáz, s výjimkou přípravků inhibujících angiogenezi. Zkouší se monoklonální protilátky proti VEGF (bevacizumab), inhibitory receptorových kináz (semaxanib) nebo inhibitory matrixmetaloproteáz (25). Zajímavé je zjištění, že inhibiči těchto proteáz působí tetracyklinové antibiotikum doxocyklin. Je osteotropní a v experimentu působilo jeho podání výrazně omezení kostní resorpe u myši (11). Jinou možností je útlum aktivity působků odpovědných za osteolýzu. Je to např. rekombinantně připravený osteoprotegerin, nebo monoklonální protilátka proti PTHrP.

K profylaxi kostních metastáz se zkouší též bisfosfonáty (10,14). Jak bylo zmíněno, předpokladem pro vznik metastáz je vhodné mikroprostředí, ve kterém dochází k nidaci nádorových buněk. Bisfosfonáty mění toto mikroprostředí na prostředí nepříznivé pro kolonizaci buněk a znesnadňují uchycení nádorových buněk v kostní tkáni (12). Předpokládají se různé mechanismy, např. omezení adhezních schopností buněk k extracelulární matrix. Bisfosfonáty působí patrně uvolnění některých humorálních faktorů z kostní matrix, inhibujících integriny. Zvyšují výdej osteoprotegerinu z osteoblastů, což následně působí inaktivaci osteoklastů. Nelze vyloučit, že se mohou uplatnit i další účinky bisfosfonátů, jako je indukce apoptózy osteoklastů omezením produkce bcl-2, inhibice angiogeneze, nebo již zmíněné přímé protinádorové účinky. Profylaktický účinek bisfosfonátů byl prokázán jednak v experimentu, jednak i v klinických studiích u karcinomu prsu podáváním clodronátu (5, 6,13). Tato léčba se zdá účinnější u pacientek s vyšším rizikem vzniku kostních metastáz (s pozitivními uzlinami a s pozitivními estrogenními receptory) (20). Zkouší se též profylaktické podávání bisfosfonátů u karcinomu prostaty, které může být výhodné i proto, že bisfosfonáty zvyšují denzitu kosti u nemocných vystavených deprivaci androgenů působících osteopenii.

Je zřejmé, že současné možnosti účinné léčby kostních metastáz jsou značně omezené. Naše úsilí se tedy musí zaměřit hlavně na odstranění nežádoucích symptomů, které kostní metastázy provázejí a zhoršují kvalitu posledních měsíců života nemocných. Lze však konstatovat, že prostředků k symptomatice léčbě máme dnes rozhodně více než se jich využívalo v běžné klinické praxi.

## Literatura

1. Adam: Farmakologie a klinický efekt léků inhibujících osteolýzu, bisfosfonátů a preparátů kalcitoninu.s.243-273 in: Vorlíček et al.: Praktická onkologie, Grada-Avicenum, Praha 2000.
2. Bajorunas DR: Clinical manifestation of cancer-related hypercalcemia. Semin.Oncol. 1889, 17, 16-25.
3. Berenson JR, Hongjin M., Vescio R.: The role of nuclear factor-kB in the biology and treatment of multiple myeloma. Semin.Oncol 2001, 28, 626-633.
4. Body JJ, Mancini I: Bisphosphonates for cancer patients: why, how, and when? Support.Care Cancer 2002, 10, 300-407.
5. Boissier S, Magnetto S, Frappart L. et al: Bisphosphonates inhibit prostate and breast carcinoma cell adhesion to unmineralized and mineralized bone extracellular matrix. Cancer Res. 1997, 57, 3890-3894.
6. Camm JA: Bisphosphonates as adjuvant treatment for breast cancer. Brit.J.Med. 2002, 325, 1051-1052.
7. Coleman RE: The clinical use of bone resorption markers in patients with malignant bone disease. Cancer 2002, 84, 2521-2533.
8. Coleman RF, (Ed). Treatment of skeletal complication of cancer with zoledronic acid (Zometa). Semin.oncol. 2002, Suppl.21., 49 str.
9. Davidson TG: Conventional treatment of hypercalcemia of malignancy. Am.J.Health Syst.Pharm. 2001, Suppl.3, 8-15.
10. Diel J.: Bisphosphonates in the prevention of bone metastases. Semin. Oncol 2001, 28, 75-83.
11. Duivenvoorden WC, Popovic SV, Lhotak S. et al.: Doxocycline decreases tumor burden in a bone metastasis model of human breast cancer. Cancer Res. 2002, 62, 1588-1591.
12. Fleisch H.: Bisphosphonate in bone disease. Academic Press, San Diego 2000, 212.s.
13. Helmichová E., Klener P.: Clodronát a kostní metastázy karcinomu prsu. Sborník –VII.Symposium onkologie v gynekologii a mamologii, Brno, 2003, s.92.
14. Hortobagyi GN: Novel approaches in the management of bone metastases in patients with breast cancer. Semin.Oncol. 2002, Suppl.11, 134-144.
15. Garnero T, Buchs N, Zahri J. et al.: Markers of bone turnover for the management of patients with bone metastases for prostate cancer. Br.J.Cancer 2000,82, 858-864.
16. Kakonen SM, Selander KS, Chirgwin JM et al.: Transforming growth factor beta stimulates parathyroid-related protein and osteolytic metastases via Smad and mitogen activated protein kinase signaling pathways. J.Biol.Chem. 2002, 277, 24571-24578.
17. Lewington VJ: A practical guide to targeted therapy for bone pain palliation. Nucl.Med.Comm. 2002, 23, 833-836.
18. Mundi GR: Mechanism of bone metastasis. Cancer 1997, 80, 1546.1556.
19. Paterson AH: Bisphosphonates: biological response modifiers in breast cancer. Clinn.Breast Cancer 2002, 3, 206-216.
20. Powles T., Paterson S., Kanis JA et al.: Randomized, placebo-controlled trial of clodronate in patients with primary operable breast cancer J.Clin.Oncol. 2002, 20, 3218-3224.
21. Rades D, Karstens JR: A comparison of two different radiation schedules for metastatic spinal cord compression considering a new prognostic factor. Strahlenter Onkol. 2002, 178, 531-536.
22. Roodman GD, Kobayashi K, Jimi E. et al.: Biology of osteoclast activation in cancer. J.clin.oncol. 2001, 19, 3562-3571.
23. Saarto T, Janes R, Tenhunen M. et al.: Palliative radiotherapy in the treatment of skeletal metastases. Europ.J.Pain. 2002, 6, 323-330.
24. Silberstein EB: Systemic radiopharmaceutical therapy of painful osteoblastic metastases. Semin.Radiat.Oncol. 2000,10, 240-248.
25. Sweeney P., Karashima T, Kim SJ. et al: Anti-vascular endothelial growth factor receptor antibody reduces tumorigenicity and metastases in orthotopic prostate cancer xenograft via induction of endothelial cell apoptosis and reduction of endothelial cell matrix metalloproteinase type 9 production.Clin.Cancer Res.2002, 8, 2714-2724.
26. Walker J. Caring for patients with a diagnosis of cancer and spinal metastatic disease. Nursing Standard 2002, 16, 41-44.
27. Wellington K, Goa KL: Zoledronic acid. Drugs 2000,63, 417-434.
28. World Health Organisation: Cancer pain relief. 2nd edition, Geneva 1996.
29. Wu JSY, Beziak A, Chow E. et al: Primary treatment endpoint following palliative radiotherapy for painful bone metastases: Need for a consensus definition? Clin.Oncol. 2002, 14, 70-77.

---

# informace

---

**Masarykův onkologický ústav v Brně**

po ř á d á

**XXVIII. BRNĚNSKÉ ONKOLOGICKÉ DNY**

s

**XVIII. KONFERENCÍ PRO SESTRY A LABORANTY**

s mezinárodní účastí

**26.–28. května 2004**

Hlavní témata:

**DIAGNOSTICKO-LÉČEBNÉ ALGORITMY A PROTOKOLY V ONKOLOGII  
OŠETŘOVATELSKÁ PÉČE PŘI PODPŮRNÉ ONKOLOGICKÉ LÉČBĚ**

Sekretariát organizačního výboru:

Eva Čechmanová

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

# NÁKLADY PÉČE U JEDNOTLIVÝCH KLINICKÝCH STADIÍ KARCINOMU PRSU ŽEN

## COSTS OF FEMALE BREAST CANCER CARE IN PARTICULAR CLINICAL STAGES

ŠIROKÝ P., NOVÁK J., KOUKALOVÁ H.

MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV BRNO

**Souhrn:** V posledních letech celosvětově vystupují do popředí ekonomické aspekty hodnocení efektivity zdravotní péče. V případě zhoubných nádorových onemocnění se obecně předpokládá úzká vazba mezi nákladovostí péče a klinickým stadiem, konkrétní údaje v podmínkách zdravotnictví ČR však dosud chybí. Autoři ve své studii vytvořili přehled o nákladech zdravotní péče (z pohledu její úhrady) pro jednotlivá klinická stadia karcinomu prsu žen. Pro každé stadium je uvedeno vyčíslení celkových nákladů péče za sledovaná období, náklady za prvních 12 měsíců péče a náklady na vlastní onkologickou léčbu a její jednotlivé součásti. Práce zahrnuje i rozbor vzájemných vazeb mezi sledovanými ukazateli. Výsledky byly získány na základě zdravotní dokumentace a dokladů účtované péče u 74 pacientek, jimž byla poskytnuta kompletní onkologická péče v rámci Masarykova onkologického ústavu v Brně.

**Klíčová slova:** karcinom prsu, stadium, náklady

**Summary:** Since recent time, economical aspects of medical care effectiveness have been world-widely discussed. In malignant tumours diseases, a close relationship between costs and a clinical stage of the disease is supposed. However, there is a lack of the information on this issue in the Czech background. The authors present a study of female breast cancer care costs (from the point of view of the health insurance agency), with respect to the clinical stage. For each stage, the total expenses during the period of diagnosis, therapy and one year of follow-up are assessed. Furthermore, the study includes the of one-year-care costs as well as the costs of the proper therapy and its components. The relationships between the items are followed, too. The first results were gained by analysing the group of 74 patients with complete cancer care in Masaryk Memorial Cancer Institute, Brno.

**Keywords:** breast cancer, stage, cost

### ÚVOD

Aplikace nových medicínských poznatků do klinické praxe s sebou přináší zpravidla vyšší ekonomické nároky. Možnosti medicíny a možnosti ekonomiky se tím dostávají do soustavně rostoucí disproporce. Stále naléhavěji se ukazuje, že při hodnocení efektivity zdravotní péče je třeba současně přihlídnout k aspektům ekonomickým. Pro onkologii to platí jak v klinické praxi, tak v rámci sekundární prevence zhoubných nádorových onemocnění.

V posledních třech desetiletích je rostoucí zájem o ekonomiku zdravotní onkologické péče v zahraničí patrný i podle zvyšujícího se počtu publikací. Publikované práce se ve značné míře zabývají ekonomikou péče v souvislosti se screeningovými programy, zaměřenými především na včasnou detekci nádorových onemocnění prsu u žen (Wolstenholme, Smith et al. 1998, Will, Le Petit et al. 1999, Will, Berthelot et al. 2000). Údaje ze zahraničí však mají pro aplikaci na tuzemské podmínky jen velmi omezený význam. Výsledky jsou totiž ovlivněny řadou socioekonomických faktorů, které jsou v jednotlivých zemích mnohdy značně odlišné. Informace ze zahraničí jsou nicméně zajímavé např. z pohledu vzájemného poměru nákladů na jednotlivé části péče.

Program systematického screeningu mamárního karcinomu byl v České republice zahájen poměrně nedávno. Přitom včasná detekce zhoubného nádoru prsu žen znamená nejen příznivější prognózu vývoje onemocnění, ale i menší rozsah aplikované protinádorové léčby. Právě u nemocných s iniciálními formami zhoubného nádorového onemocnění lze předpokládat, že léčba bude efektivní, pro pacienty méně fyzicky a psychicky zatěžující a méně nákladná.

Úvahy o nákladech zdravotní péče v souvislosti s rozsahem

zhoubného onemocnění se však pohybují spíše v oblasti více-méně automaticky přijímaných předpokladů. V české odborné literatuře dosud chybí podrobnější rozbor této problematiky. Autoři se proto pokusili tuto mezeru alespoň částečně doplnit. Předkládají přehled konkrétních nákladů zdravotní péče pro jednotlivá klinická stadia karcinomu prsu žen. Výsledky byly získány na základě analýzy reálných údajů u souboru 74 pacientek, kterým byla poskytnuta kompletní onkologická péče v rámci Masarykova onkologického ústavu v Brně. Přehled vychází z úhrady péče zdravotními pojišťovnami a obsahuje údaje o celkových vynaložených nákladech na péči, nákladech na vlastní onkologickou léčbu a její jednotlivé součásti. Studie zahrnuje i rozbor vztahů mezi sledovanými typy nákladů a mezi náklady na péči v rámci jednotlivých klinických stadií.

### METODIKA

**Výběr nemocných do souboru** byl proveden z databáze nemocných Masarykova onkologického ústavu (MOÚ). Byly vybrány pacientky s nově zjištěnou dg. C50 a stanoveným klinickým stadiem, diagnostikované v období od 1.1.2000 do 31.1.2002. Všem pacientkám byla poskytnuta kompletní onkologická péče primárního onemocnění výhradně v rámci MOÚ. Pacientky s vícečetnými malignitami byly vyřazeny. Z tohoto souboru bylo - v rámci jednotlivých klinických stadií náhodně - vybráno celkem 74 pacientek: 22 s onemocněním ve stadiu I, 20 ve stadiu II, 22 ve stadiu III (při stejném zastoupení podstadií) a 10 ve stadiu IV. Při respektování shora uvedených kritérií výběru nebyly v databázi nemocných nalezeny žádné pacientky s onemocněním v klinickém stadiu 0 a pouze velmi omezený počet nemocných s primárně generalizovaným onemocněním (stadium IV).

**Rozbor poskytnuté zdravotní péče** byl proveden podle kompletní zdravotní dokumentace (listinné i elektronické formy záznamů). Péče byla rozdělena do segmentů: diagnostika, terapie a dispenzarizace. Terapie byla podrobněji rozdělena na jednotlivé léčebné modalitty: chirurgie, radioterapie, chemo- a hormonoterapie, případná jiná protinádorová léčba a ostatní (zpravidla symptomatická) léčba.

**Analýza vyučované zdravotní péče** byla u jednotlivých pacientek souboru provedena podle dokladů o vyučování péče (výkazy pro zdravotní pojišťovny a vystavené recepty). Pro každou pacientku byly k dispozici doklady od data vstupu do MOÚ do 30.6.2003.

Na základě výše uvedených rozborů bylo možno stanovit:

- náklady za celé sledované období péče (zde včetně eventuální fáze relapsu onemocnění). Toto období je pro každou pacientku různě dlouhé.
- náklady za prvních 12 měsíců péče
- náklady za onkologickou léčbu primárního onemocnění a za jednotlivé léčebné modalitty vyjma symptomatické léčby - bez ohledu na dobu trvání této léčby

Hormonoterapie byla pro účel studie kalkulována za 12 měsíců podávání, pokud nebyla ukončena dříve v souvislosti s relapsem či úmrtím.

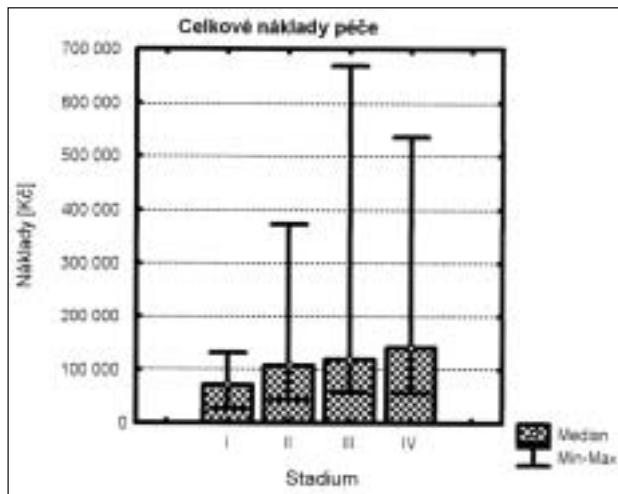
Jako základní statistické charakteristiky byly vzhledem k nesymetrickému rozložení všech sledovaných hodnot zvoleny medián a rozpětí (maximum - minimum).

Náklady jsou vyčísleny v Kč, bodové hodnocení zdravotních výkonů odpovídá časově odpovídající verzi Seznamu výkonů a hodnotě bodu = 0,89 Kč.

## VÝSLEDKY

**Celkové náklady péče za sledované období** demonstruje Graf 1. a Tab. 1. Zde uvedené náklady zahrnují rovněž léčbu symptomatickou, stejně tak léčbu eventuálního relapsu, pokud k němu během sledovaného období došlo (relaps onemocnění byl zjištěn u stadia II ve dvou případech, u stadia III ve třech případech).

Graf 1.



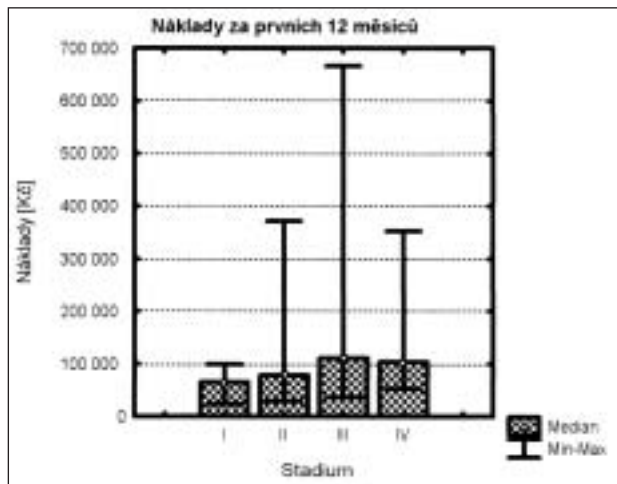
Tab. 1. Celkové náklady péče [Kč].

Stadium	N	Median	Min.	Max.
I	22	70 952	27 795	131 463
II	20	106 575	44 142	372 988
III	21	118 437	58 129	668 838
IV	10	140 239	56 812	535 823

Medián nákladů se zvyšuje v závislosti na rozsahu onemocnění. U stadií pokročilejších (III-IV) lze u jednotlivých případů pozorovat výrazné rozpětí nákladů (min-max). Tato skutečnost je způsobena především rozdíly v aplikované protinádorové chemoterapii a hormonoterapii.

**Náklady za prvních 12 měsíců péče** (Graf 2., Tab. 2.) představují celkové náklady péče vymezené obdobím prvního roku. U nedisseminovaných forem onemocnění je do tohoto období v podstatě soustředěna veškerá primární komplexní onkologická léčba.

Graf 2.



Tab. 2. Náklady za prvních 12 měsíců [Kč].

Stadium	N	Median	Min.	Max.
I	22	63 568	22 642	99 241
II	20	77 840	28 096	371 231
III	21	110 507	35 933	666 817
IV	10	103 119	51 850	351 764

Ve srovnání s náklady péče za celé sledované období jsou náklady za 12 měsíců samozřejmě nižší. Největší rozdíly byly zjištěny u stadia II a IV a byly způsobeny většími počty případů se zvýšenými náklady v období po prvním roce péče (relaps či progresse onemocnění, léčba komplikací apod.). Vzájemný poměr mezi jednotlivými stadii je však stejný jako v případě celkových nákladů, s výjimkou relace mezi stadii III a IV. U postmenopauzálních pacientek s primárně disseminovaným karcinomem prsu se totiž léčba většinou zahajuje cenově nenáročným tamoxifenem, a její náklady jsou tedy výrazně nižší ve srovnání s polychemoterapií, která byla u pacientek s onemocněním III. klinického stadia ve sledovaném souboru časově aplikována.

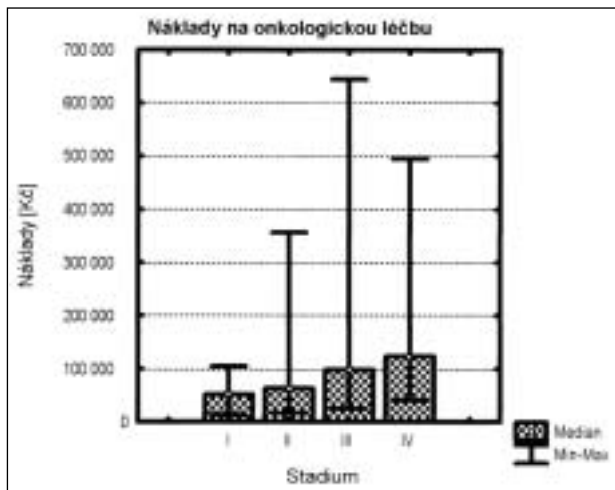
**Náklady na onkologickou léčbu** primárního onemocnění (Graf 3., Tab. 3.) zahrnují chirurgickou léčbu, radioterapii, chemo- a hormonoterapii; není zde zahrnuta terapie symptomatická.

Tab. 3. Náklady na onkologickou léčbu [Kč].

Stadium	N	Median	Min.	Max.
I	22	51 124	12 429	103 951
II	20	63 027	16 536	356 284
III	21	97 668	25 013	644 250
IV	10	123 139	40 577	494 519



Graf 3.



Náklady na hormonoterapii byly stanoveny za období 12 měsíců, pokud podávání hormonoterapie nebylo ukončeno již dříve v důsledku relapsu či úmrtí. Kontinuální hormonoterapie je totiž delší než ve studii sledovaný časový úsek.

Podrobněji byla dále sledována samotná léčba, jejíž náklady byly analyzovány až na úroveň základních léčebných modalit. **Náklady na jednotlivé modalitty** shrnuje Tab. 4.

Zatímco medián nákladů na provedenou chirurgickou léčbu je u všech stadií řádově identický a činí cca 18-20 tisíc Kč, u radioterapie je mezi stadii zřetelnější rozdíl jak v mediánu, tak v rozpětí minimálních a maximálních hodnot. V porovnání s operativou jsou náklady celkově poněkud vyšší. Pro stadia I-III platí, že u chemoterapie je výše mediánu nákladů obdobná jako u radioterapie, avšak rozpětí nákladů je především u stadia III velmi výrazné a maximum nákladů dosahuje výše přes půl milionu Kč.

Náklady na 12 měsíců hormonoterapie (v Tab. 4 neuvedeno) vykazují u stadií I-III identický medián (1 643,- Kč), pouze u stadia IV je hodnota mediánu téměř desetinásobná – 15 498,- Kč. Tento rozdíl je způsoben vyšším podílem pacientek, jimž byly podávány preparáty jiné než tamoxifen, tj. anastrozol, letrozol, jejichž cena je několikanásobně vyšší.

## DISKUSE

Při posuzování nákladů na onkologickou péči ve vztahu k rozsahu / stadiu ZN je v obecném povědomí zakotven názor, že tyto se s rostoucím stadiem onemocnění prudce zvyšují. Výsledky analýzy údajů ze sledovaného souboru naznačují, že uvedená teze má své opodstatnění, i když rozdíly mezi náklady jsou pro jednotlivá stadia méně výrazné, než by se dalo očekávat. Je to způsobeno především poměrně velkou variabilitou jednotlivých hodnot, především u stadia II a III. Při volbě léčebného postupu se totiž vedle anatomického rozsahu přihlíží i k dalším charakteristikám jak pacienta, tak nádorového onemocnění. V rámci téhož klinického stadia jsou pak aplikovány variantní, nákladově často velmi rozdílné léčebné postupy.

Péče u stadia I vykazuje nejnížší náklady jak za celé období

(medián délky sledovaného období = 810 dní), tak za první rok. Do prvních 12 měsíců péče je soustředěna veškerá léčba, která zde představuje převážnou část celkových nákladů (Tab. 1). U stadia II byly zjištěny zřetelně vyšší náklady za celé sledované období (medián = 710 dní) než u stadia I. Porovnávali náklady péče u jednotlivých dvojic „sousedních“ stadií, pak právě tato dvě se od sebe nejvíce liší. Ve sledovaném souboru je navýšení dáno realizací nákladného genetického vyšetření (v jednom případě) a léčbou relabujícího onemocnění (ve 2 případech). Relativně vysoké náklady ve vztahu ke stadiu I a III se tím pádem již nezobrazují v nákladech na vlastní léčbu primárního onemocnění.

V případě stadia III (medián sledovaného období = 835 dní) bylo zjištěno největší rozpětí nákladů - maximum se ve všech 3 sledovaných ukazatelích pohybuje kolem 650 tis. Kč. Takto extrémně vysoké náklady byly jednoznačně dány zařazením přípravků ze skupiny taxanů do aplikovaných chemoterapeutických režimů.

Specifická situace se ukázala u stadia IV (medián sledovaného období = 621 dní), kde bylo možno očekávat podstatně vyšší náklady než u stadií nižších. V našem souboru je medián nákladů u stadia IV nejvyšší u ukazatelů „celkové náklady“ a „náklady na onkologickou léčbu“, avšak rozdíl oproti stadiu III není příliš výrazný. U nákladů za prvních 12 měsíců péče je medián u stadia IV dokonce o něco nižší než u stadia III. Jako možné vysvětlení se nabízí rozdílné typy terapie u pacientek s těmito stadii onemocnění a také skutečnost, že péče bývá značně nákladná v preterminálním a terminálním období. Ovšem je nutno připomenout, že k dispozici byl pouze malý soubor nemocných s disseminovaným onemocněním.

## ZÁVĚR

V předložené studii je rozebírána otázka nákladovosti onkologické zdravotní péče u pacientek s karcinomem prsu v jednotlivých klinických stadiích. Cílem bylo ověřit všeobecně předjímanou hypotézu, že náklady na zdravotní péči se podstatně zvyšují v přímém vztahu s rostoucím stadiem onemocnění. Výsledky práce tuto hypotézu z větší části potvrzují, alespoň co se týče nákladů na péči u primárního onemocnění. Proti očekávání je však nárůst mezi stadii méně výrazný. Tato skutečnost přímo souvisí se značnou variabilitou nákladů u všech stadií s výjimkou stadia I. Výsledky dále ukazují, že podstatnou část výše nákladů u pokročilejších stadií představuje několik málo konkrétních součástí léčby (chemoterapie s taxany, hormonální přípravky anastrozol a letrozol), které se u iničiálních fází onemocnění (stadium 0, I) zpravidla vůbec nepoužívají.

Výsledky studie je nutno chápat jako pilotní a demonstující pouze vymezenou část jinak dlouhodobé zdravotní péče. Údaje přispívají k podpoře aktivit na záchyt onemocnění v iničiálních stadiích. Současně je třeba mít stále na paměti, že v případě časného záchytu se vedle ekonomické úspory při péči o primární onemocnění jedná především o benefit pro samotné pacientky, a to jak v podobě vyšší kvality života při méně náročných terapiích, tak zejména v podobě příznivé prognózy quad sanationem et vitam.

**Studie byla provedena jako součást řešení grantového projektu IGA NO 6483-3/2001: Ekonomická efektivnost plošného mammografického screeningu v podmínkách ČR.**

Tab. 4. Náklady na léčebné modalitty [Kč].

St.	N	Chirurgie			Radioterapie				Chemoterapie			
		Median	Min.	Max.	N	Median	Min.	Max.	N	Median	Min.	Max.
I	22	17 537	10 787	25 735	15	31 082	26 591	59 783	7	24 752	9 892	38 034
II	19	17 957	14 105	29 743	13	35 996	26 558	70 553	12	41 167	13 981	277 373
III	18	18 197	12 207	22 620	19	51 453	25 938	102 193	17	33 227	6 260	543 371
IV	2	19 860	17 263	22 457	9	28 758	4 278	71 856	9	60 565	23 603	451 562

## Literatura

1. Dlouhý M., Hroboň P.: Možnosti a meze mezinárodního transferu výsledků farmakoeconomických studií. *Remedia*, 1998, vol. 8 suppl. p. 19-20
2. Fields K.K., Goldstein S.C., Clark, R.A., Sullivan D.M.: Breast Cancer. In: Djulbegović B., Sullivan D.M.: *Decision Making in Oncology Evidence-Based Management*. Churchill Livingstone, 1997.
3. Metodické opatření č.12/2002 - Věst. min. zdrav. - Doporučený standard při poskytování a vykazování výkonů screeningu nádorů prsu v České republice
4. Neymark N.: *Assessing the Economic Value of Anticancer Therapies*, Berlin: Springer-Verlag, 1998.
5. Vyhláška č.56 Sb./1997 - Vyhláška Ministerstva zdravotnictví, kterou se

- stanoví obsah a časové omezení preventivních prohlídek - ve znění pozdějších změn a doplňků
6. Will B.P., Berthelot J.-M., Le Petit C., et al.: Estimates of the lifetime costs of breast cancer treatment in Canada. *European Journal of Cancer*, 2000, vol. 36, p. 724-735.
  7. Will B.P., Berthelot J.-M., Le Petit C., et al.: Diagnostic and therapeutic approaches for nonmetastatic breast cancer in Canada, and their associated costs. *British Journal of Cancer*, 1999, vol. 79, no. 9/10, p. 1428-1436.
  8. Wolstenholme J.L., Smith S.J., Whyne D.K.: The Costs of Treating Breast Cancer in the United Kingdom: Implications for Screening. *International Journal of Technology Assessment in Health Care*, 1998, vol. 14, no. 2, p. 277-289.

---

# informace

---

## NÁRODNÍ ONKOLOGICKÝ PROGRAM (NOP) PRO ČESKOU REPUBLIKU

*NOP - Czech National Cancer Control Program (NCCP-CZ) zpracován na základě podmínek a potřeb ČR a v souladu se závěry WHO Consultation on Strategies to Improve and Strengthen Cancer Control Programmes in Europe ve dnech 25.-28. 11. 2003 v Ženevě zástupci České onkologické společnosti, Ligy proti rakovině a Ministerstva zdravotnictví ČR.*

### Cíle NOP:

**snížení incidence a mortality** nádorových onemocnění, **zlepšení kvality života** onkologicky nemocných, **racionalizace nákladů** na diagnostiku a léčbu nádorových onemocnění v ČR

### Strategie NOP:

- I. boj se zhoubnými nádory jako součást celorepublikové i regionální politické agendy
- II. boj se zhoubnými nádory jako životní zájem laické i odborné veřejnosti
- III. mezinárodní kooperace a harmonizace v rámci partnerských struktur EU a WHO
- IV. trvalá udržitelnost programu boje s rakovinou kontrolou nákladů
- V. stanovení a průběžné vyhodnocování indikátorů, výstupů (*outputs*) a výsledků (*outcomes*) fungování a účinnosti NOP, každoroční komentář k plnění, případně revize a doplňování

### Úkoly NOP:

- 1) odborná podpora **výuky prevence** na školách, popularizace **primární onkoprevence** ve veřejnosti, snížit zejména kouření mládeže a žen, pomáhat kladným změnám ve výživě a životním stylu
- 2) zajistit dlouhodobé fungování a audity **programů pro skríníng** karcinomu prsu, karcinomu hrdla děložního a karcinomu kolorekta, vyhodnocovat zároveň vliv paraskríninových vyšetření v populaci
- 3) zlepšit **časovou diagnostiku** zhoubných nádorů, zejména ve spolupráci s praktickými lékaři, inovovat náplň preventivních prohlídek integrujících záchyt onkologických, kardiovaskulárních a metabolických onemocnění

- 4) pojmenovat **sítě center komplexní diagnosticko-léčebné onkologické péče**, akreditovaných ČOS na principu čtyř kompetencí: kvalifikace, vybavení, sebeevaluace a komunikace, vytvořit Radu onkocenter České republiky jako nástroj pro koordinaci práce
- 5) **prosazování ekvity** – pokrytí populace srovnatelnými onkologickými službami a přístupem k informacím o prevenci, diagnostice a léčbě onkologických onemocnění
- 6) zajistit ukotvení a stabilitu zařízení pro **paliativní a terminální péči**, podpořit rozvoj domácí péče, sledovat stav léčby bolesti a parametry kvality života nemocných s pokročilými zhoubnými nádory
- 7) podpora kontinuity, stabilizace, modernizace a praktického využívání **databáze** Národního onkologického registru ČR pro řízenou preventivní a diagnosticko-léčebnou péči v onkologii
- 8) podpora aplikovanému onkologickému **výzkumu, inovacím** a zavádění principů **HTA** (*health technology assessment*) v onkologii, podpora **vzdělávání** v onkologii

## PŘÍLOHA

### Výzva k přijetí spoluodpovědnosti za plnění NOP:

*Spoluodpovědnost přijímáme – podpis /datum*  
Česká onkologická společnost ČLS JEP

### Oslovená instituce / organizace

Společnost radiační onkologie, biologie a fyziky ČLS JEP  
Další odborné společnosti  
Česká asociace sester  
Odbor sociální a zdravotní péče kraje  
Liga proti rakovině Praha  
Liga proti rakovině Brno  
Státní zdravotní ústav  
Ústav zdravotnických informací a statistiky  
Ministerstvo zdravotnictví ČR  
Zdravotní výbor Poslanecké sněmovny ČR  
Zdravotní výbor Senátu ČR  
Organizace pacientů

Další instituce a společenské organizace

## BIOTERAPIE NÁDORŮ: OD POZNÁVÁNÍ PODSTATY NÁDOROVÝCH ONEMOCNĚNÍ K CÍLENÉ LÉČBĚ... A ZPĚT

### BIOThERAPY OF TUMOURS: FROM RECOGNITION OF THE TUMOURS DISEASES NATURE TO THE PURPOSEFUL TREATMENT ... AND BACK

ŽALOUĐÍK J.

MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV V BRNĚ

**Bioterapie** patří dosud k nejméně poznaným oblastem z celého spektra možností protinádorové léčby. Někdy je spojována s extrémě nekritického očekávání, jindy s nadměrnou apriorní skepsí. Spojuje často oblasti problémově dosti vzdálené (*neoangiogeneze, imunologie, inhibice kináz, inhibice telomerázy, genová terapie*). Obecně lze říci, že zahrnuje všechny terapeutické pokusy o bioregulační a negenotoxické ovlivnění nádorového růstu. Odlišuje se tak od standardní genotoxické chemoterapie cytostatiky nebo radioterapie. V praxi však není hranice mnohdy nikterak ostrá a stále více jde spíše o kombinace tradičních a nových forem protinádorové léčby.

Ve dnech 10.-13. září 2003 se v Mnichově konala každoroční mezinárodní konference *Biotherapy of Cancer: From Disease to Targeted Treatment*. V samotném názvu konference je obsažen další aspekt onkologické bioterapie, a to snaha o cílený zásah nádorových buněk a vysokou specificitu protinádorového účinku. Shrnuji závěry i atmosféru tří denního jednání, na kterém se účastnili specialisté jak z Evropy, tak v hojně míře i z USA a Kanady, a to přesto, že v říjnu 2003 se na stejné téma sešel kongres v Bethesda v Marylandu.

Po minulých dvou desetiletích, v nichž převažoval entuziasmus, a mnohdy i mechanistické až naivní chápání některých terapeuticky využitelných bioregulačních mechanismů, je současné období provázeno spíše kritickou analýzou důvodů stále nízké účinnosti této léčby.

**Inhibice nádorové neoangiogeneze** se ukázala podstatně složitějším úkolem než uváděly silně medializované výsledky experimentálních prací v devadesátých letech. V klinických studiích antiangiogenní preparáty v monoterapii neuspěly, mírná zlepšení byla zaznamenána pouze v kombinaci se standardní chemoterapií. Více pozornosti je však věnováno i antiangiogennímu působení samotných standardních cytostatik, neboť je zřejmé, že kromě nádorových buněk ovlivňují také proliferaci endotelií v nádoru. Testuje se hypotéza, zda jistá úspěšnost režimů s vyšší dávkovou densitou, jak ji známe třeba u taxanů, není způsobena právě interakcí s angiogenezou a blokadou proliferace endotelií. Režimy užívající nižších dávek v krátkých pravidelných intervalech jsou označovány jako „metronomické dávkování“ cytotoxických preparátů s účinky více cytostatickými, avšak trvalejšími než jsou mnohdy přechodné účinky cytotoxické.

Velmi atraktivními látkami, avšak dosud firemně testovanými a ukrývanými, jsou již několik let *combretastatiny*, které v cílové oblasti působí rychlý kolaps kapilární sítě a tedy akutní ischemii nádorového ložiska. K jednomu z testovaných pro tento biologicky nezvyklý účinek patří i preparát CA4-P. Rizika plynou především z dosud nejisté specificity akutního antiangiogenního účinku na nádor ve srovnání se zdravými tkáněmi.

Celkově je však zřejmé, že možností antiangiogenní léčby byly v minulém desetiletí, také vlivem neúměrně medializovaných očekávání, přeceněny. Léčba nádorů, zaměřená na

jejich kapilární cévní zásobení, bude mít patrně jen marginální dopad. Očekávaný úspěch nezaznamenala ani protilátka proti vaskulárnímu růstovému faktoru bevacizumab (anti-VEGF, Avastin), která zatím prokázala jen malý přínos jen v léčbě kolorektálního karcinomu, a to v kombinaci s chemoterapií režimem FOLFOX.

Skepsie narůstá také vůči možnostem **inhibitorů telomerázy** v monoterapii, ačkoli první klinické studie s těmito preparáty mají být zahájeny až v roce 2004. Je zřejmé, že slabinou úzce specifické cílené léčby je především heterogenita nádorových populací v místě i v čase. Kombinace se standardní nespecifickou cytotoxickou léčbou bude v nejbližší budoucnosti stále nezbytná.

V oblasti výzkumu **protinádorových vakcín** se rovněž hovoří o ztrátě dosavadních paradigmat, na nichž specifická aktivní imunoterapie budovala. Byly nalezeny vhodné cílové antigeny a byly vypracovány účinné strategie vakcinačních režimů. Klinicky významné odpovědi však stále nepřesahují magických 10%. Výjimkou je pouze vakcinace proti hepatitidě B, kde je však prevence chronické B hepatitidy jako prekancerózy hepatocelulárního karcinomu až sekundárním účinkem i cílem. Primárně protinádorová vakcinace dosud významné úspěchy nezaznamenala a pozornost se obrací k individualitě imunitního ladění každého nemocného, kostimulačním faktorům a důvodům neúčinnosti paušálního postupu.

Stává se zřejmým, že součástí úspěšné vakcinace bude muset být především blokáda supresorických faktorů, které fyziologicky brání imunitní reakci vůči nádoru, respektive odhrožující protinádorové reakci. Důležitým faktorem je sice expanze cytotoxických buněk a dosažení jejich potřebné koncentrace v cílové tkáni, avšak ani tento požadavek nemusí být bez odblokování supresorických mechanismů dostatečný. Tento potentní mechanismus suprese transplantační reakce, která by v onkologii provedla revoluci v léčbě, není stále přesně rozpoznán. Samotná vakcinace, imunizace vůči rozpoznávanému cílovému antigenu, dokonce ani úspěšná expanze lymfocytů infiltrujících nádor (*TIL*), pro navození efektivní imunitní odpovědi stále nestačí. Existuje ještě „cosí“, co spouští efektivní imunitní reakci. Toto „cosí“ není v případě zhoubného nádoru pouhým antigenem, není zatím přesně rozpoznáno ani pojmenováno, natožpak regulovatelné. Někteří dokonce upozorňují, že eventuelní protinádorová imunitní reakce musí být nutně spojena také se známkami autoimunity v relevantních tkáních či orgánech, že tedy není protinádorová imunita bez autoimunity.

V duchu teorie Polly Matzingerové a Ephraima Fuchse, zdůrazňující v rozvoji efektivní imunitní reakce vůči nádoru nutnost nové kategorie signálu, „*signálu nebezpečí*“ (*danger model*), se objevují zprávy o vakcínách směřovaných vůči *hsp* (*heat shock proteins*). Cílovým antigenem jsou zde proteiny spojené s ohrožením buňky, reprezentující zároveň i onen „signál nebezpečí“. Vakcinace *hsp* je prováděna bez adjuvans, neboť *hsp* jsou podle výše uvedeného modelu pokládány za potentní adjuvans samy o sobě. Klinické aplikace vakcín založených na *hsp* jako cílových strukturách jsou v současné době zkoušeny u případů jaterních metastáz kolorektálního karcinomu.

Je ovšem obecným problémem ověřování účinnosti aktivní specifické imunoterapie, že se přizpůsobuje koncepci lékových studií a snaží se hledat účinnost nejprve v pokročilých stadiích nádorů, kde je nesporně naděje na efektivní reakci mizivá. Tento paradox zkoumání protinádorové imunity v pozdních fázích nemoci, kdy imunita evidentně selhává a cel-

ková nálož nádorových buněk přesahuje kapacitu efektorů, nebyl dosud v paradigmatech klinického zkoušení léků překonán. Jsou uváděny především etické důvody, ačkoli etika ověřování nových poznatků vedená logikou biologie je patrně jiná a bližší reálným potřebám.

**Protilátky** jsou dosud neúspěšnější kapitolou zavádění biopreparátů do léčby nádorů. Ani zde však nejsou mechanismy působení řádně rozpoznány. Protilátky užívané v léčbě buď I) mají vztah k signální transdukcii (*trastuzumab, cetuximab, rituximab, bevacizumab, epretuzumab*) nebo

II) pouze vážou cílový antigen bez evidentního vlivu na regulaci buněčných funkcí (*CAMPATH-1H, edrecolomab*).

Toto rámcové rozdělení však nemusí odpovídat skutečnému převažujícímu mechanismu účinnosti protilátky. Imunitní mechanismus účinku má být reprezentován především ADCC (*antibody-dependent cell cytotoxicity*) čili vazbou makrofágů nebo NK buněk na Fc fragment navázané protilátky, která tak navozuje kontakt nádorové buňky s protinádorovým efektozem. Finálním cytotoxickým mechanismem je pak fagocytóza (*makrofágy*) nebo přímá granzymem B zprostředkovaná cytolyza (*NK buňky*). Existují tudíž i pokusy různými způsoby zvýšit vazebná místa Fc fragmentu, aby ADCC reakce byla mohutnější. Pravděpodobnou limitací je ovšem počet efektorů v solidní nádorové tkáni, zatímco potenciál ADCC v adjuvantní situaci pro vazbu na menší množství cirkulujících nádorových buněk by mohl být podstatně vyšší. V klinické studii u kolorektálního karcinomu však adjuvantně podávaný edrecolomab (anti-CO17-1A) selhal jak v monoterapii, tak v kombinaci se standardním adjuvantním cytostatickým režimem. Zdá se, že předpoklad protinádorového účinku terapeutických monoklonálních protilátek založený na ADCC je zatím více spekulativní než datově podložený („*more philosophical than data driven*“).

Ovšem ani u protilátek spojovaných více s blokádou transdukcí signálu vazbou na specifický receptor není situace tak jednoznačná jak by se z teoretických představ zdálo. V případě anti-HER2 protilátky *trastuzumab (Herceptin)* je sice indikace podání preparátu pevně vázána na průkaz HER2/neu receptoru. I zde jsou však různě kombinovány nálezy proteinové exprese (*imunohistochemicky*) a genové amplifikace (*FISH*). Korelace jsou sice dobré, avšak nikoli absolutní, a existuje podskupina diskrepantních nálezů jak z hlediska DNA vs. protein, tak z hlediska receptor vs. účinnost léčby. Navíc jsou při terapii *trastuzumabem* pozorovány také významné aktivity T lymfocytů a není dosud jisté jaké jsou proporce účinků vázané na blokádu signální cesty HER2 – AKT a imunitně zprostředkovaného mechanismu ADCC. Je potěšitelné, že *trastuzumab* již vstoupil také do klinického hodnocení v adjuvantním podání v monoterapii v trialu HERA. Podobně i hodnocení humanizované rekombinantní anti-HER2 protilátky *pertuzumab (rhuMab 2C4)*, jež brání především heterodimerizaci HER2 receptoru, může pomoci blíže poznat mechanismus působení anti-HER2 terapie, která je efektivní jen asi u čtvrtiny nemocných s karcinomem prsu.

Ještě rozpornější je však léčba založená na blokáde tyrosinkinázové aktivity EFG receptoru. K dispozici jsou jak protilátky, tak nízkomolekulární blokátory tohoto dosti ubikvitárního receptoru. Ačkoli mechanismus i důsledky blokády EGFR jsou detailně popsány, překvapivě se nedaří prokázat korelacii exprese receptoru s účinností anti-EGFR preparátů. To zároveň nabourává jedno ze základních dogmat prediktivní onko-

logie, že efekt cílené léčby je přímo závislý na přítomnosti cílové struktury. Studie zabývající se densitou a heterogenitou exprese cílových struktur, ať již jde o HER2/neu, EGFR i jiných, ve vztahu k výsledku terapie jsou však poměrně vzácné ve srovnání s informačním bohem, který obvykle provází prodej preparátů a popis jejich klinických účinků. Důvodem mohou být i rozpaky ze skutečnosti, že dosud plně nerozumíme diskrepancím mezi mutací či amplifikací genu, jeho transkripcí, proteinovou expresí, posttranslační modifikací a účinností blokátoru jeho funkce.

Kromě očekávané **nové klasifikace nádorů** na základě genových map a transkripčních profilů bude stále nezbytnější také korelace s nálezy v proteomu. Půjde také o *sampling issue* čili otázky metodiky volby, sběru a uchovávání vzorků nádorových tkání, které by synchronní studie genomu i proteomu umožňovaly šířeji a v reálných klinických sestavách.

I v bioterapii nádorů, podobně jako v celé medicíně, tedy začíná platit, že po iniciální fázi simplifikací a překotných závěrů, slibujících převratné léčebné úspěchy novými preparáty, se dostavuje etapa realismu, návratu k detailnějšímu poznání i přesnější diagnostice, a k individualizovaným indikacím spíše než představě o masové úspěšnosti nových preparátů.

## INTERDEPENDENCE V PNEUMOLOGII

European Respiratory Society 13<sup>th</sup> Annual Congress Vienna 2003

**HORVATH T. A.**

MASARYKOVA UNIVERZITA BRNO

Světová pneumologie na evropském koncertu se specificky rakouským citem pro středoevropský prostor, co dokládá vyzvednutí osobností Severina Dauma (Congress Chair Award), jehož fundamentálním příspěvkem k současnému duchu společné Evropy je založení Societatis Europae Physiologiae Clinicae Respiratoriae (SEPCR) v Praze v r. 1966, předchůdkyně současné European Respiratory Society (ERS) a Jana Zielinskeho z Varšavy (Sadoul Honorary Lecture) renomovaného člena SEPCR, oslovenému stejně jako Paul Sadoul, Daumovým charismatem.

Maraton 3715 sdělení v 384 sekundách za 5 dnů. Od nozokomiálních nákaz po transplantaci plic přes nové obzory v terapii astmatu, nové zprávy o karcinogeneze (potenciálním prekurzorem malobuněčného karcinomu plic je intersticiální hyperplazie neuroendokrinních buněk), otázky efektivity kampaně proti kouření až k tuberkulóze balkánských běženců, novým diagnostickým technologiím, kvalitě života pacientů s COPD, včasné diagnostice a léčbě bronchogenního karcinomu, instrumentariu VATS, chemoprevenci, futurologickým diagnostickým a léčebným vizím, a... dostupnosti běžného RTG plic pod Uralem anebo v Rumunsku. Dokonalý obraz paradigmatu interdependence Benjamin Barbera. ERS stimuluje výměnu poznatků, forsíruje vzdělávání, podporuje výzkum

Nazírá potřebu přerozdělení zdrojů v řešení problému rozvoje: na jedné straně nadměrného na druhé nedostatečného. Invence ani prostředky nechybí, je deficit praktické distribuce. Budoucnost patří budovatelům mostů, kteří to tradičně nemají (ani nemohou mít) lehké.

Reference:

European Respiratory Journal, Volume 22, Supplement 45; 2003

## ZÁPIS Z JEDNÁNÍ VÝBORU ČESKÉ ONKOLOGICKÉ SPOLEČNOSTI KONANÉHO DNE 2. 12. 2003 V PLZNI

**Přítomni:** Vorlíček, Finek, Aschermannová, Stáhalová, Eckschlager, Rob, Vyzula, Cwiertka, Petera, Žaloudík

**Omluveni:** Petruželka, Stankušová, Konopásek, Příbylová, Jelínková, Petera

**Hosté:** Geryk, předseda Rady NOR

1. Kontrola bodů z minulé schůze - úkoly jednání na WHO, se SÚKL a NOR - jsou předmětem dalších bodů programu.
2. Informace o jednání zástupců výboru prof. Vorlíčka a prof. Žaloudíka s ředitelkou ÚZIS dr. Mazánkovou k NOR, kde dosaženo shody ve všech bodech, tedy důrazu na využívání registru formou SVOD, modernizace sběru dat vývojem elektronické hlášenky, změny v organizaci Rady NOR rozdělením na správní a interpretační složku. Informace o stavu řešení registru ve zdravotním výboru Poslanecké sněmovny, kde bod o zdravotních registrech zatím odročen, nicméně k 1. 1. 2004 vyprší dosavadní legislativa, další pro pokračování registrace chybí – shoda výboru, že prof. Vorlíček bude kontaktovat doc. Emmetrovou, předsedkyni Zdravotního výboru PS a nabídné jednání o NOR se zástupci ČOS pro podporu nové racionální legislativní normy.
3. Prof. Žaloudík informoval o konzultačním jednání WHO v Ženevě ve dnech 25.-28.11.03, kterého se zúčastnil za ČOS spolu prof. Dienstbierem (LPR) a dr. Rízkovou (MZČR). Byla zdůrazněna celková připravenost ČR pro formulování Národního onkologického programu podle pravidel a požadavků kladených na National Cancer Control Programs jak jsou podporovány ve WHO, UICC i strukturách EU. Jednání se zúčastnilo asi 20 evropských států a mnoho celoevropských odborných a koordinujících institucí. V závěru prezentace pak byl ve výboru předložen prof. Žaloudíkem návrh textu, který dále prodiskutován a schválen jako Národní onkologický program pro Českou republiku, byly dohodnuty formy jeho šíření v institucích a organizacích i další popularizace. Počítáno je s podporou MZ ČR, LPR, odborných, ovšem i společenských a pacientských institucí. Osloveny budou také kraje a poslanci. Přijatý Národní onkologický program je přílohou zápisu.
4. Výbor ČOS vyslechl informaci dr. Geryka o současném stavu NOR a aktuálních i přetrvávajících problémech. Nejaktuálnější je otázka zachování registru vůbec, neboť dosavadní legislativní norma pozbývá platnost koncem roku a nová není přijata. V podrobné diskusi bylo zdůrazněno, že problém NOR má tři roviny, uhájit existenci s další stabilitu registru legislativním ukotvením, protože je nezbytný pro dohled nad stavem a kvalitou onkologické péče, slouží zájmům nemocných a je podporován mezinárodními odbornými institucemi WHO, UICC, IARC pro zajištění potřebné úrovně zdravotnictví a mezinárodní operace v onkologii. Dále je zde problém další správy registru, což jsou placené činnosti v kompetenci krajů, ÚZIS a servisních organizací jako je v současnosti ICZ. Třetí oblastí, pro kterou se cítí kompetentní odborná onkologická veřejnost organizovaná v ČOS, jsou interpretace a využívání dat NOR a má ČOS připraven funkční specifický software SVOD (systém pro vizualizaci onkologických dat). Tento je však dosud daty naplňován s obtížemi pro řadu administrativních bariér, přestože jde o data anonymizovaná. Dále byla diskutována dostupnost dat NOR v čase bez zbytečného několikaletého prodlení, i když je zřejmé, že je možno uvádět již v následujícím roce data aktuální a dodatečně po 2-3 letech i kompletizovaná. Výbor se usnesl, že je v zájmu nemocných i rozvoje oboru aby byla veřejně dostupná veškerá data vyplývající z hlášenky NOR týkající se struktury diagnostiky a terapie. O analýze přežití výbor ČOS soudí, že je opět prospěšné pro pacienty i zdravotnické pracoviště, aby analýzy svých výsledků obdrželo aspoň dané zdravotnické zařízení

spolu s průměrem kraje a republiky. Jde o příspěvek k sebekontrole kvality zdravotní péče každým pracovištěm. Je však nutno zajistit nápravu, aby do hlášenky byla uváděna výhradně pracoviště s odpovědností za léčebné výsledky, nikoli pracoviště formálně registrovaná.

5. Ve věci faktické blokáce klinických studií a mezinárodní odborné spolupráce v ČR pravidly SÚKL výbor ČOS konstatuje, že obdržená odpověď ředitele SÚKL dotaz výboru ČOS nevysvětluje ani problém neřeší. Je tedy třeba dále jednat osobně s vedením SÚKL a zjistit, proč pravidla ČR jsou náročnější než v okolních zemích, takže ČR se stává pro mezinárodní organizace problematickou zemí pro spolupráci.
6. Z fondu Běhu T. Foxe bylo pro podporu projektů ČOS věnováno Obcí sokolskou 2 miliony Kč. Grantové přihlášky BTF jsou shromážděny a oponovány, závěrečné pořadí stanoví vyhodnocením oponentur komise výboru ČOS na zvláštním jednání v Brně 7. 1. 2004 (členové komise Vorlíček, Cwiertka, Abrahamová, Vyzula, Žaloudík).
7. Výbor ČOS vyslechl informaci z dopisu ředitele Dr. Březovského, kterým příznivě reaguje na žádost výboru ČOS, že je počítáno se zařazením navigačních kódů stadií zhoubných nádorů do pravidel DRG. Toto opatření výbor ČOS vítá, nicméně je třeba dále ujasnit jak toto opatření bude dále zapracováno a realizováno v praxi. Výbor ČOS pověřil získáním doplňujících informací doc. Vyzulu a prof. Žaloudíka, kteří se v této věci spojí přímo s dr. Březovským.
8. Pokladník ČOS dr. Finek dostal pokyn provést revizi majetku ČOS, s tím, že podle záznamů ČLS se v majetku ČOS nachází počítač a tiskárny staršího data v původní ceně 194 tis. Kč. Tento majetek nebyl pokladníkem minulého výboru dr. Fischerem předán a dosud čekáme na odpověď bývalého předsedy prof. Klenera, kterému byl zaslán doporučený dopis s dotazem.
9. Soustředit léčbu varlat do onkologických center I. typu dle koncepce oboru Klinické a Radiační onkologie, která mají zabezpečený program kvality pro tuto diagnózu a dostatečný počet pacientů. Centra musí svým technickým a personálním vybavením splňovat podmínky radikální radioterapie (viz koncepce oboru radiační onkologie na <http://www.srobf.cz>, protože součástí protokolů u časných stádií seminomu je radioterapie s kurativním cílem.
10. Dr. Stáhalová informovala o recentní randomizované studii publikované v časopisu Lancet, v níž skupina ozařovaná při aplikaci erythropoetinu dosáhla horších výsledků než skupina ozařovaná bez erythropoetinu. Výbor ČOS to pokládá za významnou signální informaci, kterou bude třeba dále prověřovat, včetně analýzy v tuzemských sestavách.
11. Doc. Vyzula informoval o požadavku firmy Roche přemístit referenční laboratoř pro potvrzující vyšetření HER2 metodou FISH z FN Olomouc do MOU Brno. Tento požadavek firma Roche vznáší, protože tuto diagnostiku v referenční laboratoři pro druhá potvrzující vyšetření, dotuje a má k tomu metodické důvody. Výbor ČOS vzal tuto informaci na vědomí bez připomínek.
12. Výbor ČOS se shodl na svém zájmu o stav skriningových programů v ČR, které mohou být významným nástrojem redukce mortality u vybraných diagnóz. Proto postupně požádá osoby odpovědné za skrining mamární, kolorektální a cervikální o prezentace a besedy na svém jednání. První prezentace bude připravena o auditu mamárního skriningu pro jednání výboru ČOS 16. 1. 2004 v Brně. Dále bude odeslán dopis paní ministryni s požadavkem, aby členem komise pro kolorektální skrining, která byla nedávno jmenována, byl také zástupce výboru ČOS. Podobně pak bude účast svého zástupce požadovat i v případě cervikálního skriningu, bude-li takováto komise jmenována.
13. Výbor ČOS schválil přihlášky prof. Peška a dr. Baláže za členy ČOS.

## ZÁPIS Z JEDNÁNÍ VÝBORU ČESKÉ ONKOLOGICKÉ SPOLEČNOSTI KONANÉHO DNE 16. 1. 2004 V BRNĚ

**Přítomni:** Vorlíček, Cwiertka, Fínek, Jelínková, Petera, Petruželka, Příbylová, Rob, Stáhalová, Stankušová, Vyzula, Žaloudík

**Omluveni:** Abrahámová, Aschermannová, Eckschlager, Kono-pásek

**Hosté:** Bartoňková, Daneš, Skovajsová

1. Výbor schválil přihlášky nových členů: Gorbunov (I. chir. Brno), Salvét (RTO Plzeň), Zimovjanová (Onk. Klin. VFN Praha), Stríž (Nové Město), Hofman (K. Vary), Křen (PAÚ FN Brno), Uvírová (Ostrava), Coupková (FNUSA Brno), Dvořáčková (patol. lab. Ostrava), Heřmánek (Kutná Hora), Kordíková (Praha), Janášová (Lysá n. L), Dvořák (Onkol. klin. Hradec Králové).

2. Na jednání vystoupili jako hosté zástupci Komise odborníků pro mammodiagnostiku doc. Daneš, dr. Skovajsová a dr. Bartoňková a podrobně referovali o pravidlech, fungování a průběžném hodnocení stavu mamárního screeningu v ČR. Své sdělení dokumentovali prezentační kritérií pro akreditaci screeningového pracoviště a dosavadních výsledků screeningu v ČR. Každá žena vyplňuje před vyšetřením dotazník pro vyhodnocení rizik C50, je zahištěno napojení a onkogenetická vyšetření v případě zvýšeného hereditárního rizika. Screening je monitorován systémem jednotného parametrického auditu s podporou specifického softwarového programu MaSc. Kontrola po roce práce proběhla již na 44 pracovištích akreditovaných pro screening, 4 pracoviště požadavkům nevyhověla. Zástupci KOMD zároveň prezentovali koncepci další práce ve screeningovém programu. Členové výboru pak diskutovali k různým aspektům organizace screeningu a zdůraznili potřebu kontroly návaznosti screeningových pracovišť na kvalifikovanou péči u zachycených případů karcinomu prsu, což je jedním z přijatých akreditačních kritérií.

Výbor ČOS vyslovil spokojenost s dosavadním průběhem mamárního screeningu v ČR. Velmi moderní organizace screeningu v ČR je ovšem v části pokryta pouze iniciativou KOMD a hledáním sponsoringu pro udržování datového auditu. Do budoucna bude muset toto krytí nákladů na hodnocení kvality screeningu systémově kryt VZP nebo dotace MZD. Vedení auditu totiž nepochybně odpovídá to záměrům HTA v onkologii a standardům, které budeme muset naplňovat po vstupu do EU. Výbor ČOS podporuje všechna jednání KOMD upřesňující rozsah nutné podpory screeningu.

3. Problematika návrhu Národního onkologického programu, schváleného na minulých schůzích: Výbor vyslechl souhlasný dopis náměstka MZD dr. Špačka a jeho návrh zařadit tento bod do programu VR MZD. Mezitím se spontánně k programu hlásí různé společenské organizace. Výbor ČOS rozhodl NOP upravit po schválení VR MZD do podoby letáku v češtině i angličtině pro další jeho popularizaci a získávání podpory.

4. Předseda ČOS informoval o jednání komise výboru, která rozhodla o přidělení grantu z prostředků Běhu T. Foxe: viz příloha

5. Byla opět vedena diskuse o stavu registrace onkologických dat v NOR a jejich využívání. Výbor bude po projednání a schválení zákona o registraci medicínských dat v rámci nové podoby zákona usilovat, aby zpracovaná onkologická data dostávala automaticky pracoviště, z nichž data pocházejí a aby

všechna pracoviště dostávala kumulovaná a samozřejmě anonymizovaná data krajů a republiky, aby je mohla užívat za pomoci SW SVOD. Sebehodnocení struktury, kvality a výsledků onkologické péče bude nesporně v blízké budoucnosti součástí kritérií pro akreditace onkologických pracovišť pro specializovanou onkologickou péči, jejichž koncepci v návrhu výbor ČOS postupně připravuje.

6. Výbor dále jednal o problematice pravidel pro klinická hodnocení (at již jde o klinické studie léčivé či jiné, komerční či akademické) v kontextu změn indukovaných SÚKL na základě Direktivy EC 20/2001. Diskutoval také v širším evropském kontextu stanovisko OECI publikované v Lancet Oncology. Tam jsou komentována nebezpečí nepochopení smyslu této direktivy členskými zeměmi a nebezpečí blokády firemního, zejména akademického výzkumu v Evropě a nekompetitivnosti Evropy přemírou byrokratické aktivity. Podmínky v ČR jsou nyní nastavovány zbytečně zničujícím způsobem a interpretace Direktivy EC je krátkozraká a přehnaná. Doc. Vyzula poznamenal, že je také o souvislost s multidisciplinárními etickými komisemi, jejichž ustavování je také netransparentní. Předseda ČOS a další zástupci výboru budou jednat v této věci s ředitelem SÚKL 2. 2. 2004.

7. Předseda ČOS informoval o úspěšném jednání s doc. Emmetrovou o významu registrace a zpracování údajů v onkologii a následném kladném stanovisku Poslanecké sněmovny k této věci z prosince 2004, byt po diskusích a odkladech.

8. Výbor ČOS schválil materiál připravený pro ČLS JEP o historii ČOS. Tento materiál bude ještě dále propracován pro víceúčelové využití v spolupráci s doc. Linhartovou z oddělení historie medicíny při LF MU.

9. Předseda ČOS podal informaci o žádosti ředitelky ÚZIS o úvodník k novému vydání TNM klasifikace. Dále byla podána informace o odmítnutí úvodníku k Ročence NOR, neboť takovéto záštíťe výběrem ČOS musejí předcházet koncepční ujednání o systémové spolupráci výboru ČOS a ÚZIS. Úvodníky dosud zpracovával, stejně jako celou strukturu ročenky ÚZIS. Výboru ČOS jde o faktickou, nikoli jen formální spolupráci při využívání dat NOR.

10. Dr. Stankušová informovala o jednání VR ČLK s tématem onkologické péče a spolupráce s praktiky. Na základě této informace i na základě zápisu z VR LK, který obdržel předseda Vorlíček, bylo konstatováno, že je nutno oddělit spolupráci ČOS s praktiky v preventivní péči a vedení preventivních onkologických prohlídek od problematiky struktury a kvality onkologické péče jako takové. Pravděpodobně bude na VR LK vyvoláno další vysvětlující jednání za účasti předsedy ČOS.

11. Dr. Jelínková upozornila na znevýhodnění k něměž dochází při platovém zařazování onkologických sester v novém katalogu prací. Výbor se shodl že jde o kompetenci vedení nemocnic a odborů, případně Společnosti sester, nikoli o problematiku v kompetenci výboru ČOS.

12. Byla podána informace o konferenci 7. Setkání mladých onkologů, které organizují dr. Novotný dr. Janků, výbor ČOS se seznámil s programem a přebírá záštitu

Příští zasedání výboru ČOS se koná v Radioterapeutickém ústavu FN Bulovka v Praze dne 3. 2. 2004 v 9:00.