

VYDÁVÁ
ČESKÁ LÉKAŘSKÁ
SPOLEČNOST J. E. PURKYNĚ
IČO 444359

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

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

Sekretář redakce:
ing. Zdeněk Bouša

Grafická a technická úprava:
Bohuslav Havlíček

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

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

Expedici na základě roční objednávky
vyřizuje redakce

Ministerstvo kultury ČR
MK ČR 5158
ISSN 0862-495 X

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

INDEXED IN EXCERPTA MEDICA

ČASOPIS ČESKÉ ONKOLOGICKÉ SPOLEČNOSTI
A SLOVENSKEJ ONKOLOGICKEJ SPOLOČNOSTI

THE JOURNAL OF THE CZECH AND SLOVAK
ONCOLOGICAL SOCIETIES

VEDOUcí REDAKTOR: REJTHAR ALEŠ

ZÁSTUPCE VEDOUcíHO
REDAKTORA: KOZA IVAN
VÝKONNÝ REDAKTOR: FAIT VUK

REDAKTOŘI:

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

REDAKČNÍ RADA:

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

Přehled	
Kaplan Z., Ondrák M., Jelínek P. Radiofrekvenční ablace jaterních malignit	151
Helánová Š. ¹ , Vyzula R. ² , Žaloudík J. ^{1,2} , Nenutil R. ³ , Müller P. ¹ , Češková P. ¹ , Valík D. ⁴ , Vojtěšek B. ¹ Technologie ciphergen - nová perspektiva v proteomice nádorových onemocnění	157
Kepák T. Pozdní následky po léčbě nádorových onemocnění dětského věku	162
Původní práce	
Kalábová R. ¹ , Neumannová R. ² , Koukalová H. ¹ Taxol nebo cisplatina v konkomitantní chemoradioterapii karcinomu děložního čípku?	167
Kazuistika	
Štěrba J. ¹ , Procházka J. ² , Ventruba J. ³ , Křen L. ⁴ , Dembická D. ¹ , Zapletal O. ⁵ , Burgetová D. ⁶ , Zitterbart K. ¹ , Mudry P. ¹ Úspěšná léčba histologicky ověřeného aspergilového abscesu mozku u dítěte s akutní lymfoblastickou leukémií a jaterním selháním ..	172
Zprávy	
Foretová L., Goetz P. Zpráva z konference – Familial Cancer Conference – Madrid 6.–7. 5. 2004	178
Informace	
Adam Z., Vorlíček J. Jaká je optimální dávka klodronatu pro pacienty s maligní osteolýzou?	180
Knihy	161, 166
Onkologické společnosti	184

CONTENTS

Reviews	
Kaplan Z., Ondrák M., Jelínek P. Radiofrequency ablation of liver malignancies	151
Helánová Š. ¹ , Vyzula R. ² , Žaloudík J. ^{1,2} , Nenutil R. ³ , Müller P. ¹ , Češková P. ¹ , Valík D. ⁴ , Vojtěšek B. ¹ Ciphergen technology - new perspective in proteomics of tumour biology	157
Kepák T. Late effects after completion of treatment for a pediatric malignancy	162
Original publications	
Kalábová R. ¹ , Neumannová R. ² , Koukalová H. ¹ Taxol or cisplatin in the concomitant chemoradioterapy of locally advanced cervical cancer?	167
Case Report	
Štěrba J. ¹ , Procházka J. ² , Ventruba J. ³ , Křen L. ⁴ , Dembická D. ¹ , Zapletal O. ⁵ , Burgetová D. ⁶ , Zitterbart K. ¹ , Mudry P. ¹ Successful treatment of aspergillus brain abscess in child with acute lymphoblastic leukemia and concomitant acute liver failure	172
Report	
Foretová L., Goetz P. Familial Cancer Conference – Madrid 6. - 7. 5. 2004	178
Notification	
Adam Z., Vorlíček J. What is the optimal clodronate dose in patients with malignant osteolysis?	180
Book	161, 166
Oncological associations	184

RADIOFREKVENČNÍ ABLACE JATERNÍCH MALIGNIT

RADIOFREQUENCY ABLATION OF LIVER MALIGNANCIES

KAPLAN Z., ONDRÁK M., JELÍNEK P.

MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV BRNO, ODDĚLENÍ INTENZIVNÍ ONKOLOGICKÉ PÉČE
CHIRURGICKÉ ONKOLOGIE

Souhrn: Primární i sekundární nádory jater představují terapeutický problém. Pouze méně než 15% pacientů s jaterním postižením jsou kandidáty chirurgické resekce, která s 20-30% úrovní pětiletého přežití je stále považována za zlatý standart v léčbě tohoto onemocnění. U nemocných léčených ostatními modalitami léčby včetně chemoterapie je pětileté přežití na úrovni nižší než 1%. Radiofrekvenční ablace (RFA) je relativně novou metodou indikovanou v terapii neresekabilních nádorů jater. Principem metody je využití vysokofrekvenčního proudu generovaného v RF generátoru, který je elektrodou různého tvaru a konstrukce dopraven do cílového ložiska, kde způsobí koagulační nekrózu. V současné době v klinické praxi dominují přístroje tří světových výrobců – Radionics, RITA Medical System a Radiotherapeutics. Systém Radionics využívá jednoduché či cluster Cool tip chlazené elektrody a impedanční zpětné vazby v algoritmu RFA. Poslední dva jmenované používají deštníkové expandibilní elektrody s možnou dvoustupňovou ablací cílového ložiska. Výhodou této ablační metody je možnost aplikace perkutánním přístupem, peroperačním laparotomickým přístupem (event. i v kombinaci s chirurgickou resekci) resp. miniinvasivní laparoskopickou cestou. Indikační kritéria RFA nebyla dosud přesně stanovena a jsou stále upravována. Základním indikačním kritériem je neresekabilní nádor jaterní tkáně či recidivující jaterní postižení, případně jaterní postižení u pacientů kontraindikovaných chirurgické resekci. Cílem metody je kompletní destrukce nádorového ložiska. V případě rozsáhlejšího postižení jaterního parenchymu větším ložiskem překračujícím ablační možnosti dané elektrody lze využít opakovaně inserce elektrody k zajištění kompletní destrukce cílového ložiska. V těchto případech je však riziko lokální rekurence několiknásobně vyšší. Indikačním limitem může být i počet ložisek. Dle předběžných výsledků udávaných v literatuře (Curley, Wood, Solbiati) se RFA jeví jako bezpečná a účinná metoda s minimem komplikací. Autoři zmiňují v přehledu principy této metody, jednotlivé přístupy a indikační kritéria této metodiky spolu s výsledky prvních publikovaných studií.

Klíčová slova: Radiofrekvenční ablace - RFA - nádory jater - elektrody

Summary: Primary and secondary hepatic malignancies represent a therapeutic challenge. With its 20% - 30% five-year survival rate, surgical resection is still considered the gold standard in treatment of hepatic malignancies, however, only less than 15% of these patients are hepatic resection candidates. The remaining patients treated with other modalities including chemotherapy show a lower than 1% five-year survival rate. Radiofrequency ablation (RFA) is a relatively novel treatment modality indicated in treatment of unresectable hepatic malignancies. Modern RFA systems generate a high-frequency electrical current passing through the non-insulated tip of the needle-electrode into the target tissues to cause a thermal induced coagulation necrosis. The three major brands of RFA equipment currently available are Radionics, RITA Medical System, and Radiotherapeutics. The Radionics system utilizes single or cluster Cool tip electrodes with an impedance reaction in the RFA algorithm. The other two commercial manufacturers use umbrella RFA electrodes with multiple probes and two-stage ablation option. The advantage of this ablation method lies in the possibility of a percutaneous approach, a minimally invasive laparoscopic access, or via laparotomy eventually combined with a surgical resection. The RFA indication criteria keep being evolved and are yet to be distinctly established. The goal of the method is a complete destruction of the tumor tissue. The main indication for the use of RFA is an unresectable primary or recurrent hepatic tumor. RFA should also be considered in patients unable to undergo a surgical resection via laparotomy. In case of large lesions multiple overlapping ablations are required to ensure a complete tumor destruction. However, in these cases the risk of local recurrence is significantly higher. The total number of hepatic lesions can represent a limiting indication factor as well. According to the preliminary clinical experiences published so far (Curley, Wood, Solbiati) the RFA appears to be a safe and effective method with few major complications. The authors describe the principles and indications of the RFA method, compare various approaches and indication criteria, and report the results of the initial trials.

Keywords: Radiofrequency ablation - RFA - Liver cancer - Electrodes

Úvod

Primární i sekundární nádory jater stále představují terapeutický problém.

Jaterní parenchym je po lymfatických uzlinách druhým orgánem nejčastěji postiženým metastatickým procesem (1, 2). Nejvíce jsou zastoupeny metastázy kolorektálního karcinomu. Metastatické postižení při gynekologických a endokrinních nádorech GIT, u karcinomu prsu a nádorů ledvin je v našich podmínkách méně časté. Z primárních nádorů jater je v ČR nejčastější hepatocelulární karcinom.

Z takto postižených nemocných je méně než 15% indikováno k chirurgické resekci, která je s udávanou úrovní pětiletého přežití na hladině 20-30% (dle některých autorů až 50% při solitárním jaterním postižení) stále považována za zlatý standart v léčebném algoritmu takto pokročilého onemocnění

(3, 4, 5, 6, 7). U nemocných léčených jinými modalitami léčby včetně chemoterapie je pětileté přežití na úrovni nižší než 1% (8, 9, 10, 11).

Z výše uvedeného je zřejmé, že zbývá stále ještě značné procento pacientů, kterým nelze nabídnout resekční výkon jako potenciálně kurativní metodu léčby. Tito pacienti jsou vedle systémové a lokoregionální chemoterapie odkázáni na metody ablativní, v rámci kterých je v poslední době stále častěji aplikována „staronová“ metoda radiofrekvenční ablace (RFA).

Historie

Historie termoablačních experimentů sahá do konce 19. století, kdy francouzský fyzik Arsene d'Arsonval popsál tepelné účinky vysokofrekvenčního proudu na živou tkáň. Vzhledem

k nedostatku přístrojů však nebyly jeho experimenty zavedeny do klinické praxe.

První léčebně využitelný generátor vysokofrekvenčního proudu se objevil až o několik let později - začátkem 20. století a byl využíván k termální ablacii drobných kožních lézí. Mezi nejstarší oficiálně dokladované zprávy o využití vysokofrekvenčního proudu v lékařství jsou experimentální záznamy neurochirurga Harveye Cushinga, který využíval radiofrekvenční proudy k léčbě patologických ložisek v centrálním nervovém systému. Spolu s fyzikem Williamem Boviem zkonstruovali první elektroauter využívaný v chirurgii, kterým Cushing v roce 1926 poprvé v historii neurochirurgie odňal vaskularizovaný mozkový nádor bez jakéhokoliv krvácení. Tento první komerčně dostupný elektroauter byl oficiálně představen Cushingem a Boviem roku 1928. Vzhledem k tomu, že proudové vlny generované tímto zařízením byly stejné frekvence jako frekvence ráiových vln byly nazvány radiofrekvenčními vlnami (12).

Od 50. let 20. století byly radiofrekvenční přístroje využívány v experimentální neurochirurgii a koncem 80. let minulého století zejména v kardiologii k RFA aberantních srdečních drah (13). Prakticky až v poslední dekádě 20. století byly začleněny do onkologických ablativních metodik.

První publikované experimenty s perkutánní RFA v termální ablacii jaterních nádorů jsou experimenty italských onkologů, kteří začali využívat této metodiky v terapii centrálně uložených primárních nádorů jater (14). Úspěchy této metody byly dokladovány sledováním takto ošetřených pacientů s dokumentovanou CT a angiografickou regresí takto abladovaných nádorů.

Princip metody RFA

Radiofrekvenční energie je definována jako vysokofrekvenční část elektromagnetického spektra (15).

Stejně jako původní RF generátory využívají moderní radiofrekvenční přístroje stejných principů - tedy generace vysokofrekvenčního proudu (100-500 kHz), který je elektrodou různého tvaru a velikosti dopraven do tkáně, kde je měněn v teplo. Vzhledem k tomu, že živé tkáně jsou tvořeny solnými roztoky s relativně špatnou vodivostí, dochází při průchodu radiofrekvenčního (RF) proudu tkání k pohybu iontů a molekul vody, což má za následek zahřátí tkáně. Maximum tepelné energie, která vzniká při průchodu RF proudu tkání, je koncentrováno kolem aktivní elektrody a klesá spolu se vzdáleností od elektrody. Buňky v okolí pracovní části elektrody jsou zahřívány na teplotu 50 stupňů a vyšší, při této teplotě se začínají rozpouštět buněčné membrány a dále dochází k postupné denaturaci buněčných bílkovin s jejich ireverzibilním poškozením. Vyšší RF proud způsobí větší pohyb iontů a tedy i vyšší tepelnou energii avšak pouze do určité míry dané odporem tkáně. Při velmi vysokých teplotách dochází k odpařování tkáně (vaporizace) a uhelnatění (karbonizaci) buněk v okolí elektrody a sníženému ablačnímu účinku.

Strategie termoablačních metod vychází z obecně platného biofyzikálního vztahu mezi elektrickou energií (napětím), proudem a impedancí (odporem) tkáně. Je-li aplikován příliš vysoký proud, dochází v okolí elektrody k vaporizaci buněk a tím ke zvýšení elektrického odporu tkáně, což má za následek omezení dalšího toku proudu a tím i zvyšování teploty (16,17). Při ablacii větších ložisek musí být tedy přesně regulována velikost aplikovaného RF proudu k dosažení maximálního účinku bez „přepálení“. V praxi lze toto sledovat dle typu použitého přístroje buď přímým měřením výsledné teploty abladovaného ložiska (RITA), nebo monitoringem impedance v abladované tkáni, která má být v rozmezí 35-100 Ohm (Radionics, Radiotherapeutics). Hodnoty nad 100 Ohm znamenají pálení tkáně s její karbonizací a tedy i snížený ablační účinek.

Základním předpokladem úspěšné radiofrekvenční ablace je kompletní zničení nádorového ložiska s minimálním poško-

zením okolních tkání, přičemž v onkologické indikaci má být respektován požadavek ablace 5-10 mm „bezpečnostního“ okraje zdravé tkáně v okolí tumoru pro předpokládaný výskyt potenciálních maligních buněk ve tkáňových šterbinách v okolí ložiska (16, 17).

Velikost a tvar abladovaného ložiska závisí na

- generovaném teple uvnitř ložiska
- „bioteplných“ vlastnostech cílové tkáně, které jsou charakterizovány ztrátou tepla ve tkáni (vedením tepla ve tkáni, vaskularizací tkáně a jejího okolí)
- velikosti a tvaru použité elektrody

Vztahy mezi teplotou uvnitř abladovaného ložiska a mírou termálního poškození (a tedy i dokonalostí koagulační nekrózy) se zabýval Cosman et al. (18). Dle jeho výsledků lze očekávat poškození nádorových buněk tangovaných chemoterapií a radioterapií již při teplotách kolem 42-45 °C, avšak po relativně krátké době dochází opět k reparaci buněčných systémů a nádorové buňky opět expandují (19, 20).

Ireverzibilní buněčné změny nastávají teprve při dlouhodobé expozici buněk teplotám 46 °C a dále progredují při dalším teplotním nárůstu (21). Při teplotách 50-100 °C nastává smrt buněk během 4-6 minut.

Biologickou podstatou ireverzibilních buněčných termoablačních změn je denaturace buněčného cytosolu a mitochondriálních enzymů spolu s jadernými acid-histon proteiny. Dále dochází k roztavení membránové fosfolipidové dvojvrstvy a při unikání buněčných plynů k jejímu rozpadu (22, 23).

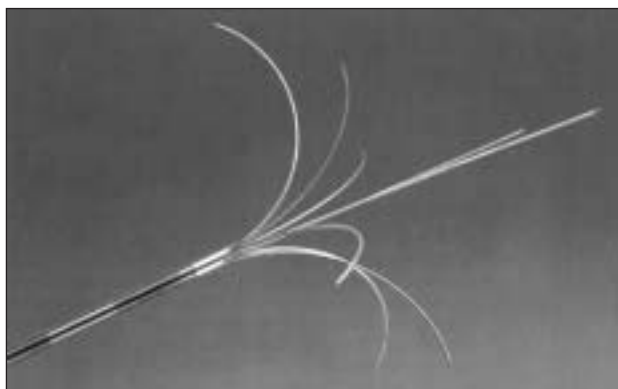
Všechny tyto formy koagulační nekrózy nemusí mít zejména v časně fázi po ablacii zřejmou morfologickou odezvu při histopatologickém hodnocení abladované tkáně, což lze dokladovat opakovaným histologickým hodnocením abladovaného ložiska bez jakéhokoliv zřejmého buněčného poškození při standardním typu tkáňového barvení.

Jako optimální teplota RFA je udávána teplota od 50 do maximálně 100 °C. Teploty vyšší (nad 105 °C) způsobují vaporizaci a karbonizaci tkáně, které extrémně zvyšují tkáňový odpor a tak snižuje ablační účinnost RF proudu (24).

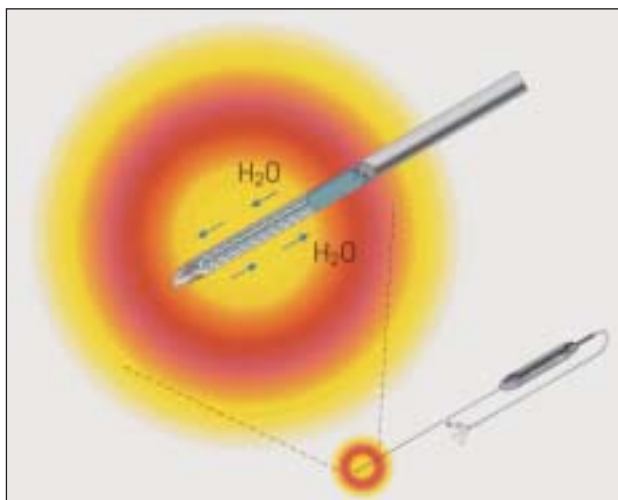
Úspěch všech termálních ablačních metod, RFA nevyjímaje, je závislá na adekvátním předání generovaného proudu v cílové tkáni. Schopnost cílové tkáně absorbovat dodanou tepelnou energii je ovlivněna mnoha faktory, které svou biofyzikální rovnicí definoval Pennes (25). Tyto složité „bioteplné“ interakce později zjednodušil Goldberg (26), který dle výsledků svých experimentů formuloval základní vztah mezi indukovanou termální ablací a výslednou koagulační nekrózou, jako **výsledek interakce aplikované ablační energie (oslabené o tepelnou ztrátu) a lokální tkáňové odezvy**. Z tohoto postulátu rezultují snahy o potenciaci ablačního účinku buď zvýšením použité **RF energie** (které je však vzhledem k hrozcivému „přepálení“ tkáně limitováno) nebo ovlivněním **tkáňové odezvy** cílového ložiska (lokální aplikací fyziologického roztoku, cytostatik...). **Tepelnou ztrátu** v okolí abladovaného ložiska lze ovlivnit snížením krevního průtoku v cílové tkáni (např. embolizací nebo vaskulární exkluzí orgánu - Pringle).

Velikost, tvar i rozsah abladovaného ložiska je dán typem použité elektrody, která zajišťuje předání generovaného RF proudu do cílové tkáně nádorového ložiska. Původní monopolární elektrody, využívané v neurochirurgii a invazivní kardiologii k likvidaci hyperaktivních neurologických fokusů nebo přerušování intrakardiálních aberantních drah, dokázaly zkoagulovat okrasek tkáně do velikosti 1,6 cm (27). Podobně Goldberg, který experimentoval s různými průměry (12-24 gauge) a délkami (0,5-8 cm) elektrod, nedosáhnul v případě konvenčních nechlazených monopolárních elektrod většího ablačního účinku než 1,8 cm podél aktivní části elektrody. Během těchto experimentů však potvrdil, že průměr výsledné koagulační nekrózy koreluje s průměrem elektrody a průběhem (resp. dobou trvání a zvoleným algoritmem) ablace (28). Délka abladovaného ložiska odpovídá délce neizolované pracovní části elektrody, teplota její pracovní části v průběhu ablace však není

Obr. 1. Deštníkový tvar elektrody s vysunutými háčky (Rita).



Obr. 2. Cool tip elektroda. Uvnitř elektrody schematicky znázorněny dvě dutiny promývané ledovým fyziologickým roztokem k ochlazení aktivní části elektrody.



v celém rozsahu stejná. Nejvyšší teploty jsou na proximálním a distálním konci pracovní části elektrody. Teplotní rozdíl je také přímo úměrné délce pracovní části elektrody, což koreluje s rozsahem a také kvalitou koagulační nekrózy podél pracovní části elektrody. Tyto závěry pak přiměly výrobce k mnoha dalším zkouškám a novým a novým tvarům elektrod se snahou o zvýšení ablačního účinku a dosažení bezpečnější koagulační nekrózy. Výsledkem těchto pokusů je dnes hojně rozšířený expandibilní deštníkový tvar RF elektrody (RITA, Radiotherapeutic - obr.1). Podstatou tohoto systému je různě velký počet srpovitě zahnutých tenkých vláken deštníkovitě se rozvětvujících z centrálního kanálu elektrody tak, aby maximální možnou měrou vyplnily potenciální ložisko.

Další běžně užívanou elektrodou je elektroda s vnitřním chlazením („cooled tip“). Jedná se o monopolární elektrodu jejíž pracovní část o průměru 14-18 gauge obsahuje dvě oddělené dutiny. Jedním kanálkem je speciální pumpou přiváděn ledový roztok, který je po ochlazení pracovní části elektrody v průběhu termoablace odveden zpět do zásobníku s ledovou tříští mimo vlastní elektrodu (obr.2). Tento systém chlazení zabráňuje nadměrnému zvýšení teplot v průběhu termoablace a přepálení v okolí elektrody s jeho negativními důsledky. Pomocí elektrod s vnitřním chlazením je možné dosáhnout většího průměru koagulační nekrózy než při použití konvenčních monopolárních elektrod. Goldberg v experimentu dosáhl při použití tohoto typu elektrod o délce pracovní části 1, 2, 3 resp. 4 cm koagulační nekrózy o průměrové velikosti 2,5-4,5 cm. K obdobným závěrům dospěl i Lorentzen (29).

V případě jaterních metastáz abladovaných in vivo později Solbiati prokázal ve svých klinických studiích s „cooled tip“ son-

dami velikost koagulační nekrózy v jaterním parenchymu o průměru $2,8 \pm 0,4$ cm (30). Dalšího zvýšení průměru koagulační nekrózy je možné použitím „clusterových“ elektrod. Jedná se o monopolární „cooled tip“ elektrody vzájemně sdružené v pravidelném odstupu do vzdálenosti 10 mm od sebe, přičemž tato vzdálenost, jak bylo prokázáno, je neoptimálnější jak co do velikosti výsledné koagulační nekrózy, tak i bezpečnosti a rovnoměrnosti výsledné termoablace. S použitím tohoto typu elektrod lze dosáhnout bezpečné termoablace až do průměrové velikosti 5 resp. 7 cm (31).

V některých experimentech byla RFA prováděna bipolárními sondami. Výsledné ložisko koagulační nekrózy je eliptického tvaru a leží mezi oběma sondami, které jsou inzerované v cílové tkáni 1-4 cm od sebe. Pomocí tohoto typu elektrod byly popsány termoablace ložisek o průměrové velikosti do 3 cm, resp. 5 cm při použití perfúze tkáně fyziologickým roztokem před RFA (32, 33). Vzhledem k nepravidelnému tvaru a obtížně předvídatelné velikosti výsledné koagulační nekrózy není tento typ elektrod příliš používán.

Podobně jako typ použité elektrody ovlivňuje velikost výsledné koagulační nekrózy i algoritmus generátoru RFA. V souladu s experimentálními závěry jsou dnešní moderní RF generátory vybaveny programem pulsní generace RF proudu, při kterém dochází ke střídání vysokoenergetických pulsů RF proudu s pulsy o nízké energii, což umožňuje hlubší penetraci do tkáně a její kvalitnější termokoagulaci (31). Při použití háčkovitých elektrod deštníkového tvaru dochází ke střídání velikosti RF proudu na jednotlivých háčcích pracovní části elektrody, což brání přepálení tkáně.

Současné RF přístroje a jejich specifika

V současné době jsou celosvětově používány tři typy RF přístrojů lišících se typem elektrod a algoritmem průběhu radiofrekvenční ablace. Každý typ přístroje i použité elektrody má svoji specifickou charakteristiku, která musí být respektována v průběhu ablačního výkonu.

Radionics

Systém využívající „cool tip“ elektrody s vnitřním chlazením v jednoduché nebo clusterové podobě. Elektroda je v průběhu ablačního procesu ochlazována ledovým roztokem ze speciálního zásobníku k zabránění vaporizace a karbonizace tkáně, což umožňuje větší rozsah výsledné koagulační nekrózy, než je tomu u konvenčních monopolárních elektrod (obr. 2). Za optimálních podmínek je průměrná velikost výsledné sférické koagulační nekrózy až 3 cm při použití jednoduchých elektrod, resp. 5 cm při použití elektrody clusterové. Generátor má automatické či manuální nastavení výšky RF proudu a výkonu s možností pulsní generace. Doporučený interval RFA jednoho ložiska se pohybuje mezi 12-15 minutami.

Radiotherapeutics

Přístroj s LeVeen expandibilní elektrodou s 10 resp. 12 háčky deštníkového tvaru s proměnlivou úrovní RF proudu kolem jednotlivých háčků v závislosti na impedanci okolní koagulované tkáně. Velikost RF proudu se v daném okamžiku skokově mění k zabránění „přepálení“ tkáně v okolí části elektrody, což umožňuje kvalitnější a bezpečnější termoablaci tkáně.

RITA Medical System

Přístroj s expandibilní háčkovou elektrodou, jednotlivé háčky se vysouvají z centrálního kanálu a deštníkovitě se větví (obr. 1). Tento systém umožňuje proměnlivé vysunutí háčků elektrody, které tvoří vlastní pracovní část elektrody a tedy přízpůsobení velikosti koagulační nekrózy velikosti ložiska. K termoablaci ložiska dochází ve dvou krocích, kdy nejdříve po částečném vysunutí háčkových elektrod je abladováno centrální „jádro“ ložiska o menším průměru a poté po plném vysunutí háčkových elektrod na konečnou délku je dokončena ablace celého ložiska.

Oba výše zmíněné systémy expandibilních elektrod umožňují, při použití elektrod nových typů za optimálních podmínek, ablace až 7 cm ložisek.

Pro zvětšení výsledné koagulační nekrózy u větších ložisek za použití standardně dostupných moderních RF generátorů lze využít některý z následujících principů:

- pulzní generace RF proudu v ablačním algoritmu přístroje
- chlazení tkáně fyziologickým roztokem před a v průběhu RFA
- lokální aplikace látek ovlivňující průběh termoablačního procesu (supraparamagnetické iontové roztoky, cytostatika s využitím efektu hypertermie)
- snížení prokrvení tkáně a tím i tepelné ztráty v průběhu RFA (embolizační metody, peroperační vaskulární okluze abladovaného orgánu - např. Pringleho manévrem)

K termoablazi ložisek, která svými rozměry zřejmě přesahují ablační možnosti kterékoliv z dostupných elektrod (ložiska nad 5 resp. 7 a více cm), je používána vícenásobná inserce RF elektrody, která s sebou však přináší vyšší riziko komplikací.

Indikace RFA

Indikační kritéria RFA nebyla dosud pevně stanovena a dále se vyvíjí. Cílem RFA je kompletní destrukce jaterního nádorového ložiska s dosažením remise onemocnění. Pro zabránění lokální rekurence je nutné především exaktní cílení ložiska a jeho kompletní ablace (34).

RFA je indikována buď samostatně jako primární výkon, nebo v kombinaci s chirurgickou resekcí. Udává se, že až u 20 % pacientů indikovaných k elektivní resekci jater jsou v průběhu operační revize nalezena další ložiska, která znemožňují či zásadním způsobem ovlivňují provedení původně plánované chirurgické resekce. Např. u pacienta s 8cm tumorem levého jaterního laloku při současném postižení pravého laloku, které není řešitelné rozšířeným resekčním výkonem nebo současnou pravostrannou extraanatomickou resekcí, lze provést levostrannou hemihepatektomii v kombinaci s RFA pravostranné léze. V těchto případech lze tedy s výhodou volit kombinaci obou modalit a to i u pacientů jinak chirurgicky neřešitelných.

Další okolností, která vybízí k indikaci RFA, jsou případy incidentálního nálezu jaterní metastázy v průběhu primární extrahepatální resekce k dosažení kurativního výkonu v jedné době (např. při primární resekci rekta či tračnicku s incidentálním nálezem jaterního postižení v průběhu operační revize). Jaterní resekce takto zjištěného ložiska (je-li možná) může být provedena po přípravě pacienta v druhé době.

Diskutovanou zůstává indikace RFA jaterních metastáz v případě extraperitoneálních malignit (karcinom mamy, plic, jícnu, pankreatu...), které zpravidla nejsou indikovány k chirurgické resekci. Dle některých autorů i v těchto případech lze prostřednictvím RFA účinně kontrolovat postižení jaterní tkáně s výsledným benefitem pro tyto nemocné (35, 36) stejně jako v případech neresekabilních primárních HCC (37, 38). Další indikací je provedení RFA ložisek HCC u pacientů čekajících na vhodného dárce, tedy před elektivní transplantací.

Jako všechny léčebné metody má i RFA svoje limity. Je jím zejména velikost ložiska indikovaného k ablačnímu výkonu. Dle předběžných závěrů je zřejmé, že RFA ložisek větších než 5 cm je zatížena velmi vysokým procentem lokálních rekurencí (39, 40, 41).

Dalším omezením RFA představuje počet jaterních ložisek. Publikované závěry jednotlivých autorů se různí. Někteří provádějí RFA bez početního omezení, jiní stanovují pomyslnou hranici 4 lézí.

Nejlogičtějším se zdá následující postup: U pacientů s více než 4mi jaterními ložisky se uvažuje o dalších okultních, konvenčních paraklinických metodami za dané situace nezjistitelných. Absolvují tedy nejdříve CHT a po třech měsících by měli být přešetřeni. Jestliže nejsou známky progresu jsou následně indikováni k RFA.

Možnosti provedení RFA

Jednou z mnoha výhod RFA oproti konvenčním ablačním metodám je možnost jejího provedení všemi třemi základními „přístupy“ - tedy perkutánně, peroperačně laparotomicky či miniinvasivním laparoskopickým přístupem.

Perkutánní RFA

Perkutánní RFA využívá velké množství pracovišť s příznivými výsledky (14, 30, 35, 41). Výhodou tohoto způsobu aplikace jest krom nízké morbidity také cena a dále možnost ambulantní aplikace související s minimální invazivitou takto provedeného výkonu. Další výhodou je možnost využití všech tří zobrazovacích modalit (UTZ, CT, MR - obr. 3) v identifikaci a cílení ložiska, na rozdíl od peroperačních zákroků, kdy je nutné se spoléhat na UTZ navigaci.

K perkutánní RFA jsou indikováni nemocní s rizikem celkové anestézie (výkon je možno provést v lokální anestézii) a dále pacienti s rekurencí či progresí nádorového onemocnění. (27, 41, 42). Nevýhodou tohoto přístupu je nižší přesnost detekce cílového ložiska (a tedy i následné inserce RF sondy) s vyšším rizikem poranění okolních struktur.

Obr. 3. Perkutánní RFA pod CT kontrolou. Na CT snímku patrná jednoduchá Cool tip elektroda zavedena do centra ložiska.



Peroperační RFA

RFA v průběhu otevřených laparotomických operací či v průběhu laparoskopického výkonu vykazuje jednak větší přesnost co do kompletnosti destrukce abladovaných ložisek a zároveň tak i nižší procento lokální rekurence onemocnění (34, 44). Toto souvisí zejména s možností exaktního peroperačního cílení v průběhu operačního výkonu, kdy lze po mobilizaci jater za kontroly peroperačního UTZ přesně lokalizovat a relativně bezpečně zavést sondu i do ložisek transabdominálně těžko přístupných. Další nezanedbatelnou předností tohoto přístupu je možné zpřesnění stagingu v průběhu operace (laparotomie resp. laparoskopie) s možným odhalením synchronních metastáz preoperačně neidentifikovatelných. Tento „upstaging“ je udáván až u 20 % nemocných. Důležitým momentem je rovněž možnost ošetření ložisek transabdominálním UTZ či CT neidentifikovatelných (obr. 4). Zásadní výhodou peroperační aplikace je však možnost kombinace RFA s resekčním výkonem, jak na modelových příkladech uvedeno výše. Krom možnosti přesného a bezpečného zavedení RF sondy v průběhu otevřeného výkonu, kdy při kontrole zraku máme možnost exaktně zacílit nádorové ložisko a po uvolnění okolních struktur tyto ušetřit event. termického poškození v průběhu termoablace, lze využít Pringleho manévru při laparotomické RFA s vaskulární jaterní exkluzí pro zvýšení ablačního účinku (23, 44, 45). Další výhodou operačního přístupu je možnost zave-

Obr. 4. RFA v laparoskopickém obraze. Patrná metastáza mammárního karcinomu s centrálně zavedenou jednoduchou Cool tip elektrodou.



dení intraarteriálního portu k pooperační lokoregionální CHT v průběhu operačního výkonu, což může zlepšit celkové přežití v indikovaných případech.

Klinické výsledky

Analýza klinických studií zabývajících se RFA v terapii jaterních malignit je komplikována mnoha okolnostmi, z nichž nejzákladnější je zejména krátké období od prvních provedených zákroků, nezbytné ke dlouhodobému zhodnocení této metody. Dalším momentem ztěžujícím aktuální hodnocení této metody je stále se zlepšující účinnost inovovaných RF přístrojů a sond, což se logicky promítá i do stále lepších výsledků při použití nových generátorů a sond, než tomu bylo v začátcích jednotlivých trialů.

Jednu z prvních rozsáhlejších studií publikoval v roce 1999 Curley (40), který abladoval celkem 169 jaterních ložisek u 123 pacientů. 31 pacientů bylo léčeno perkutánní aplikací RFA, zbývajících 92 pacientů pak peroperačně. U 48 pacientů byl abládován primární nádor, u zbývajících 75 pacientů pak sekundární nádorová ložiska. Průměrná velikost ložiska byla 3,4 cm (0,5-12 cm). Publikované léčebné výsledky následujícího 15ti měsíčního sledování vyzněly velice příznivě. Všechna abládovaná ložiska při hodnocení konvenčními zobrazovacími metodami vykazovala kompletní nekrózu. Pouze ve třech případech (1,8 %) došlo k lokální recidivě onemocnění, avšak u 34 pacientů (27 %) došlo k disseminaci onemocnění. Ve svém souboru Curley nezaznamenal žádné úmrtí v souvislosti s RFA a ke komplikacím došlo pouze ve třech (2,4 %) případech (2x absces, 1x krvácení do abládovaného ložiska).

K obdobným optimistickým závěrům dospěl i Wood, který ve své studii hodnotí RFA celkem 231 jaterních ložisek u 84 pacientů (46). Wood navíc ve svém souboru kombinuje RFA krom resekční léčby i s metodami kryodestrukčními či lokoregionální CHT. Průměrná velikost abládovaných ložisek byla 3 cm, průměrná délka hospitalizace takto ošetřených nemocných 3,6 dní. Komplikace (jaterní absces, pooperační krvácení, popálení a nekróza bránice a břišní stěny) se objevily u 8 % pacientů, v jednom případě vedlo popálení bránice s rozvojem jaterního abscesu k úmrtí pacienta. Lokální recidiva byla zaznamenána v 18 % případů.

Velká studie italských autorů zveřejnila výsledky RFA u 117 pacientů se 179 jaterními ložisky sekundárního kolorektálního karcinomu (41). Průměrná velikost ložisek oscilovala mezi 0,9-9,6 cm a všechna byla ošetřena perkutánně za navigace konvenčními zobrazovacími metodami. Průměrný medián přežití byl 36 měsíců s roční, dvouletou resp. tříletou úrovní pře-

žití ve 93%, 69%, resp. 46% případů. U dvou třetin pacientů se objevila rekurence do dvanácti měsíců od ablace. Při hodnocení úrovně lokální rekurence a velikosti abládovaného ložiska autoři dospěli k následujícím závěrům: Při ablaci ložiska do 2,5 cm byla úroveň lokální recidivy na 22 %, u ložisek v rozmezí 2,6-4,0 cm na úrovni 53 % a u ložisek větších než 4,1 cm byla v 68 % případů. K obdobným závěrům při bližším hodnocení svých experimentů dospěli i Curley a Wood, kteří na základě svých zkušeností doporučují RFA u ložisek do maximální velikosti 5-6 cm.

Sledování operovaných nemocných

Důsledné sledování pacientů po RFA je důležité nejen pro výsledná hodnocení této metody, ale i pro včasné odhalení event. lokální recidivy maligního procesu.

K dispenzarizaci pacientů je užíváno všech tří základních zobrazovacích metod (UTZ, CT, MR), avšak autoři většiny studií doporučují spíše kontrastní CT a MR před UTZ vyšetřením, které byt i zpřesněné pulsni dopplerometrii, má při sledování abládovaných ložisek pouze omezenou výpovědní hodnotu.

V CT obraze je správně abládované ložisko zpravidla sférického tvaru, hypodenzního charakteru, hladkých, zřetelných okrajů bez homogenního syčení při kontrastním vyšetření.

Velikost výsledné koagulační nekrózy by měla být vždy o něco větší než ložisko původního nádoru (23, 42). Lokální recidiva nádoru se projevují buď progresí původního nádorového ložiska nebo neostroti jeho okrajů s nehomogenním syčením při kontrastním vyšetření, event. okrskem evidentní malignity v jiné lokalitě. V některých případech bývá těžké rozeznat počínající recidivu onemocnění od již abládovaného ložiska, kdy velikosti progresu v místě provedené termoablace souvisí s reparačními procesy v jaterním parenchymu. Zvláště v těchto sporných případech je nutné pečlivé srovnání aktuálního nálezu s původními CT (MR) snímky k posouzení dynamiky procesu, event. doplnění PET.(47). Nedílnou součástí dispenzarizačního algoritmu je klinické vyšetření spolu s odběrem onkomarkerů, jejichž elevace může přispět ke správné interpretaci morfologicky sporných nálezů.

Závěr

RFA je sama o sobě velmi progresivní léčebnou metodou jaterních nádorů, která však navíc umožňuje zvýšit procento pacientů vhodných k chirurgické resekci, která jako jediná z dosavadních léčebných modalit poskytuje reálnou naději na stabilizaci tohoto onemocnění.

Technologie RFA postupně vytlačuje ostatní ablační metody. Její výhodou je nižší morbidita, kratší operační čas a dle předběžných klinických studií srovnatelné, ne-li lepší výsledky ve srovnání s ostatními ablativními metodami. Nezanedbatelnou výhodou této metody je možnost miniinvasivního přístupu, což umožňuje maximálně zkrátit ablační výkon u polymorbidních pacientů a dále možnost opakované i několikaásobné aplikace u rekurentních onemocnění či v případech jeho progresu. V souladu s předběžnými výsledky publikovaných klinických studií i dle našich zkušeností nelze než závěrem citovat slova S.A. Curleye: „RFA je bezpečnou, dobře tolerovanou a efektivní léčbou neresekabilních nádorů jater“ (40).

Pro exaktní hodnocení této metody však bude zapotřebí ještě dalších klinických hodnocení a především dlouhodobého sledování takto ošetřených pacientů. Zajímavé jistě budou i první výsledky v použití této metody v terapii extrahepatálních malignit.

Literatura

1. Weiss, L., Grundmann, E., Torhorst, J., et al. *Hematogenous metastatic patterns in colonic carcinoma: an analysis of 1541 necropsies*. J Patol. 1986, 150, s. 195-203.
2. Penka, I. *Biofragmentabilní anastomóza gastrointestinálního traktu*. Grada 2004, ISBN 80-247-0627-X.
3. Tsuzuki, T., Sugioka, A., Ueda, M. *Hepatic resection for hepatocellular carcinoma*. Surgery 1990, 107, s. 511-520.
4. Choi, T. K., Lai, Edward C. S., Fan, S. T., et al. *Results of surgical resection for hepatocellular carcinoma*. Hepatogastroenterology 1990, 37, s. 172-175.
5. Nagorney, D. M., van Herden, J. A., Ilstrup, D. M., et al. *Primary hepatic malignancy: surgical management and determinants of survival*. Surgery 1989, 106, 740-748.
6. Paquet, K. J., Koussouris, P., Mercado, M. A., et al. *Limited hepatic resection for selected cirrhotic patients with hepatocellular or cholangiocellular carcinoma: a prospective study*. Br J Surg 1991, 78, s. 459-462.
7. Franco, D., Capussotti, L., Smadja, C., et al. *Resection of hepatocellular carcinoma: results in 72 European patients with cirrhosis*. Gastroenterology 1990, 98, s. 733-738.
8. Hughes, K. S., Simon, R., Songhorabadi, S., et al. *Resection of the liver for colorectal carcinoma metastases: a multi-institutional study of indications for resection*. Surgery 1988, 103, s. 278-284.
9. Fong, Y., Cohen, A. M., Fortner, J. G., et al. *Liver resection for colorectal metastases*. J Clin Oncol 1997, 15, s. 938-946.
10. Blumgart, L. H., Fong, Y., *Surgical options in the treatment of hepatic metastases from colorectal cancer*. Curr Probl Surg 1995, 32, s. 333-421.
11. Tuttle, T., *Hepatectomy for noncolorectal liver metastases*. Curley SA, Liver cancer. 1998, s. 201-211.
12. Cushing, H., *Electro-surgery as an aid to the removal of intracranial tumors*. Surg Gynecol Obstet 1928, 47, s. 751-784.
13. Huang, S. K., Graham, A. R., Wharton, K., *Radiofrequency catheter ablation of the left and right ventricles: anatomic and electrophysiologic observation*. Pacing Clin Electrophysiol 1988, 11, s. 449-459.
14. Rossi, S., *Percutaneous ultrasound-guided radiofrequency electrocautery for the treatment of small hepatocellular carcinoma*. J Intervent Radiol 1993, 9, s. 97-103.
15. Pearce, J. A., *Review of electrical field relations*. In: Electrosurgery. New York: Wiley medical Publications, 1986, s. 224-234.
16. Dodd, G. D., Soulen, M. C., Kane, R. A., et al. *Minimally invasive treatment of malignant hepatic tumors: at the threshold of a major breakthrough*. Radiographics 2000, 20, s. 9-27.
17. Gazelle, G. S., Goldberg, S. N., Solbiati, L., et al. *Tumor ablation with radiofrequency energy*. Radiology 2000, 217, s. 6333-6346.
18. Cosman, E. R., Nashold, B. S., et al. *Theoretical aspects of radiofrequency lesions in the dorsal root entry zone*. Neurosurgery 1984, 15, s. 945-950.
19. Seegenschmiedt, M. H., Brady, L. W., Sauer, R., *Interstitial thermoradiotherapy: review of technical and clinical aspects*. Am J Clin Oncol, 1990, 13, s. 352-363.
20. Trembley, B. S., Ryan, T. P., Strohbehn, J. W., *Interstitial hyperthermia: physics, biology and clinical aspects*. In: Urano M. Hyperthermia and Oncology, vol. 3. Utrecht: VSP, 1992, s. 11-98.
21. Larson, T. R., Bostwick, D. G., Corcia, A., *Temperature-correlated histopathologic changes following microwave thermoablation of obstructive tissue in patients with benign prostatic hyperplasia*. Urology 1996, 47, s. 463-469.
22. Zevas, N. T., Kuwayama, A., *Pathological characteristics of experimental thermal lesions: comparison of induction heating and radiofrequency electrocoagulation*. J Neurosurg 1972, 37, s. 418-422.
23. Goldberg, S. N., Gazelle, G. S., Compton, C. C. et al., *Treatment of intrahepatic malignancy with radiofrequency ablation: radiologic-pathologic correlation*. Cancer 2000, 88, s. 2452-2463.
24. Goldberg, S. N., Gazelle, G. S., Halpern, E. F., *Radiofrequency tissue ablation: importance of local temperature along the electrode tip exposure in determining lesion shape and size*. Acad Radiol 1996, 3, s. 212-218.
25. Pennes, H. H., *Analysis of tissue and arterial blood temperatures in the resting of human forearm*. J Appl Physiol 1948, 1, s. 93-122.
26. Goldberg, S. N., Gazelle, G. S., Mueller, P. R., *Thermal ablation therapy for focal malignancy: a unified approach to underlying principles, techniques and diagnostic imaging guidance*. Am J Radiol 2000, 174, s. 323-331.
27. Rossi, S., Fornari, F., Pathies, C., et al. *Thermal lesions induced by 480 kHz localized current field in guinea pig and pig liver*. Tumori 1990, 76, s. 54-57.
28. Goldberg, S. N., Gazelle, G. S., Dawson, S. L., *Tissue ablation with radiofrequency: effect of probe size, ablation duration and temperature on lesion volume*. Acad Radiol 1995, 2, s. 399-404.
29. Lorentzen, T., *A cooled needle electrode for radiofrequency tissue ablation: thermodynamic aspects of improved performance compared with conventional needle design*. Acad Radiol 1996, 3, s. 556-563.
30. Solbiati, L., Ierace, T., Goldberg, S. N., et al. *Hepatic metastases: percutaneous radiofrequency ablation with cooled-tip electrodes*. Radiology 1997, 295, s. 367-374.
31. Golberg, S. N., Solbiati, L., Hahn, P. F., et al. *Large volume tissue ablation with radiofrequency by using a clustered, internally-cooled electrode technique: laboratory and clinical experience in liver metastases*. Radiology 1998, 209, s. 371-379.
32. McGahan, J. P., Wei-Zhong, G., Brock, J. M., et al. *Hepatic ablation using bipolar radiofrequency electrocautery*. Acad Radiol 1996, 3, s. 418-422.
33. Burdío, F., Guemes, A., Burdío, J. M., et al. *Bipolar Salin-enhanced Electrode for Radiofrequency Ablation: Results of Experimental Study of in Vivo Porcine Liver*. Radiology 2003, 229, s. 447-456.
34. Siperstein, A., Garland, A., Engle, K., et al. *Local recurrence after laparoscopic radiofrequency thermal ablation of hepatic tumors*. Am Surg Oncol 2000, 7(2), s. 106-113.
35. Livraghi, T., Goldberg, S., Solbiati, L., et al. *Percutaneous radiofrequency ablation of liver metastases from breast cancer: initial experience in 24 patients*. Radiology 2001, 220, (1), s. 145-149.
36. Chung, M., Wood, T., Tsioulis, G., et al. *Laparoscopic radiofrequency ablation of unresectable hepatic malignancies. A phase 2 trial*. Surg Endosc 2001, 15(9), s. 1020-1026.
37. Buscarini, L., Buscarini, E., Di Stasi, M., et al. *Percutaneous radiofrequency ablation of small hepatocellular carcinoma: long-term results*. Eur Radiol 2001, 11(6), s. 914-921.
38. Curley, S., Izzo, F., Ellis, L., et al. *Radiofrequency ablation of hepatocellular cancer in 110 patients with cirrhosis*. Ann Surg 2000, 232(3), s. 381-391.
39. Bowles, B. J., Machi, J., Limm, W. M., et al. *Safety and efficacy of radiofrequency thermal ablation in advanced liver tumors*. Arch Surg 2001, 136, s. 864-869.
40. Curley, S. A., Izzo, F., Delrio, P., et al. *Radiofrequency ablation of unresectable primary and metastatic hepatic malignancies: results in 123 patients*. Ann Surg 1999, 230, s. 1-8.
41. Solbiati, L., Livraghi, T., Goldberg, S. N., et al. *Percutaneous radiofrequency ablation of hepatic metastases from colorectal cancer: long term results in 117 patients*. Radiology 2001, 221, s. 159-166.
42. Solbiati, L., Ierace, T., Goldberg, S. N., et al. *Percutaneous US-guided radio-frequency tissue ablation of liver metastases: treatment and follow up in 16 patients*. Radiology 1997, 202, s. 195-203.
43. Berber, E., Flesher, N. L., Siperstein, A. E., *Initial clinical evaluation of the RITA 5- centimeter radiofrequency thermal ablation catheter in the treatment of liver tumors*. Cancer J 2000, 6, s. 319-329.
44. Patterson, E. J., Scudamore, C. H., Owen, D. A., et al. *Radiofrequency ablation of porcine liver in vivo: effects of blood flow and treatment time on lesion size*. Ann Surg 1998, 227, s. 559-565.
45. Chinn, S. B., Lee, F. T. Jr., Kennedy, G. D., et al. *Effect of vascular occlusion on radiofrequency ablation of the liver: results in a porcine model*. AJR 2001, 176, s. 789-795.
46. Wood, T. F., Rose, D. M., Chung, M., et al. *Radiofrequency ablation of 231 unresectable hepatic tumors: indications, limitations and complications*. Ann Surg Oncol 2000, 7, s. 593-600.
47. Ravikummar, T. S., Jones, M., Serrano, M., et al. *The role of PET scanning in radiofrequency ablation of liver metastasis from colorectal cancer*. Cancer J 2000, 6, s. 330-343.

TECHNOLOGIE CIPHERGEN - NOVÁ PERSPEKTIVA V PROTEOMICE NÁDOROVÝCH ONEMOCNĚNÍ

CIPHERGEN TECHNOLOGY - NEW PERSPECTIVE IN PROTEOMICS OF TUMOUR BIOLOGY

HELÁNOVÁ Š.¹, VYZULA R.², ŽALOUĐÍK J.^{1,2}, NENUTIL R.³, MÜLLER P.¹, ČEŠKOVÁ P.¹, VALÍK D.⁴, VOJTĚSEK B.¹

¹ ZÁKLADNA EXPERIMENTÁLNÍ ONKOLOGIE, ² KLINIKA KOMPLEXNÍ ONKOLOGICKÉ PÉČE, ³ ODDĚLENÍ PATOLOGIE A ⁴ ODDĚLENÍ LABORATORNÍ MEDICÍNY, MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV, BRNO

Souhrn: Proteomické přístupy sebou přinesly nové naděje na objevení biomarkerů použitelných pro diagnostiku onemocnění, předpovědi citlivosti na terapii a monitorování progresu. Velké úsilí bylo věnováno identifikaci tisíce proteinů v séru, plasmě, moči a tkáňových lyzátech za využití hmotnostní spektrometrie. Diagnostika založená na využití metod hmotnostní spektrometrie má v molekulární medicíně velký potenciál. S využitím nejmodernějších technologií hmotnostní spektrometrie je možné vyvinout nové klinické testy, které budou praktické, robustní, přesné a především levné. Nejnovější přístup také nazývaný analýza proteomového profilu („proteomic pattern analysis“) lze považovat za potenciálně efektivní metodu včasné diagnostiky nemocí jako jsou nádory ovária, prsu, prostaty a jiných tkání. Tato metoda se opírá o charakteristický profil proteinů a nikoliv pouze o identifikaci individuálního biomarkeru. Získání charakteristického proteomového profilu s využitím „Surface-Enhanced Laser Desorption/Ionisation Time of Flight Mass Spectrometry (SELDI-TOF MS)“ patří mezi nejnovější přístupy vedoucí k objevování těchto proteomových spekter schopných podílet se na odlišení chorobného stavu od zdravého stavu s vysokou citlivostí a specifitou. Tyto nové přístupy spojují na jedné straně analýzu proteinů vázaných k pevné matici hmotnostní spektrometrií a na druhé straně bioinformatiku, což umožňuje detekci patologických stavů projevujících se změnou proteomu v séru, plasmě, moči a tkáňovém nebo buněčném lyzátu. Výhodou těchto přístupů bude vývoj rapidních a ekonomicky výhodných testů s odpovídající klinickou citlivostí a specifitou. Lze předpokládat, že tyto nové technologie přispějí k dramatickým změnám v detekci nemocí, jejich monitorování a jejich sledování.

Klíčová slova: nádor, biomarker, 2D ELFO, SELDI, Ciphergen

Summary: The proteomics approaches have brought new hope of discovering novel biomarkers that can be used to diagnose diseases, predict therapy response and monitor disease progression. Large effort was focused on the mass spectral identification of the thousands of proteins from serum, plasma, urine, and tissues. Mass spectrometry-based diagnostics have the potential to change molecular medicine. Using modern mass-spectrometer technologies, clinical tests can be developed in the near future that are practical, robust, accurate, and inexpensive. A new approach termed „proteomic pattern analysis“ is known as an effective method for the early diagnosis of diseases such as ovarian, breast, prostate cancer and others. This method relies on the pattern of proteins observed and does not rely solely on the identification of a traceable biomarker. Protein pattern profiling by surface-enhanced laser desorption/ionisation time of flight (SELDI-TOF) mass spectrometry is known as a novel approach to discover protein patterns capable of distinguishing disease and disease-free states with high sensitivity and specificity. These approaches couple affinity-based mass spectrometry with adaptive bioinformatics, which can now be employed to detect pathological states reflected in the serum, plasma, urine or cell lysate proteome. With this approach, rapid and cost-effective tests with exquisite clinical sensitivity and specificity are emerging. These new methodologies may dramatically change how disease is detected, monitored, and managed.

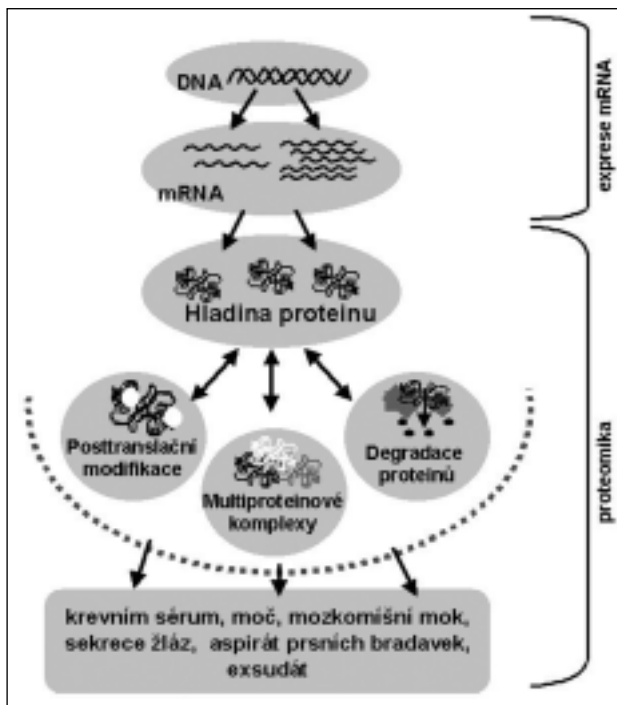
Key words: tumour, biomarker, 2-D ELFO, SELDI, Ciphergen

Jedním ze základních směrů biomedicínského výzkumu je hledání a stanovení biomarkerů, jejichž měření by vedlo k efektivnímu rozlišení definovaných fází různých typů onemocnění. Potřeba identifikovat biomarkery onemocnění je podporována nárůstem počtu přežívajících pacientů s onkologickým onemocněním, kteří díky biomarkerům byli diagnostikováni v počátečním stádiu vývoje primárního nádoru či recidivy. Doposud využívaný omezený počet nádorových markerů má značný význam pro detekci, diagnostiku a prognózu mnoha typů malignit navzdory skutečnosti, že jsou často prakticky využitelné pouze v určitých klinických situacích. Lze konstatovat, že stále chybí další skupiny biomarkerů, které by umožnily přesnější a včasnější diagnostiku daného onemocnění a sledování odpovědi pacienta na použitou terapii. Úspěch léčby nesporně závisí jak na přesné a včasné diagnóze a stanovení rozsahu onemocnění, tak také na dostupném a především spolehlivém a včasném odhalení klinické rekurence. Objevení, identifikace a validace proteinů (biomarkerů) doprovázejících určitou fázi onemocnění je velmi komplikovaný proces často vyžadující analýzu stovek, až tisíců vzorků.

Proteomika a nádorová onemocnění

Dostupnost sekvence lidského genomu otevřela cestu celé řadě nových možností v biomedicínském výzkumu a rozhodující výzvou je využití genetické informace pro lepší pochopení funkce a distribuce proteinů v normálních i biologicky patologických procesech. Úspěšné sekvenování lidského genomu odhalilo několik nových poznatků včetně skutečnosti, že lidský genom je tvořen pouze 30 000 - 40 000 geny, avšak je vysoce variabilní s přibližně 60 000 funkčními polymorfismy (1). S využitím nových vysoce výkonných genomických technologií pokračuje identifikace a analýza mutací a polymorfismů klíčových genů, čímž dochází k rozšiřování spektra vhodných genomických biomarkerů. Důležitým úkolem navazujícím na dokončenou analýzu genomu je identifikace nových proteinů a pochopení jejich struktury, funkce a vzájemných interakcí popřípadě interakcí s jinými molekulami, tedy informací, které z principu nemohou být získány na základě samotného genomického přístupu (Obr. 1). Funkčními produkty genetické informace v buňce jsou proteiny. Tyto proteiny - souborně označované termínem „proteom“

Obrázek 1: Souhrnná analýza genové exprese.



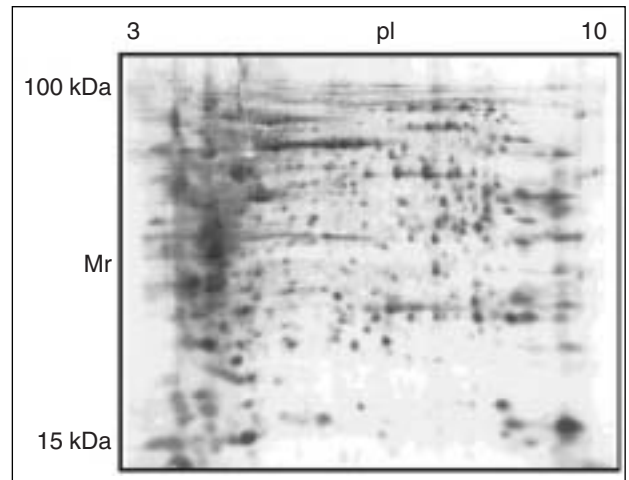
- jsou zodpovědné za (i) tvorbu strukturálních komponentů v buňce (např. aktin, tubulin, dezmin a keratiny), (ii) mezibuněčnou komunikaci a signalizaci, (iii) metabolické procesy (enzymy a enzymové sítě) a (iv) regulaci klíčových biochemických drah ovlivňujících buněčné dělení, buněčnou diferenciaci a programovanou buněčnou smrt. Porušení normálních fyziologických funkcí buňky v důsledku procesů spojených s onemocněním vede ke změně proteinového spektra v čase. Takto vzniklé změny mohou, avšak nemusejí, vykazovat vzájemnou korelaci mezi hladinou genové exprese a hladinou syntetizovaného proteinu (2). Tato skutečnost je velmi důležitá především v oblasti onkologického výzkumu, kde aberantní exprese proteinů (způsobená mutacemi, polymorfismy popřípadě posttranslačními alteracemi atd.) může specificky přispívat k patogenezi daného onemocnění a zároveň nabízet nové cíle pro diagnostiku nebo potenciální terapii (2, 3). Nejen aberantní exprese proteinů, ale především vzájemné proteinové interakce hrají důležitou úlohu při regulaci biologických drah a jejich funkcí. Pro pochopení podstaty studovaného onemocnění je tedy rovněž nutná současná charakterizace proteinových hladin a sítě interakcí v buňce popřípadě v organismu (4). K analýze proteinových hladin a vzájemných interakcí proteinů jsou dostupné stále zlepšované „proteomické“ technologie. Tyto technologie jsou v mnoha případech komplementární, a tak bychom je mohli chápat jako různé metodické postupy vedoucí k objasnění různých funkcí proteomu (2D-ELFO, MALDI/SELDI-TOF, 2D-HPLC, ELISA, imunohistochemie).

Metodické přístupy využívané v proteomice

Doposud převládající efektivní proteomickou technologií v objevování nových biomarkerů rozdílných typů nemocí je dvourozměrná gelová elektroforéza (2D-ELFO) s následnou hmotnostní spektrometrií (5, 6). Metodou 2D-ELFO jsou komparativně analyzovány proteiny dvou rozdílných vzorků s následným srovnáním proteinových spekter (Obr. 2). Vybrané proteinové „spoty“ jsou vyříznuty z gelu, proteolyticky a chemicky štěpeny a výsledné peptidy jsou analyzovány hmotnostní spektrometrií (Mass Spectrometry - MS) s cílem identifikovat původní protein.

Metoda 2D-ELFO je založena na separaci proteinů podle jejich náboje (izoelektrického bodu) v prvním směru a podle

Obrázek 2: Typický 2-DE gel celobuněčného lyzátu myší buněčné linie A5. Proteiny byly separovány v imobilizovaném pH gradientu (pH 3-10) v prvním (horizontálním) směru a pomocí 12% SDS-PAGE v druhém (vertikálním) směru. Barveno stříbrem. (*Mr* – relativní molekulová hmotnost, *pI* – izoelektrický bod).

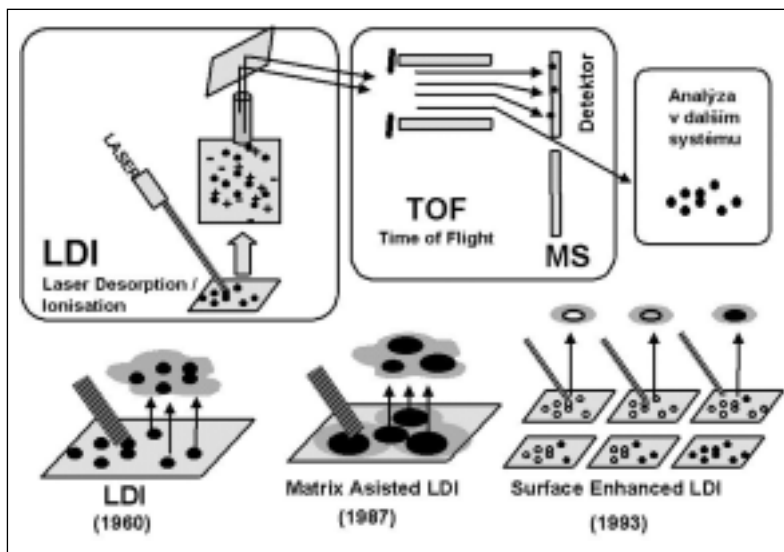


molekulové hmotnosti ve směru druhém. Jako separační metoda poskytuje excelentní rozlišení směsných proteinových komplexů. Tato metoda má však technické limity týkající se separačních a identifikačních procesů jako jsou: (i) velká pracnost, (ii) limitace množství nanášeného proteinu, (iii) nízká citlivost běžných barvicích technik a (iii) neschopnost rozlišovat proteiny s extrémně nízkými a vysokými molekulovými hmotnostmi. Díky těmto nedostatkům je složité provádět analýzy extrémně komplexních proteinových směsí stejně jako analýzy určité kategorie rozdílně exprimovaných proteinů (7). Původně byla tato metoda velmi málo reprodukovatelná především při analýze proteinových spekter a srovnání mezi dvěma gely a dvěma různými analytickými separacemi. Mnohaleté úsilí stovek laboratorů na celém světě vedlo nakonec ke zlepšení reprodukovatelnosti a širší aplikovatelnosti dané metody. Podařilo se vyvinout metody, které umožňovaly zlepšení analýzy vybraných skupin proteinů, byly vyvinuty nové imobilizované pH gradienty a jejich širší spektrum. Největším přínosem pro tuto metodologii byl vývoj sofistikovaného softwaru pro analýzu komplexních dat z 2D-ELFO. Přestože tato zlepšení vedla k vyšší citlivosti dané metody a k reprodukovatelnější analýze především velmi basických a kyselých proteinů (5-7), je nutno si uvědomit, že je to metoda těžkopádná a náročná na čas. V současné době se však 2D-ELFO stále využívá v oblasti hledání nových biomarkerů onemocnění.

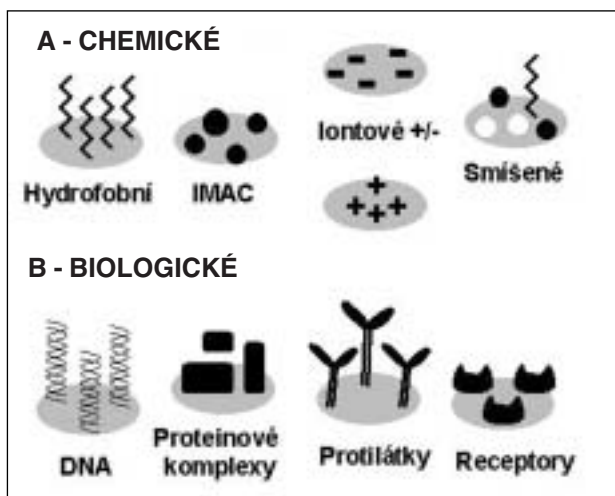
Vývoj další progresivní technologie 2D-HPLC (2D-High Pressure Liquid Chromatography - vysočinná kapalinová chromatografie) nepřinesl úspěch při hledání nových biomarkerů jednak z důvodů complexity proteinových vzorků (sérum, plasy nebo tkáňových extraktů) a jednak důvodu problematického vymývání jednotlivých proteinů z kolony ve formě kompatibilní s hmotnostní spektrometrií (MS).

Následně zavedení nové výkonné a senzitivní metody MALDI-TOFMS (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry) otevřelo cestu k usnadnění charakterizace analyzovaných proteinů (8, 9). Aplikace MALDI-TOFMS pro rutinní diagnostiku je však velmi omezená, protože biologický materiál (sérum, plasma, celé buňky, buněčný lyzát) obsahuje stovky klinicky a biologicky významných molekul, které musí být pro analýzu s využitím MALDI-TOFMS zdlouhavě připravovány a především purifikovány. K purifikaci a přípravě vzorků pak slouží výše uvedené metody 2D-ELFO, 2D-HPLC, molekulární síta a iontová chromatografie, tedy metody finančně i časově náročné a především vyžadující velký objem vstupních vzorků.

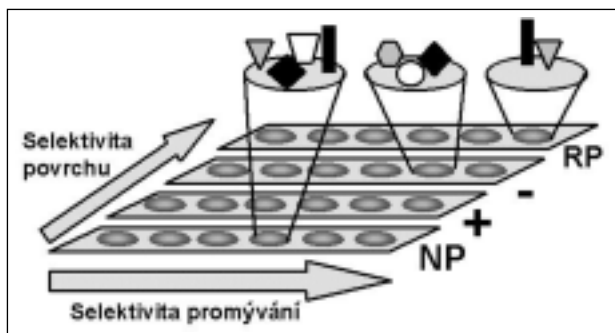
Obrázek 3: Schématické znázornění metody SELDI-TOF MS.



Obrázek 4: Struktura povrchů čipů používaných pro SELDI-TOF MS. (A) chemické povrchy. (B) biologické povrchy.



Obrázek 5: Schéma potenciální kombinace čipů. Současná analýza vzorků na čipech s různou maticí umožňuje zachycení všech přítomných proteinů ve vzorku.



Nejnovější metodický přístup zavedený v oblasti biomedicínského výzkumu zaměřeného na hledání biomarkerů je systém SELDI-TOF-MS (Surface-Enhanced Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry), který kombinuje vazbu proteinů s hmotnostní spektrometrií. Teprve v této konfiguraci je hmotnostní spektrometrie vhodná pro detekci smě-

si proteinů v heterogenním a klinicky běžném vzorku. Tento systém současně řeší problémy spojené s přípravou vzorků pro MALDI-TOF-MS a byl poprvé představen v roce 1993 (10).

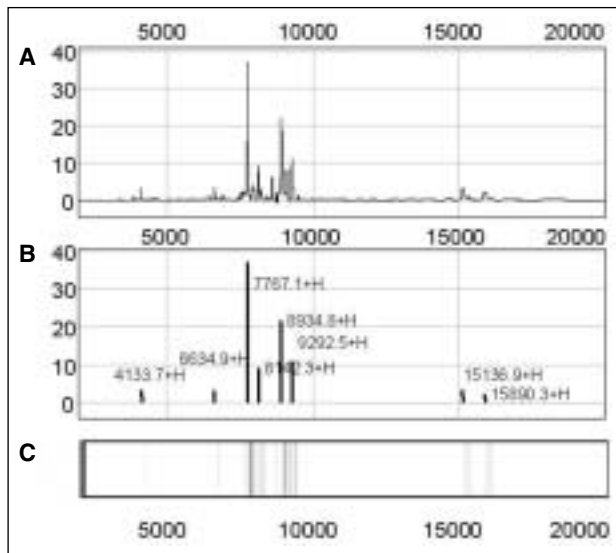
SELDI-TOF MS

SELDI-TOF MS tvoří tři základní komponenty: (i) proteinové čipy, (ii) hmotnostní analyzátor a (iii) software pro analýzu získaných dat. Princip metody SELDI-TOFMS je jednoduchý a je založen na vazbě proteinů na předpřipravený povrch pevné fáze proteinového čipu (i) adsorpcí, (ii) elektrostatickou interakcí nebo (iii) afinitní chromatografií (Obr. 3). Univerzálnost této technologie spočívá v chemické (v podstatě „pseudochromatografické“) interakci povrchu čipu s analyzovaným materiálem (Ciphergen Biosystems ProteinChip, Fremont, CA). Tyto čipy mohou být vyrobeny dle požadavku zákazníka tak, aby byly schopny vázat specifickou skupinu proteinů z analyzovaného vzorku. Povrch čipů může být hydrofobní, hydrofilní, kationický a anionický (chemické povrchy) nebo tvořený protilátkou, DNA, receptorem nebo ligandem (biologické povrchy) (Obr. 4 A, B). Následná analýza pak probíhá ve shodném principu s MALDI-TOF MS, kdy dochází k laserové desorpci a ionizaci vzorků, které jsou ko-krytalizovány s maticí na povrchu cílového čipu (11). Jednou z velkých výhod SELDI-TOF MS a rozdílných povrchů čipů je skutečnost, že daný vzorek komplexní směsi proteinů může být analyzován současně na několika různých sorbentech, aby byly navázány a analyzovány veškeré proteiny ve studovaném vzorku (Obr. 5). Proteiny navázané na matici jsou s využitím relativně jednoduchého hmotnostního spektrometru ionizovány dusíkovým laserem, který poskytne dostatek desorpční energie na vytvoření plynných, ionizovaných molekul peptidů, jež jsou urychleny v elektrickém poli směrem k detektoru. Molekulové hmotnosti iontů jsou kalkulovány měřením doby jejich letu [„Time-Of-Flight“ (TOF)] k danému detektoru a vztaheny k poměru hmotnosti iontového analytu a jeho náboje (mass-to-charge ratio, m/z). Technologie SELDI-TOF MS umožňuje nejen využití čipů s chemickými povrchy, které slouží především ke hledání nových biomarkerů onemocnění, ale hlavně umožňuje přípravu čipů s biochemickým povrchem (tvořené protilátkami, DNA, enzymy, receptory, cytostatiky atd.), které umožňují studium biomolekulárních interakcí (interakce protein-protein, protilátka-antigen, enzym-substrát, protein-DNA, protein-cytostatikum, DNA-cytostatikum, receptor-ligand, atd.) (11).

Analýza proteomických dat

Rozvoj proteomických studií přináší naději na objevení nových biomarkerů použitelných pro diagnostiku onemocnění, předpověď odezvy na terapii a monitorování nádorové progresy. Využitím hmotnostní spektrometrie je možno identifikovat tisíce proteinů, které tvoří komplexní biosystémy jako jsou tkáň a tělní tekutiny. Za revoluční můžeme považovat především analýzu proteomového profilu jako potenciálně velmi efektivní metodu pro včasnou diagnostiku onemocnění, která se opírá o charakteristický profil proteinů a nikoliv jen o identifikaci stopového biomarkeru. Aby analýza proteomového profilu byla využitelná v klinické praxi jako nový vysoce citlivý diagnostický nástroj, je nutno provést analýzy stovek pacientů a rovněž analyzovat a interpretovat získaná data. Posun od analýzy jednoho markeru k analýze panelu markerů při diagnostice onemocnění a nutnost interpretace dat získaných proteomickými technologiemi vedla k rozvoji bioinformatiky, která umožňuje využívání proteinových databází a speciálního software. V uplynulých pěti letech byly vytvořeny

Obrázek 6: Hmotnostní spektrum SELDI analýzy séra pacienta. (A) spektrum vyjádřené formou pík, (B) vyjádřené jako čárové spektrum, (C) vyjádřené formou „gelového“ záznamu.



nové algoritmy pro obrazovou analýzu gelů připravených 2D-ELFO metodou, stejně jako nové algoritmy pro analýzu dat získaných hmotnostní spektrometrií [(„Peptide Mass Fingerprinting (PMF) a „Peptide Fragmentation Fingerprinting (PFF) - podrobnosti o metodách viz citace] (12). Výstupem TOF-MS analýzy je hmotnostní spektrogram zachycující relativní intenzitu v relaci k molekulové hmotnosti lomené nábojem detekovaných proteinů (m/z , viz výše) (Obr. 6a). Pro zjednodušení identifikace rozdílů v expresi proteinů dvou různých vzorků, umí používaný software prezentovat spektrometrický signál v podobě (i) vrcholů (Obr. 6 A), (ii) čárových spekter (Obr. 6 B) a (iii) 1D-ELFO struktury (Obr. 6 C). Software rovněž umožňuje srovnávací analýzu rozdílných vzorků s cílem nalezení unikátních rozdílů v expresi proteinů. Lze dále provádět shlukové analýzy (cluster analysis) s cílem identifikace signifikantních rozdílů v proteinových spektrech analyzovaných stovek a tisíců vzorků (13, 14).

SELDI, její limitace a využití v nádorové a obecné biologii

Mikročipová analýza pro detekci proteinů je příslibem pro biomedicínský výzkum a pro klinickou diagnostiku. Přes rozvoj těchto technologií v několika posledních letech je pro jejich reálné praktické využití v aplikované medicíně nutno překonat mnoho nedostatků. SELDI-TOF představuje nástroj, který je schopen komplexně studovat změny na úrovni proteinů ve tkáních, které mohou být asociovány s vývojem nádorů a progresí, ale není prozatím schopen poskytnout analýzu biomarkerů spojených s jednotlivými typy onemocnění. Přestože SELDI-TOF MS není ve většině případů schopna umožnit přímou identifikaci jednotlivých proteinů, které mohou být potenciálními biomarkery onemocnění, je schopna velmi rapidně generovat proteomové profily stovek vzorků. Sérum, moč nebo lýtáče nádorové i normální tkáně vykazují velkou proteinovou variabilitu. Proteomická diagnostika může být tedy efektivní pouze tehdy, bude-li využívat metody, které dokáží najít a seskupit tyto rozdíly a srovnat je za účelem charakterizace určitého stavu nemoci. Například v sérech pacientek s ovariálním karcinomem a pacientek kontrolních nebyl nalezen jediný unikátní shodný proteinový profil, nicméně mnohočetné proteinové profily (multiple patterns) získané od pacientek s ovariálním karcinomem se ani v jednom případě neshodovaly s „multiple patterns“ získaných od kontrolních zdravých pacientek (15, 16). Tyto výsledky potvrzují, že analýza proteinových spekter (např. s využitím SELDI-TOF MS) může být realizovatelnější myš-

lenkou budoucí klinické diagnostiky než identifikace unikátních proteinů pro určitou nemoc.

Přestože SELDI-TOF MS byla již úspěšně použita i pro vytvoření proteomických profilů sérových vzorků získaných od pacientů s karcinomem prsu, ovárie a prostaty (15, 17, 18), je tato technologie stále nepřipravena pro rutinní klinické diagnostické aplikace v laboratořích klinické biochemie. Důvodem je i to, že využití SELDI-TOF MS jako diagnostického instrumentu je ovlivněno také běžnými technickými problémy jako je dlouhodobá stabilita složitého zařízení při rutinním používání a především shodnost kvality chemického povrchu čipů mezi jednotlivými výrobními šaržemi. Při analýze a validaci komplexního klinického materiálu jako je sérum, plasma a moč je nutná stoprocentní shodnost chemického povrchu jednotlivých šarží vyráběných čipů, která je prozatím nedosažitelná. Problémem je biologická heterogenita u nemocných a kontrolních jedinců využívaných pro hledání nových biomarkerů studovaného onemocnění. Tato technologie nám tedy poskytuje směr hledání, identifikace a izolace specifických biomarkerů spojených s daným onemocněním, které v kombinaci mohou vést ke zlepšení detekce, diagnostiky a prognostiky např. nádorových onemocnění. Pro budoucí rutinní klinické využití SELDI-TOF MS jsou nutná technická zlepšení (např. stabilita laseru etc.) přípravy chemických povrchů čipů a především dopracování univerzálního software pro pokud možno „rutinní“ analýzu dat.

SELDI-TOF MS má rovněž celou řadu dalších možných biologických aplikací dle vytvořeného povrchu čipu. Na povrch čipu mohou být kovalentně navázány například protilátky, proteiny, enzymy, receptory, cytotatika a DNA, což umožňuje studium různých forem interakcí jako jsou (i) protilátka-antigen, (ii) protein-protein, (iii) protein-DNA, (iv) enzym-substrát, (v) receptor-ligand, (vi) cytotatikum-protein, (vii) cytotatikum-DNA, (viii) DNA-protein, atd. Jsou-li při přípravě čipů využity vazebné reagenty (capture reagents) s vysokou afinitou, jsou získané výsledky SELDI-TOF MS mnohonásobně specifičtější oproti klasickým „enzyme-linked immunosorbent assay“ (ELISA). Metoda SELDI-TOF MS je rovněž využitelná pro analýzu posttranslačních modifikací proteinů typu glykosylace a fosforylace (19, 20) a jako alternativní metoda „gel shift assay“, která odstraňuje používání radioaktivity v klasickém experimentálním uspořádání (21).

Závěry a potenciální směry využití SELDI-TOF v onkologické diagnostice

Příspěvek hmotnostní spektrometrie pro biologické vědy je již nyní enormní, o čemž svědčí udělení Nobelovy ceny v chemii v roce 2002. Současný a budoucí vývoj nových proteomických nástrojů bude mít velký aplikační význam pro (i) stratifikaci pacientů, (ii) sledování účinnosti terapie a pro (iii) stanovení rizika vzniku onemocnění, což v budoucnu budou moci využívat především onkologové. Přestože SELDI-TOF a s ní spojená proteomová technologie je stále v časném stádiu vývoje je zřejmé, že její nové modifikace jsou nutné pro plné klinické nasazení v medicíně. Jednou z nutností pro budoucí využití SELDI-TOF v onkologii je potvrzení její sensitivity a specificity pro prospektivní detekci různých stádií nádorových onemocnění. Bude nutné věnovat velké úsilí rovněž identifikaci nově objevených molekul, jejich koncentračním rozdílům a pochopení jejich patobiologických změn v séru, plasmě, moči nebo nádorové tkáni a především vztahu těchto změn k nádoru nebo k epigenetickým změnám způsobeným nádorovým procesem. Budoucí využití SELDI-TOF MS v klinické praxi umožní včasnější detekci nádorových onemocnění s rozdělením pacientů dle potenciálního rizika a umožní charakterizaci každého pacienta s využitím proteinového profilu získaného z mikroskopického množství jeho tkáně a/nebo séra. Rozšířené aplikace dané technologie ve výzkumu onkologických onemocnění povedou k identifikaci unikátních proteinů a proteinových profilů, které charakterizují nádorovou pro-

gresi od normálního stavu k více agresivním maligním stavům. Bude nutné přesněji provádět analýzu signálních drah, které jsou využívány jak nádorovými buňkami tak buňkami okolní normální tkáně a bude také třeba vytvořit mapy funkčních interakcí u jednotlivých pacientů, což umožní monitorování odpovědi na terapii jak nádorové populace buněk tak okolního buněčného prostředí. Nové identifikace a charakterizace proteinů, jejich interakcí a analýza funkčních drah by měly umožnit vývoj nových diagnostických a terapeutických přístupů pro onkologický výzkum a vývoj nových terapií. Podaří-li se vytvořit genomickou a proteomickou mapu kaž-

dého nádorového onemocnění popřípadě dalších nemocí, bude možné individualizovat selekci kombinované terapie, která zasáhne vybrané cílové proteinové dráhy. Tyto přístupy pak umožní klinikům monitorovat individuálně pacienty v průběhu celé terapie.

Poděkování

Práce byla podporována IGA MZ ČR NC7131-3 a NC7104-3 a VZMOÚ 00000209805. Poděkování patří především firmě AstraZeneca za příspěvek na zakoupení systému SELDI/TOF a Mgr. Pavlu Bouchalovi za podklady pro obrázky 2.

Literatura

- Christmann M., Tomicic M. T., Roos W. P. and Kaina B.: Mechanisms of human DNA repair: an update. *Toxicology* 2003; 193(1-2):3-34.
- Chambers G., Lawrie L., Cash P. and Murray G. I.: Proteomics: a new approach to the study of disease. *J Pathol* 2000; 192(3):280-8.
- Srinivas P. R., Srivastava S., Hanash S. and Wright G. L., Jr.: Proteomics in early detection of cancer. *Clin Chem* 2001; 47(10):1901-11.
- Gunn L. and Smith M. T.: Emerging biomarker technologies. *IARC Sci Publ* 2004; 157:437-50.
- Hanash S. M.: Biomedical applications of two-dimensional electrophoresis using immobilized pH gradients: current status. *Electrophoresis* 2000; 21(6):1202-9.
- Bergman A. C., Benjamin T., Alaiya A., Waltham M., Sakaguchi K., Franzen B., Linder S., Bergman T., Auer G., Appella E., Wirth P. J. and Jornvall H.: Identification of gel-separated tumor marker proteins by mass spectrometry. *Electrophoresis* 2000; 21(3):679-86.
- Gorg A., Obermaier C., Boguth G., Harder A., Scheibe B., Wildgruber R. and Weiss W.: The current state of two-dimensional electrophoresis with immobilized pH gradients. *Electrophoresis* 2000; 21(6):1037-53.
- Hillenkamp F., Karas M., Beavis R. C. and Chait B. T.: Matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry of biopolymers. *Anal Chem* 1991; 63(24):1193A-203A.
- Chaurand P., Stoeckli M. and Caprioli R. M.: Direct profiling of proteins in biological tissue sections by MALDI mass spectrometry. *Anal Chem* 1999; 71(23):5263-70.
- Hutchens T. W. and Yip T.: New desorption strategies for the mass spectrometric analysis of macromolecules. *Rapid Commun Mass Spectrom* 1993; 7:546-80.
- Issaq H. J., Conrads T. P., Prieto D. A., Tirumalai R. and Veenstra T. D.: SELDI-TOF MS for diagnostic proteomics. *Anal Chem* 2003; 75(7):148A-55A.
- Blueggel M., Chamrad D. and Meyer H. E.: Bioinformatics in proteomics. *Curr Pharm Biotechnol* 2004; 5(1):79-88.
- Adam B. L., Qu Y., Davis J. W., Ward M. D., Clements M. A., Cazares L.

- H., Semmes O. J., Schellhammer P. F., Yasui Y., Feng Z. and Wright G. L., Jr.: Serum protein fingerprinting coupled with a pattern-matching algorithm distinguishes prostate cancer from benign prostate hyperplasia and healthy men. *Cancer Res* 2002; 62(13):3609-14.
- Poon T. C., Yip T. T., Chan A. T., Yip C., Yip V., Mok T. S., Lee C. C., Leung T. W., Ho S. K. and Johnson P. J.: Comprehensive proteomic profiling identifies serum proteomic signatures for detection of hepatocellular carcinoma and its subtypes. *Clin Chem* 2003; 49(5):752-60.
- Petricoin E. F., Ardekani A. M., Hitt B. A., Levine P. J., Fusaro V. A., Steinberg S. M., Mills G. B., Simone C., Fishman D. A., Kohn E. C. and Liotta L. A.: Use of proteomic patterns in serum to identify ovarian cancer. *Lancet* 2002; 359(9306):572-7.
- Liotta L. A., Petricoin E. F., 3rd, Ardekani A. M., Hitt B. A., Levine P. J., Fusaro V. A., Steinberg S. M., Mills G. B., Simone C., Fishman D. A. and Kohn E. C.: General keynote: proteomic patterns in sera serve as biomarkers of ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2003; 88(1 Pt 2):S25-8; discussion S37-42.
- Paweletz C. P., Liotta L. A. and Petricoin E. F., 3rd: New technologies for biomarker analysis of prostate cancer progression: Laser capture microdissection and tissue proteomics. *Urology* 2001; 57(4 Suppl 1):160-3.
- Paweletz C. P., Gillespie J. W. and Ornstein J. K.: Rapid protein display profiling of cancer progressions directly from human tissue using a protein biochip. *Drug Dev Res* 2000; 49(34-42).
- Cardone M. H., Roy N., Stennicke H. R., Salvesen G. S., Franke T. F., Stanbridge E., Frisch S. and Reed J. C.: Regulation of cell death protease caspase-9 by phosphorylation. *Science* 1998; 282(5392):1318-21.
- Chernyak A., Karavanov A., Ogawa Y. and Kovac P.: Conjugating oligosaccharides to proteins by squaric acid diester chemistry: rapid monitoring of the progress of conjugation, and recovery of the unused ligand. *Carbohydr Res* 2001; 330(4):479-86.
- Forde C. E., Gonzales A. D., Smessaert J. M., Murphy G. A., Shields S. J., Fitch J. P. and McCutchen-Maloney S. L.: A rapid method to capture and screen for transcription factors by SELDI mass spectrometry. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 290(4):1328-35.

knihy

LATE EFFECTS OF CHILDHOOD CANCER

WALLACE H., GREEN D. (EDS.)

LONDON, ARNOLD 2004

416 s., 75 obr., 46 tab., cena 110,- GBP, ISBN 0-340-80803-9

Tato kniha o pozdních účincích zhoubných nádorů v dětském věku sestává ze 14 sekcí s následující tematikou: neurologické důsledky a postižení smyslových orgánů, sekundární nádory jako důsledek léčby primární rakoviny, kardiovaskulární komplikace, respirační komplikace, urologické komplikace, GIT komplikace, účinky na endokrinní orgány a plodnost, muskuloskeletální komplikace, transplantace kostní dřevě, kožní komplikace, kvalita života, zdravý způsob života a strategie prevence, strategie pro dlouhodobé sledování v UK a USA. Autoři jsou z univerzit v Edinburgu a New Yorku a spolupracovali s dalšími 52 odborníky převážně ze zmíněných zemí.

Léčba zhoubných nádorů u dětí v posledních 40 letech je stále úspěšnější a zvyšuje se počet dlouhodobě přežívajících jedinců; v rozvinutých zemích připadá na tisíc mladých lidí jeden člověk, kterého postihl zhoubný nádor v dětském věku. U některých léčebných postupů, jež hlavní měrou přispěly k přežití, se ukázalo, že mají vážné důsledky pro pacienta v pozdějším životě; mnoho jedinců je postiženo fyzickými, mentálními a psychologickými vadami projevujícími se v menší či větší míře. Autoři shrnuli podrobně v jednom svazku všechny aspekty dlouhodobých účinků léčby zhoubných nádorů v dětském věku. Jak je patrné ve shora uvedeném přehledu kapitol, kniha je strukturována spíše podle orgánových a tkáňových komplikací než podle původního místa malignity.

Podrobnější skladbu knihy lze přiblížit na příkladu sekce pojednávající o pozdních účincích na endokrinní orgány a plodnost. Tato sekce sestává z následujících kapitol: růst a neuroendokrinní následky, poruchy osy hypothalamus, hypofýza a štítná žláza, funkce vaječnicků a dělohy a reprodukční potenciál, funkce varlat, gravidita. Ke každé kapitole – a tak je tomu v celé knize – jsou připojeny „key points“ vystihující nejdůležitější poznatky a závěry na základě textu kapitoly. Uvedeme překlad tří zajímavých klíčových bodů v závěru kapitoly o graviditě. Zastoupení novorozenců s hmotností menší než 2500 g je u žen, jež prodělaly v dětství radioterapii zahrnující pánev, větší než u jejich sourozenců ženského pohlaví. Není zvýšen výskyt rakoviny u potomků osob, jež prodělaly rakovinu v dětství a jež nemají genetické zatížení jako např. familiální retinoblastom, neurofibromatózu aj. Podobně není u těchto potomků zvýšena frekvence abnormalit chromozómů, jednogenových defektů a kongenitálních malformací. Vedle popsaných klíčových bodů přispívají k přehlednosti čtivého textu obsahy sekcí a kapitol uváděné vždy v úvodu každé kapitoly a dále dobře uspořádané tabulky a grafy (na vložené příloze je deset barevných snímků).

V předmluvě je kniha doporučována především dětským onkologům, kteří potřebují být plně informováni, aby mohli poskytovat rady pacientům a jejich rodičům a dále endokrinním onkologům, onkologům a jiným lékařům, kteří přicházejí do kontaktu s jedinci trpícími pozdními účinky léčby zhoubných nádorů. Knihu distribuuje Bookpoint Limited, 39 Milton Park, Abingdon, Oxon, OX14 4TD, UK.

V. H.

POZDNÍ NÁSLEDKY PO LÉČBĚ NÁDOROVÝCH ONEMOCNĚNÍ DĚTSKÉHO VĚKU

LATE EFFECTS AFTER COMPLETION OF TREATMENT FOR A PEDIATRIC MALIGNANCY

KEPÁK T.

KLINIKA DĚTSKÉ ONKOLOGIE FN BRNO A LF MU V BRNĚ

Souhrn: Pozdními následky označujeme komplikace nebo nežádoucí účinky spojené s léčbou, které přetrvávají nebo se objevují po ukončení léčby dětské malignity. Děti a dospělí v dlouhodobé remisi nádorového onemocnění dětského věku představují rostoucí, rizikovou a ohroženou populaci se speciální potřebou zdravotní péče. Vzhledem k riziku rozvoje pozdních následků léčby vyžadují všechny děti a dospělí po léčbě dětské malignity dlouhodobou zdravotní péči, která je zaměřená na prevenci a zohledňuje individuální riziko vyplývající z předchozí protinádorové terapie.

Klíčová slova: pozdní následky, dětské nádory, dlouhodobé sledování, sekundární malignity, kardiotoxicita, neurokognitivní poruchy

Summary: Late effects are defined as therapy-related complications or adverse effects that persist or arise after completion of treatment for a pediatric malignancy. Long-term survivors of childhood cancer represent a growing, at-risk and vulnerable population with special health care needs. Because of the potential of childhood cancer survivors for late effects, longitudinal and preventive-focused health care that includes risk assessment based upon previous cancer treatment is recommended for all long-term childhood cancer survivors.

Key words: late effects, childhood cancer, long-term follow-up, secondary malignancies, cardiotoxicity, neurocognitive disorders

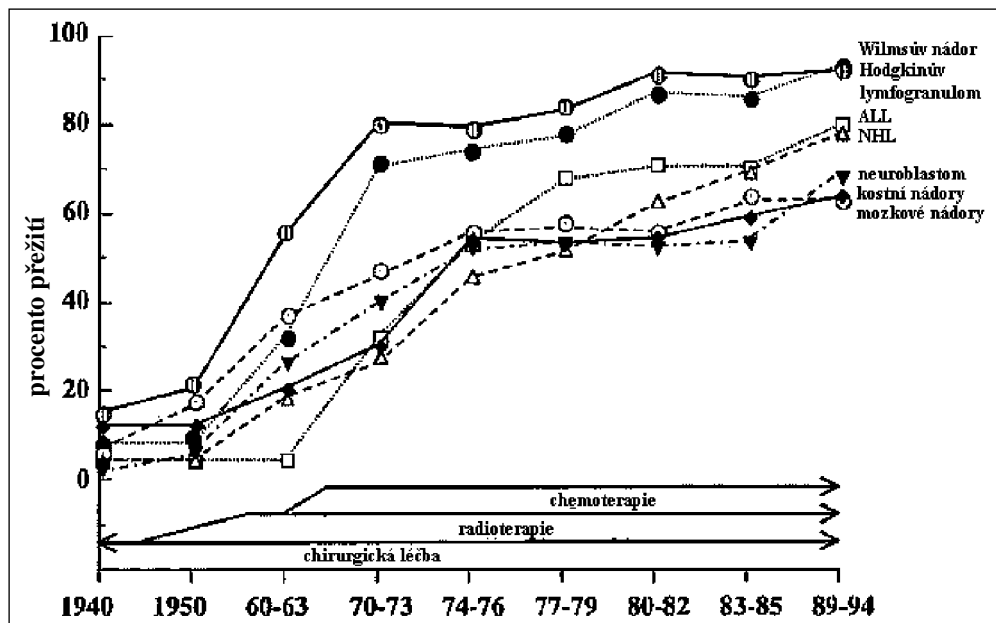
Nádorová onemocnění dětí a mladistvých jsou dnes vysoce kurabilní onemocnění^{1,2,3}. Díky pokroku na poli operační léčby, radioterapie, chemoterapie, transplantací krevtvořné tkáně a také díky rozvoji specializovaných diagnostických metod a podpůrné léčby se prognóza dětí s maligním onemocněním v posledních dekádách pozoruhodně zlepšila (viz graf 1). Pravděpodobnost 5letého přežití vzrostla z méně než 30% v roce 1960 na více než 70% v roce 1990³. Dnes dosahuje dlou-

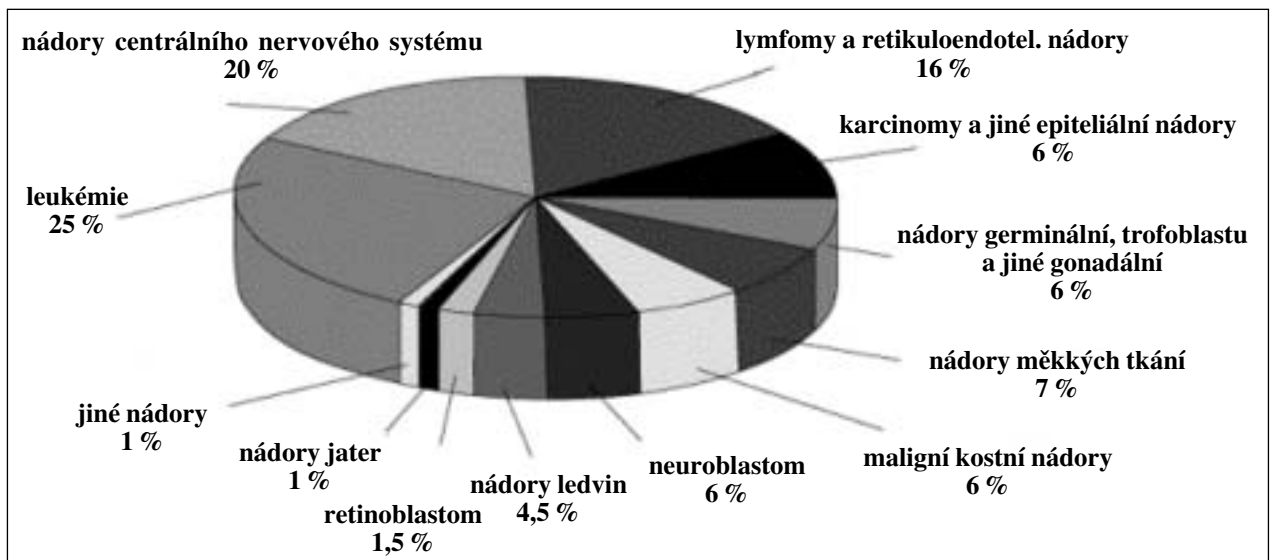
hodobých remisí onemocnění více než 75% dětí a mladistvých léčených pro nádorové onemocnění dětského věku^{2,3,4}. Tohoto úspěchu bylo ale dosaženo za cenu velmi agresivní léčby s řadou vedlejších nežádoucích účinků. Nezdá se být reálné, že by stávající léčba, která je za tyto nepříznivé účinky odpovědná, mohla být v dohledné době nahrazena novými léčebnými modalitami, které jsou dnes intenzivně zkoumány (např. genovou terapií, intracelulární chemoterapií, protinádorovými

vakcínami, antiangiogenní léčbou).

Se stále se zvyšujícím počtem úspěšně vyléčených dětí a mladistvých roste tedy význam zvažování dlouhodobé morbidity a mortality asociované s dnešní léčbou dětských nádorových onemocnění. V blízké budoucnosti (dle odhadů v r. 2010) bude mít 1 z 1000 dospělých mladších 45 let (a dokonce 1 z 570 mladých dospělých ve skupině 20 - 34 let věku) anamnézu léčby nádorového onemocnění dětského věku⁵. Už dnes se kliničtí onkologové, praktičtí lékaři pro děti a dorost a pro dospělé, stejně jako ambulantní specialisté, s dětmi a dospělými s anamnézou dětské malignity

Graf 1: Úspěšnost léčby dětských nádorových onemocnění (upraveno dle Pizzo and Poplack in Principles and Practice of Pediatric Oncology, Lippincott, 2002).





setkávají ve svých ordinacích stále častěji. Pozdní následky současné antineoplastické terapie jsou nezanedbatelné a představují vážný medicínský a socioekonomický problém. Problematika pozdních následků je do značné míry specifická a vyžaduje detailní znalost léčby konkrétního pacienta.

V obecné rovině platí, že děti ve srovnání s dospělými lépe tolerují akutní toxicitu léčby díky lepšímu regeneračnímu potenciálu řady orgánových systémů a menší závažné komorbiditě¹. Jsou však díky nezralosti a tudíž větší vulnerabilitě orgánových systémů mnohem více ohroženy rozvojem pozdních následků, které v menší či větší míře ovlivňují vývoj dítěte a kvalitu života v dětství i dospělosti⁶⁻¹⁰.

Za pozdní následky onkologické léčby považujeme takové, které přetrvávají nebo se objevují minimálně 2 roky od ukončení protinádorové léčby dětské malignity. Některé pozdní následky jsou identifikovány časně po ukončení léčby a opět bez intervence vymizí, jiné mohou přetrvávat a progredovat po celý život¹¹. Rozvojem pozdních následků může být postižen kterýkoli tělesný orgán či funkce. Tato variabilita je hlavním problémem systematického sledování pozdních následků protinádorové léčby (viz tabulka 1).

K pochopení širší problematiky pozdních následků léčby je třeba zmínit značnou heterogenitu histogeneze, která je pro dětské nádory typická a která k variabilitě pozdních následků značnou měrou přispívá (viz graf 2).

Téměř 60% všech dětských nádorů představují akutní leukémie, nádory centrálního nervového systému a maligní lymfomy. Dlouhodobých remisí dnes dosahuje téměř 80% dětí s akutní lymfoblastickou leukémií (nejčastějším typem leukémie v dětském věku), přibližně dvě třetiny dětí s nádory CNS, více než 90% dětí s Hodgkinským lymfogranulomem a téměř 75% procent dětí a mladistvých s non-hodgkinskými lymfomy. I u většiny dalších typů nádorů u dětí dosahuje dlouhodobých remisí více než 50% nemocných, někdy i více než 90% z nich (např. Wilmsův tumor, retinoblastom a další)^{1,2,3,4}. Možné pozdní následky léčby tak zvažujeme prakticky u všech dětí před zahájením a v průběhu protinádorové terapie¹².

Na etiopatogenezi pozdních následků se podílejí všechny stávající základní léčebné modalit (chirurgická léčba, radioterapie a chemoterapie včetně vysoce dávkované s transplantací hemopoetické tkáně)^{1,10,13}. Z hlediska nemocného i z hlediska populačního a socioekonomického patří mezi nejzávažnější pozdní následky předčasná úmrtí, kongestivní srdeční selhání, ischemická onemocnění CNS, poruchy růstu a vývoje, sekundární malignity a poruchy neurokognitivních funkcí^{10,14-19}.

Pozdní následky reflektují vývoj léčby dětských malignit, některé jsou specifické pro určitou kohortu pacientů a léčebné období a u nověji léčených dětí je již nepozorujeme (např. těžké skoliotické deformity páteře po asymetrickém ozáření obratlových těl u dětí s nádory retroperitonea a nádory ledvin). Pozdní následky reflektují také specifické faktory dané loka-

Tabulka 1: Nejčastější pozdní následky protinádorové léčby u dětí dle postiženého orgánu, systému či funkce.

poškozený orgán, systém či funkce	nejčastější pozdní následky
centrální nervový systém	arachnoiditida, paretické jevy, encefalopatie, epilepsie, poruchy intelektu a dalších neurokognitivních funkcí, postradiační nekroza, fantomové bolesti po amputaci
ucho	poškození sluchu
oko	katarakta, retinopatie, xeroftalmie, konjunktivitida, amauroza
slinné žlázy	xerostomie
chrup	kazivost, poškození vývoje druhé dentice
plice	pneumonitida, fibróza, respirační insuficience
srdce	chronická kardiomyopatie, perikarditida
játra	steatóza, fibróza, cirhóza
ledviny	chronická nefritida, tubulopatie, funkční nedostatečnost
močový měchýř	hemoragická cystitida, poruchy funkce sfinkteru
gonády	dysmenorea/amenorea, poruchy spermiogeneze, poruchy fertility
muskuloskeletální systém	zkratky končetin, deformity, dysproporcionální poruchy růstu, osteoporóza, amputace
kostní dřeň	sekundární myelodysplastický syndrom, sekundární leukémie (AML)
kůže	hyperpigmentace, alopecie, hypotrofie
mízní uzliny	lymfedém
periferní nervy	polyneuropatie
endokrinní žlázy	hypofunkce (méně často hyperfunkce), somatická retardace, předčasná nebo opožděná puberta, gynekomastie
systémová poškození	poruchy metabolismu tuků, obezita, poruchy imunity, mutagenní, teratogenní a kancerogenní účinky, sekundární malignity)

Tabulka 2: Nejčastější pozdní následky protinádorové léčby u dětí dle typu nádoru.

Typ nádoru leukémie	<p>Možné pozdní následky</p> <ul style="list-style-type: none"> • kognitivní poruchy (např. poruchy učení) • porucha růstu a vyžívání • srdeční poškození • sekundární malignity • obezita • osteoporóza • avaskulární kostní nekróza • poškození chrupu
mozkové nádory	<ul style="list-style-type: none"> • neurologické a kognitivní poruchy (např. poruchy učení) • porucha růstu a vyžívání • ztráta sluchu • poškození ledvin • infertilita • porucha zraku • sekundární malignity
Hodgkinova choroba	<ul style="list-style-type: none"> • snížená odolnost k infekcím (možnost život ohrožujících sepsí) • porucha růstu a vyžívání • hypothyreóza (následek radioterapie na oblast krku) • malfunkce slinných žláz (následek radioterapie na oblast dolní čelisti) • plicní poškození • srdeční poškození • infertilita • sekundární malignity (např. karcinom prsu u žen)
nehodgkinské lymfomy	<ul style="list-style-type: none"> • srdeční poškození • kognitivní poruchy • infertilita • osteopenie/osteoporóza
kostní nádory	<ul style="list-style-type: none"> • amputace/mutilace • funkční a pracovní (herní) omezení • poškození měkkých tkání a přilehlých kostí (jizvení, edém, inhibice růstu jako následek radioterapie) • srdeční poškození • ztráta sluchu • poškození ledvin • sekundární malignity • infertilita
Wilmsův nádor	<ul style="list-style-type: none"> • srdeční poškození • poškození ledvin • poškození měkkých tkání a přilehlých kostí (jizvení, edém, inhibice růstu jako následek radioterapie) • sekundární malignity • infertilita • skolióza
neuroblastom	<ul style="list-style-type: none"> • srdeční poškození • poškození měkkých tkání a přilehlých kostí (jizvení, edém, inhibice růstu jako následek radioterapie) • neurokognitivní poruchy • ztráta sluchu • sekundární malignity • poškození ledvin
nádory měkkých tkání	<ul style="list-style-type: none"> • amputace/mutilace • funkční a pracovní (herní) omezení • srdeční poškození • poškození měkkých tkání a přilehlých kostí (jizvení, edém, inhibice růstu jako následek radioterapie) • sekundární malignity • poškození ledvin • katarakta • infertilita • neurokognitivní poruchy

lizací a biologickou povahou jednotlivých typů dětských nádorů a jejich specifickou terapií²⁰. V tabulce 2 přinášíme přehled nejčastějších pozdních následků dle typu nádoru.

Minimálně jeden z možných pozdních následků léčby nalézáme při dlouhodobém sledování téměř u dvou třetin nemocných^{11,20,21}. Čtvrtina pacientů je ohrožena některým z velmi vážných nebo život ohrožujících pozdních následků či komplikací.

Při dlouhodobém sledování bylo zaznamenáno až 10,8 násobné zvýšení mortality u těch, kteří dosáhli dlouhodobých remise nádorového onemocnění³. I když většina úmrtí je způsobena recidivou nádorového onemocnění, 21,3% úmrtí představují faktory spojené s protinádorovou léčbou a jejími komplikacemi. Nejčastější příčinou úmrtí po léčbě dětských malignit jsou sekundární malignity a kardiotoxicita^{3,22}. Neméně závažným, byť ne smrtelným, pozdním následkem léčby je závažná porucha neurokognitivních funkcí, často výrazně ovlivňující kvalitu života nemocných. Nejvíce rizikovou skupinu představují děti po megachemoterapii a transplantaci kostní dřeně nebo periferních hemopoetických buněk a děti po radioterapii CNS^{13,23}.

Kumulativní riziko vývoje sekundárních malignit dosahuje až 3% 20 let od stanovení primární diagnózy nádorového onemocnění dětského věku. Představuje tak 3-10násobné zvýšení rizika oproti běžné populaci¹⁷. Největší riziko rozvoje sekundárních malignit mají zejména pacienti léčení pro Hodgkinův lymfoblastom, nádory měkkých tkání a retinoblastom^{17,23}. Sekundární myelodysplastický syndrom a sekundární akutní myeloidní leukémie vznikají většinou krátce (zpravidla do 1 roku) od ukončení protinádorové léčby. U sekundárních solidních nádorů je tato latence podstatně delší a kumulativní riziko roste po dobu dvou i více dekad^{24,14}. Riziko rozvoje sekundárních malignit zvyšuje také ženské pohlaví^{14,25}, dávka radioterapie^{26,27}, léčba alkylačními činidly^{28,29} a inhibitory topoizomerázy³⁰.

Závažná kardiotoxicita je způsobena především nežádoucími účinky léčby antracyklinovými antibiotiky, které patří mezi nejvíce používaná cytostatika (nejen) v dětské onkologii. Kardiotoxicita antracyklinů je závislá na dávce³¹⁻³² a může být časná (v průběhu nebo do jednoho roku od ukončení chemoterapie) nebo pozdní (manifestující se i po desítkách let od ukončení protinádorové léčby³³). Riziko zvyšuje kumulativní dávka antracyklinů, ženské pohlaví, nižší věk v době léčby, trisomie 21, radioterapie na oblast srdce, léčba cyklofosfamidem, ifosfamidem a amsacrinem^{16,34,35}. Mortalita spojená s kongestivním srdečním selháním vzniklým jako následek léčby antracykliny dosahuje více než 20% a v některých situacích může přesáhnout i 50%³⁶. Kumulativní incidence ischemické choroby srdeční dosahuje 21.3% ve 20 letech³⁷. Riziko ischemické choroby srdeční zvyšuje radiační dávka (nad 30 Gy) a objem a mladší věk v době ozáření³⁸.

Jedním z nejvíce devastujících pozdních následků léčby je porucha kognitivních funkcí u dětí, jejichž onemocnění nebo jeho léčba postihuje centrální nervový systém³⁹. Nejrizikovější skupinu pacientů tak představují děti s primárními nebo sekundárními nádory CNS a s akutní leukémií nebo maligními lymfomy vyžadujícími ozáření mozku nebo intrathekální aplikaci chemoterapie (což představuje přibližně 60% všech dětských onkologických pacientů!), a také děti po transplantaci kostní dřeně nebo periferních hemopoetických buněk⁴⁰⁻⁴³. Největší vulnerabilitu neurokognitivních funkcí nacházíme u dětí mladších 3 let věku, s nejtěžší a prodlouženou terapií (radioterapií a chemoterapií)⁴⁴. Cena, kterou někteří nemocní za vyléčení z nádorového onemocnění zaplatí, je značná. Studie severoamerické Children's Oncology Group L991 zkoumala neuropsychologické pozdní následky po radioterapii CNS 10 let po léčbě pro gliomy vysokého stupně malignity (CCG 945). Z dětí, které zůstaly v remisi onemocnění, mělo jen 33% „normální“ neuropsychologické funkce. U 81% byl zaznamenán špatný prospěch ve škole, u 40% neuropsychologický deficit,

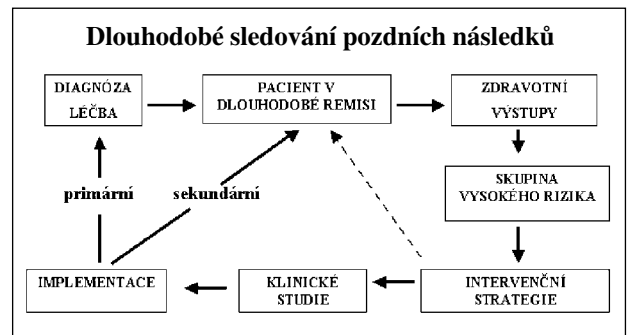
Tabulka 3: Průkaz pacienta po léčbě nádorového onemocnění dětského věku.

onkologická základní diagnóza včetně: <ul style="list-style-type: none"> • topografie • stadia • data stanovení • příp. relapsu
relevantní další diagnózy (např. sekundární malignita, Downův syndrom)
všechna aplikovaná cytostatika včetně: <ul style="list-style-type: none"> • cesty podání • kumulativní dávky alkylancí, antracyklinů, bleomycinu • označení „high-dose“ vrs. „standard-dose“ pro MTX a ARA-C
kumulativní dávky dalších relevantních léků
souhrn radioterapie pro všechna ozařovaná pole včetně: <ul style="list-style-type: none"> • typu radioterapie, data • místa/objemu • celkové dávky, dávky na frakci, počtu frakcí
všechny chirurgické zákroky
transplantace hemopoetických buněk včetně: <ul style="list-style-type: none"> • typu • data • conditioningu • GvHD profylaxe/léčby
signifikantní komplikace léčby; zejména ty, které vyžadovaly terapii
nežádoucí reakce/alergie na léky

u 28% ztráta sluchu, ve 23% růstový či motorický deficit a u 12% zrakové a psychiatrické problémy⁴⁵.

Výše uvedené příklady ilustrují závažnost problematiky pozdních následků. Detailně zde nezmiňujeme celou řadu dalších oblastí, které je nutné u konkrétního nemocného sledovat a které mohou být z individuálního hlediska minimálně stejně naléhavé (např. slepota, hluchota, poruchy fertility a mnoho dalších). V současnosti panuje všeobecná shoda na tom, že děti, mladiství a dospělí po léčbě dětského nádorového onemocnění by měli být dlouhodobě a systematicky sledováni. Celosvětově však není jednoty v tom, kdo by je měl sledovat, kde by sledování mělo probíhat a co všechno by se mělo sledovat. Strategie dlouhodobého sledování musí být založena na principech individualizace rizika (risk-based), na „evidence-based“ medicíně, tedy výzkumu na poli pozdních následků a kolektivní klinické zkušenosti kooperativních mezinárodních skupin dětské onkologie a v neposlední řadě na odvození plánu

Obř. 1: Strategie dlouhodobého sledování pozdních následků po proběhlé protinádorové léčbě.



sledování od jednotlivých léčebných modalit („exposure-related“)⁴⁶. Minimální vstupní data poskytující relevantní souhrn o proběhlé protinádorové léčbě pacienta vstupujícího do systému sledování pozdních následků přináší tabulka 3. Tímto „Průkazem pacienta po léčbě nádorového onemocnění dětského věku“ vybavujeme na Klinice dětské onkologie FN Brno a LF MU v Brně všechny pacienty v remisi onemocnění 2 roky po ukončení intenzivní fáze protinádorové léčby.

Cílem jednotného sledování je poskytnout rámec pro trvalé monitorování pozdních následků. V mezích současných možností pak umožnit intervence zaměřené na zvýšení kvality života a snížení nákladů spojených s léčbou komplikací a následků po proběhlé protinádorové léčbě⁴⁷ (viz obrázek 1). Důležitou součástí individuálních intervenčních strategií je kontinuální podpora zdravého životního stylu a prevence tzv. „civilizačních“ chorob dětí a dospělých po léčbě nádorového onemocnění dětského věku⁴⁸⁻⁵⁰. Významný je výzkum zaměřený na otázky geneticky podmíněné susceptibility k jednotlivým pozdním následkům a faktory ovlivňující interakci genomu s prostředím⁵¹⁻⁵³. Identifikace těchto faktorů a jejich implementace do stávajících léčebných schémat umožní další individualizaci onkologické léčby⁵⁴.

Závěr

Dlouhodobé remise dosahované dnes u většiny dětí a mladistvých s nádorovým onemocněním dětského věku a identifikace pozdních následků způsobených samotným nádorovým onemocněním, jeho léčbou nebo kombinací obou těchto faktorů vedou k posunu ve vnímání dětských malignit. Ty dnes považujeme za chronická onemocnění vyžadující kontinuální celoživotní specializovanou následnou zdravotní péči.

Literatura

1. Pizzo PA and Poplack DG: Principles and Practice of Pediatric Oncology, editors, JB Lippincott-Raven Co, Philadelphia, 2002.
2. Koutecký J., Kabičková E., Starý J.: Dětská onkologie pro praxi. Triton, Praha, 2002.
3. Reis LAG, Eisner MP, Kosary CL, et al: SEER Cancer Statistics Review. National Cancer Institute, Bethesda, MD: 1973-1998, 2001.
4. Štěrba J.: Dětská onkologie na počátku třetího tisíciletí. Postgraduální medicína, 6 (3): 261 - 263.
5. NCPB: National Cancer Policy Board - Supplement on Childhood Cancer Survivors, 2003.
6. Blatt J, Copeland DR, Bleyer WA: Late effects of childhood cancer and its therapy. In: Principles and Practice of Pediatric Oncology, Pizzo PA and Poplack DG, editors, JB Lippincott-Raven Co, Philadelphia: 1303-1329, 1987.
7. Bokemeyer C, Schmoll H.J, van Rhee J, et al: Long-term gonadal toxicity after therapy for Hodgkin's and non-Hodgkin's lymphoma. Ann Hematol 68 (3): 105-110, 1994.
8. Meister LA, Meadows AT: Late effects of childhood cancer therapy. Current Prob in Pediatr 23: 102-131, 1993.
9. Gurney JG, Kadan-Lottick NS, Packer RJ, et al: Endocrine and cardiovascular late effects among adult survivors of childhood brain tumors: Childhood Cancer Survivor Study. Cancer 97: 663-673, 2003.

10. Schwartz CL: Late effects of treatment in long-term survivors of cancer. Cancer Treat Rev, 21: 355-366, 1995.
11. Oeffinger KC, Eshelman DA, Tomlinson GE, Buchanan GR, Foster BE. Grading of late effects in young adult survivors of childhood cancer followed in an ambulatory adult setting. Cancer 88: 1687-1695, 2000.
12. Štěrba J, Múdry P, Skotáková J, Gál P: Možnosti konzervativního postupu u novorozenců a malých kojenců s neuroblastomem nízkého rizika. Čes.-slov. Pediatr. 57: 72 - 74, 2002.
13. Boulard F, Sands S, Sklar C: Late complications after bone marrow transplantation in children and adolescents. Curr Probl Pediatr 28: 273-304, 1998.
14. Bhatia S, Robison LL, Oberlin O, et al: Breast cancer and other second neoplasms after childhood Hodgkin's disease. N Engl J Med 334: 745-751, 1996.
15. Christie D, Leiper AD, Chessells JM, et al: Intellectual performance after presymptomatic cranial radiotherapy for leukaemia: effects of age and sex. Archives of Disease in Childhood 73: 136-140, 1995.
16. Kremer LCM, van Dalen EC, Offringa M, et al: Frequency and risk factors of anthracycline-induced clinical heart failure in children: a systematic review. Annals of Oncology 13: 503-512, 2002.
17. Neglia JP, Friedman DL, Yutaka Y, et al: Second malignant neoplasms in five-year survivors of childhood cancer: Childhood cancer survivor study. J Natl Cancer Inst. 93: 618-629, 2001.

18. Mertens AC, Yasui Y, Liu Y, et al: Pulmonary complications in survivors of childhood and adolescent cancer. A report from the Childhood Cancer Survivor Study. *Cancer* 95: 2431-2441, 2002.
19. Hogeboom CJ, Grosser SC, Guthrie KA, et al: Stature loss following treatment for Wilms tumor. *Med Pediatr Oncol* 36: 295-304, 2001.
20. Garré ML, Gandus S, Cesana B, Haupt R, De Bernardi B, Comelli A, et al: Health status of long-term survivors after cancer in childhood. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 16: 143-152, 1994.
21. Stevens MCG, Mahler H, Parkes S. The health status of adult survivors of cancer in childhood. *Eur J Cancer* 34: 694-698, 1998.
22. Eriksson F, Gagliardi G, Liedberg A, et al: Long-term cardiac mortality following radiation therapy for Hodgkin's disease: analysis with the relative seriality model. *Radiother Oncol* 55: 153-162, 2000.
23. Bhatia S, Ramsay NKC, Steinbuch M, et al: Malignant neoplasms following bone marrow transplantation. *Blood* 87: 3633-3639, 1996.
24. Meadows AT: Risk factors for second malignant neoplasms: report from the Late Effects Study Group. *Bull Cancer* 75: 125-130, 1988.
25. Zang EA, Wynder EL: Differences in lung cancer risk between men and women: examination of the evidence. *JNCI* 88:183-192, 1996.
26. Hawkins MM, Wilson LM, Burton HS, et al: Radiotherapy, alkylating agents, and risk of bone cancer after childhood cancer. *JNCI* 88: 270-278, 1996.
27. Tucker MA, D'Angio GL, Boice JD J, et al: Bone sarcomas linked to radiotherapy and chemotherapy in children. *N Engl J Med* 317:588-593, 1987.
28. Tucker MA, Murray N, Shaw EG, et al: Second primary cancers related to smoking and treatment of small-cell lung cancer. *J Natl Cancer Inst*. 89: 1782-1788, 1997.
29. Pedersen-Bjergaard J, Erbsoll J, Hansen VL, et al: Carcinoma of the urinary bladder after treatment with cyclophosphamide for non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 318: 1028-1032, 1988.
30. Smith MA, Rubinstein L, Anderson JR, et al: Secondary leukemia or myelodysplastic syndrome after treatment with epipodophyllotoxins. *J Clin Oncol* 17: 569-577, 1999.
31. Lipshultz SE, Colan SD, Gelber RD, et al: Late cardiac effects of doxorubicin therapy for acute lymphoblastic leukemia in childhood. *N Engl J Med* 324: 808-815, 1991.
32. Krischer JP, Epstein S, Cuthbertson DD, et al: Clinical cardiotoxicity following anthracyclines treatment of childhood cancer. The Pediatric Oncology Group Experience. *J Clin Oncol* 15: 1544-1552, 1997.
33. Shan K, Lincoff AM, Young JB: Anthracycline induced cardiotoxicity. *Ann Intern Med* 125: 47-58, 1996.
34. Nysom K, Holm K, Lipsitz SR, et al: Relationship between cumulative anthracycline dose and late cardiotoxicity in childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 16: 545-550, 1998.
35. Sorensen K, Levitt G, Bull C, et al: Anthracycline dose in childhood acute lymphoblastic leukemia: issues of early survival versus late cardiotoxicity. *J Clin Oncol* 15: 61-8, 1997.
36. Cohn JN: Prognosis in congestive heart failure. *J Card Fail* 2 (4 Suppl): S225-229, 1996.
37. Reinders JG, Heijman BJ, Olofsen-van Acht MJ, et al: Ischemic heart disease after mantlefield irradiation of Hodgkin's disease in long-term follow-up. *Radiother Oncol* 51 : 35-42, 1999.
38. Glanzmann C, Kaufmann P, Jenni R, et al: Cardiac risk after mediastinal irradiation for Hodgkin's disease. *Radiother Oncol* 46: 51-62, 1998.
39. Roman DH, Sperduto PW. Neuropsychological effects of cranial radiation: Current knowledge and future directions. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics* 31: 983-998, 1995.
40. Ris MD, Noll RB. Long-term neurobehavioral outcome in pediatric brain-tumor patients: Review and methodological critique. *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology* 16:21-42, 1994.
41. Moleski M. Neuropsychological, neuroanatomical, and neurophysiological consequences of CNS Chemotherapy for acute lymphoblastic leukemia. *Archive of clinical Neuropsychology* 15: 603-630, 2000.
42. Maden-Swain A, Brown RT. Cognitive and psychosocial sequelae for children with acute lymphocytic leukemia and their families. *Clinical Psychology Review* 1991;11:267-294.
43. Štěrbá J. Někteří aktuální aspekty chemoterapie maligních nádorů centrálního nervového systému u dětí. *Klinická onkologie* 4: 112-115, 2000.
44. Butler RW, Copeland DR. Neuropsychological effects of central nervous system prophylactic treatment in childhood leukemia: methodological considerations. *Journal of Pediatric Psychology* 1993;18:319-338.
45. Finlay J. COG Spring Meeting, 2004. Personal communication.
46. Long-Term Follow-Up Guidelines for Survivors of Childhood, Adolescent, and Young Adult Cancers. Version 1.2. *Childrens Oncology Group*, 2004.
47. Crom, D. B., Chathaway, D. K., Tolley, E. A., Mulhern, R. K., & Hudson, M. M. (1999). Health status and health-related quality of life in long-term survivors of pediatric solid tumors. *International Journal of Cancer*, 12 (Supplement), 25-31.
48. Feeny, D., Furlong, W., Barr, R. D., Torrance, G. W., Rosenbaum, P., & Weitzman, S. (1992). A comprehensive multiattribute system for classifying the health status of survivors of childhood cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 10, 923-928.
49. Haupt, R., Byrne, J., Connelly, R., Mostow, E., Austin, D., Holmes, G., Holmes, F., Latourette, H., Teta, M., Strong, L., Myers, M., & Mulvihill, J. (1992). Smoking habits in survivors of childhood and adolescent cancer. *Medical and Pediatric Oncology*, 20, 301-306.
50. Mulhern, R. K., Tyc, V. L., Phipps, S., Crom, D., Barclay, D., Greenwald, C., Hudson, M., & Thompson, E. I. (1995). Health-related behaviors of survivors of childhood cancer. *Medical and Pediatric Oncology*, 25(3), 159-165.
51. Yamada Y, Izawa H, Ichihara S, et al: Prediction of the risk of myocardial infarction from polymorphisms in candidate genes. *N Engl J Med* 347:1916-1923, 2002
52. Charron P, Tesson F, Poirier O, et al: Identification of a genetic risk for idiopathic dilated cardiomyopathy. Involvement of a polymorphism in the endothelin receptor type A gene. *CARDIGENE* group. *Eur Heart J* 20:1587-1591, 1999
53. Blanco JG, Edick MJ, Hancock ML, et al: Genetic polymorphisms in CYP3A5, CYP3A4 and NQO1 in children who developed therapy-related myeloid malignancies. *Pharmacogenetics* 12:605-611, 2002
54. Robison, L. (1993). Issues in the consideration of intervention strategies in long-term survivors of childhood cancer. *Cancer*, 71(10), 3406-3410.

knihy

ONCOLOGY FOR PALIATIVE MEDICINE, SECOND EDITION

HOSKIN P., MAKIN V.

OXFORD, OXFORD UNIVERSITY PRESS 2003
349 s., 45 obr., 38 tab., cena 29,95 GBP, ISBN 019-262811-9

V této knize o paliativním lékařství má první kapitola název „paliativní onkologie“ s odstavci o výsledcích paliace a vyvíjejícím se vztahu mezi onkologií a paliativní péčí. Následuje dalších pět kapitol o biologii zhoubných nádorů, epidemiologii a klinických trialech, úloze chirurgických a radiologických intervencí při paliaci, základech radioterapie, systémové terapii (chemoterapii, hormonální a biologické terapii). Jedná se o pěkné a stručné přehledy těchto temat s důrazem na základní informace užitečné dále při studiu kapitol o konkrétních nádorech.

Dalších 14 kapitol nese název podle druhu zhoubných nádorů, o nichž pojednávají: nádor plic, prsu, močového měchýře, GI traktu, hlavy a krku, gynekologické nádory, nádory CNS, lymfomy, leukémie a myelomy, nádory kůže, kostí, malignity s neznámým primárním místem původu, nádory spojené s infekcí HIV, metastázy do hrudníku, kostí, jater aj. Tato pojednání mají obdobnou skladbu - jako příklad jsou uvedeny odstavce

z kapitoly o karcinomu prsu: etiologie, genetická rizika, léčba časného (operabilního) nádoru, principy managementu, prognostické faktory, adjuvantní léčba (chemoterapie, radioterapie), management lokálně pokročilého nádoru, metastázy (místa onemocnění, prognóza, volby terapie, systémová chemoterapie pokročilého stadia).

Poslední tři kapitoly se zabývají bolestí související s nádory, jinými problémy, jež nádory doprovázejí – selhání ledvin a nadledvinek, hyperkalciemie, paraneoplastické syndromy, otoky končetin a trombózy. Poslední kapitola se zabývá smrtí způsobenou při léčbě rakoviny nebo způsobenou přímo tímto onemocněním.

Text je velmi přehledně uspořádán, je přerušován četnými odstavci oddělenými od ostatního textu odstínem šedi, jež obsahují jednak klíčové jednak praktické body shrnující výklad, dále popisem vybraných klinických případů a přehlednými tabulkami a diagramy zachycujícími postupy léčby. Podle předmluvy má kniha za úkol poskytnout lékařům a středně zdravotnickým pracovníkům zaměřeným na paliativní péči primární znalosti, na jejichž základě provádějí onkologové klinické rozhodování se zvláštěním důrazem na paliativní léčbu. Kniha zachycuje pokrok, k němuž došlo v této oblasti lékařství od doby charakterizované v minulosti výrokem „nedá se již více udělat“. Adresa nakladatelství: Oxford University Press, Great Clarendon Street, Oxford OX2 6DP, UK. V. H.

TAXOL NEBO CISPLATINA V KONKOMITANTNÍ CHEMORADIOTERAPII KARCINOMU DĚLOŽNÍHO ČÍPKU?

TAXOL OR CISPLATIN IN THE CONCOMITANT CHEMORADIOTHERAPY OF LOCALLY ADVANCED CERVICAL CANCER?

KALÁBOVÁ R.¹, NEUMANNOVÁ R.², KOUKALOVÁ H.¹,

¹ MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV BRNO

² FN BRNO, PRACOVISŤE FAKULTNÍ PORODNICE

Souhrn: Paclitaxel a cisplatina jsou cytostatika efektivní v léčbě pokročilých cervikálních karcinomů s prokázaným radiopotentiačním efektem. V naší studii jsme sledovali léčebný efekt a projevy toxicity obou preparátů podávaných týdně společně s radioterapií. **Metodika:** Od října 1999 do června 2003 bylo šedesát pacientek s lokálně pokročilým cervikálním karcinomem stadia IIB-IIIb léčeno radioterapií a konkomitantní chemoterapií. Paclitaxel v dávce 50 mg/m² ve skupině I 30 pacientek a cisplatina 40 mg/m² ve skupině II 30 pacientek byly aplikovány jedenkrát týdně. Chemoterapie pokračovala v průběhu celé léčby radioterapií (kombinovaná zevní a intrakavitární radioterapie). **Výsledky:** Nebyly zjištěny signifikantní rozdíly mezi skupinou I a II v hodnotách DFI (P=0,66) a OS (P=0,60). Median follow up byl 18 měsíců versus 12 měsíců, CR bylo 90% versus 80% ve skupině I versus II. Byly zjištěny statisticky signifikantní rozdíly u leukopenie gr. 2 or 3 (P=0,038), GIT toxicity (P<0,001) a urologické toxicity (P=0,035). Alopecie a hypersenzitivní reakce se vyskytly pouze ve skupině I. Toxicita byla střední a nevyskytly se žádné život ohrožující komplikace. Nebyly zjištěny signifikantní rozdíly v DFI mezi různými histologickými podtypy. **Závěr:** V naší studii jsme potvrdili vysokou efektivitu obou radiosenzibilizátorů bez signifikantních rozdílů DFI a OS. Chemoterapie byla dobře tolerována, toxicita byla mírná.

Klíčová slova: karcinom děložního čípku, radioterapie, chemoterapie, konkomitantní chemoradioterapie

Summary: Purpose: Paclitaxel and cisplatin are active in treatment of advanced cervical cancer and both potentiate the effects of radiotherapy. In our study we evaluated the therapeutical effect and toxicity of these radiosensitizers administered weekly in concomitance with standard radiotherapy. **Methods:** Between October 1999 and June 2003, sixty patients with locoregionally advanced cervical cancer stage IIB-IIIb were treated with radiotherapy and concomitant chemotherapy. Paclitaxel at 50 mg/m² in group I (30 patients) versus cisplatin at 40 mg/m² in group II (30 patients) were administered once a week. The chemotherapy continued until irradiation (conventional external and intracavitary) completion. **Results:** There were no significant differences between group I and II in DFI (P=0,66) and OS (P=0,60). Median follow up was 18 months versus 12 months, CR 90% versus 80% in group I and II, respectively. Leukopenia gr. 2 or 3 (P=0,038), GIT toxicity (P<0,001) and urological toxicity (P=0,035) were detected. Alopecia and hypersensitivity were detected only in group I. Toxicities were mild with no treatment related deaths. No significant differences in DFI were detected between various histological types. **Conclusions:** Our study demonstrated high efficacy of both radiosensitizers with no significant differences in DFI and OS between paclitaxel and cisplatin. Chemotherapy was well tolerated and toxicities were mild.

Key words: cervical cancer, radiotherapy, chemotherapy, concomitant chemoradiotherapy

ÚVOD

Zhoubné nádory čípku děložního představují celosvětově jednu z nejčastějších malignit u žen. Postihují převážně ženy ve věku 35 – 50 roků a představují tak dlouhodobě závažný medicínský a společenský problém. Značnou část zjištěných případů tvoří pokročilá stadia onemocnění. Pětileté přežití klesá z 80-90 % u stadia Ib na 50-60 % u stadia IIb a dále na 33,7 % u stadia IIIb. U stadia IVa se pětileté přežití pohybuje kolem 17 % a u stadia IVb 9,4 %.¹

Základní léčebnou metodou pokročilých forem onemocnění zůstává kombinovaná aktinoterapie. Léčebné výsledky však jsou v těchto případech i přes dosažené pokroky v oblasti radioterapie neuspokojivé. Snaha o jejich zlepšení vedla k začlenění chemoterapie do léčby a to formou adjuvantní, neoadjuvantní a konkomitantní aplikace. Poslední jmenovaný způsob se prokázal jako nejefektivnější. Randomizované studie zabývající se touto problematikou potvrdily lepší léčebné výsledky konkomitantní chemoradioterapie CHRT v porovnání s radioterapií samostatnou. Vhodným výběrem cytostatik s prokázaným radiosenzibilizačním efektem, podaných ve zvoleném

časovém intervalu před ozářením v průběhu nebo po skončení ozáření, se zvyšuje radiosenzitivita nádorových buněk a tím efekt radiační léčby. Prozatím nebyla dána jednoznačná doporučení týkající se standardního schématu chemoterapie. Aplikace cisplatin v dávce 40mg/m² 1x týdně v průběhu radioterapie je v současné době považována za nejefektivnější v konkomitanci s radioterapií, podobný efekt byl prokázán i u karboplatiny. Dalším cytostatikem s prokázaným efektem v kombinaci se zářením u řady solidních nádorů je paclitaxel. Provedené studie fáze II uvádějí dobrou toleranci paclitaxelu v dávce 40-50mg/m² ve 3hodinové nověji 1hodinové infuzi 1x týdně v průběhu radiační léčby. Hodnocení léčebných odpovědí až 93% se jeví jako velmi slibné.

Předkládaná práce se zabývá tímto aktuálním tématem, ve snaze získat klinické zkušenosti u pokročilých spinocelulárních karcinomů děložního čípku za použití různých radiosenzibilizátorů.

CÍL PRÁCE

Cílem prezentované studie je porovnání léčebného efektu a toxicity u souboru pacientek s pokročilým cervikálním kar-

cinomem, léčených v MOU a FP Brno konkomitantní CHRT za použití dvou cytostatik s odlišným radiosenzibilizačním efektem.

MATERIÁL A METODIKA

Charakteristika souboru

Do studie byly zařazeny pacientky s pokročilým karcinomem čípku děložního, diagnostikovaným v období IX.1999 až IV.2003. Léčba probíhala v uvedeném období v MOU a ve FP Obilní trh Brno, za užití stejných kritérií výběru při jednotném léčebném postupu.

- Vstupní kritéria: věk do 70 let, PS 0, normální laboratorní hodnoty, histologický typ ca spinocelulare, klinické stadium IIb - IIIb, exofyticky rostoucí objemný tumor (Tabulka 1).

- Vylučující kritéria: závažná interní interkurence hypertense, kardiální, renální nebo hepatální postižení, aktivní infekční onemocnění, alergie v anamnéze riziko hypersensitivity, duplicitní tumor.

Tab. č. 1: Histopatologická charakteristika souboru.

Histol. Ca spinocelulare	TAX+RT (n=30)	cDDP+RT (n=30)	CHT+RT (n=60)
Rohovějící typ R G1	2	1	3 (5,00%)
G2	2	3	5 (8,33%)
Nerohovějící typ N G2	7	7	14 (23,33%)
G3	18	20	38 (63,33%)

Léčebný postup

Soubor byl tvořen 60 pacientkami, věkový průměr 48 let, rozmezí 22-68 let, randomizovány metodou náhodného výběru do podskupin s využitím rozdílných radiosensibilizátorů.

Skupina I: paclitaxel (TAX) + radioterapie (RT): 30 hodnocených pacientek, TAX 50mg/m² infuze 1x týdně po dobu RT, den 1,8,15,22,29,36.

Skupina II: cisplatina (cDDP) + RT: 30 hodnocených pacientek, cDDP 40mg/m² infuze 1 x týdně po dobu RT den 1,8,15,22,29,36.

Užité schéma radioterapie X.1999 – XII.2001

Zevní radioterapie: lineární urychlovač o energii 18 MeV
Aplikovaná dávka: 32 Gy technikou čtyř konvergentních polí BOX technika + 16 Gy ze 2 protilehlých polí s centrálním vykrytím. Výška ozařovaného pole Th12, při postižení lymfatického systému L3-4

Brachyterapie: 2., 3., a 4. týden uterovaginální afterloading s nízkým dávkovým příkonem

BRT-LDR, zdroj záření cesium 137, dávka do bodu A byla 20, 20 a 16 Gy.

Užité schéma radioterapie I.2002 – IV.2003

Zevní radioterapie: lineární urychlovač o energii 18 MeV.
Aplikovaná dávka: 45 Gy technikou čtyř konvergentních polí BOX technika + 4-6 Gy ze 2 protilehlých polí s centrálním vykrytím. Výška pole stejná jako v předchozím schématu.

Brachyterapie: 2., 3., 4., 5. a 6. týden uterovaginální afterloading s vysokým dávkovým příkonem BRT-HDR, zdroj záření iridium 192, dávka do bodu A byla 5x5,5 Gy.

Léčba konkomitantní radiochemoterapií byla preferována u mladších pacientek bez interkurentních chorob za přítomnosti rizikových faktorů angioinvasze, objemné a rychle rostoucí níže diferencované nádory stadia IIB a IIIB. Podmínkou zařazení do studie byl informovaný souhlas pacientky o způsobu léčby a jejich rizicích s možností ukončení dle vlastního rozhodnutí.

Metody klinického sledování

Před zahájením léčby: komplexní onkogynkologické vyšetření k určení stupně pokročilosti choroby, histologická verifikace procesu, provedení stagingových vyšetření RTG srdce a plic, IVU nebo RIN, CT nebo NMR, laboratorní vyšetření včetně TM.

V průběhu léčby: 1x týdně prováděna kontrola laboratorních hodnot před aplikací chemoterapie, denně prováděno klinické hodnocení výskytu jednotlivých projevů toxicity.

Po ukončení léčby: kontrolní onkogynkologické vyšetření, klinické zhodnocení projevů toxicity, laboratorní vyšetření. Do šesti měsíců provedení kontrolního CT nebo NMR ke zhodnocení léčebné odpovědi. Intervaly kontrolních vyšetření do 1 roku po 3 měsících, do 5 roků po 6 měsících.

Provedená vyšetření při každé kontrole: onkogynkologické vyšetření, klinické hodnocení toxicity a laboratorní vyšetření. RTG plic, RIN, CT 1x za rok, další vyšetření dle klinického stavu.

Hodnocené parametry studie:

- Léčebné odpovědi od ukončení terapie:** bezpříznakové období - DFI, doba celkového přežití - OS, hodnocení léčebného efektu - CR, PR, P. Přežití pacientek z jednotlivých skupin bylo hodnoceno Kaplan-Meierovou metodou, k posouzení rozdílů byl použit log-rank test.
- Akutní a pozdní toxicita** mezi skupinami I a II. Samostatně provedena analýza vlivu stupňů toxicity u jednotlivých NU na přežití pacientek. Rozdíly v toxicitě léčby byly hodnoceny Fisherovým testem přesných pravděpodobností.
- Zhodnocení významu histologického subtypu na přežití** v celém souboru léčených pacientek.

VÝSLEDKY:

1. Léčebná odpověď ve skupinách I a II

Graficky jsou znázorněny rozdíly v délce DFI a délce absolutního přežití bez zohlednění příčin úmrtí - Graf 1, 2 a Tabulka 2. Přerušované je znázorněno DFI ve skupině I, tedy ve skupině s aplikovaným paclitaxelem, plnou čarou DFI ve skupině II s cisplatinou.

Tabulka č. 2: Léčebná odpověď v %.

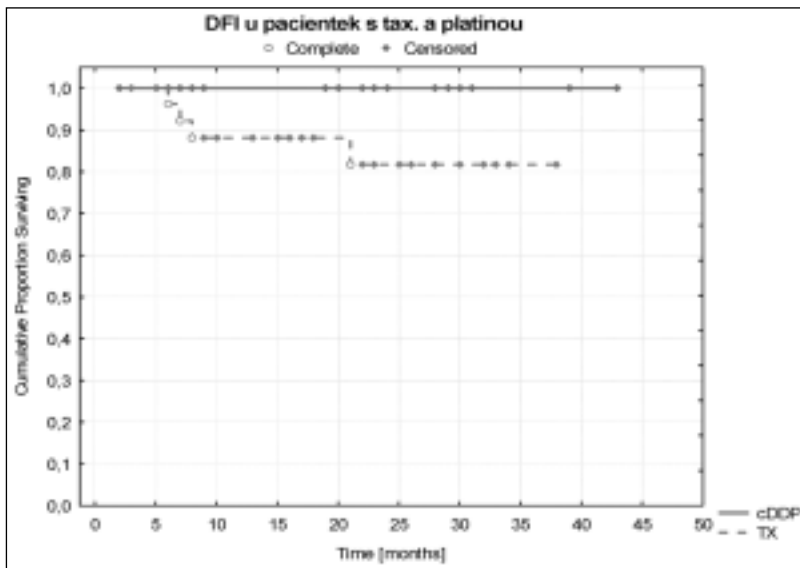
Léčebná odpověď	TAX+RT (n=30)	cDDP+RT (n=30)
CR	90,0% 27	80,0% 24
PR	6,6% 2	13,3% 4
PD	3,3% 1	6,6% 2

Hodnocení

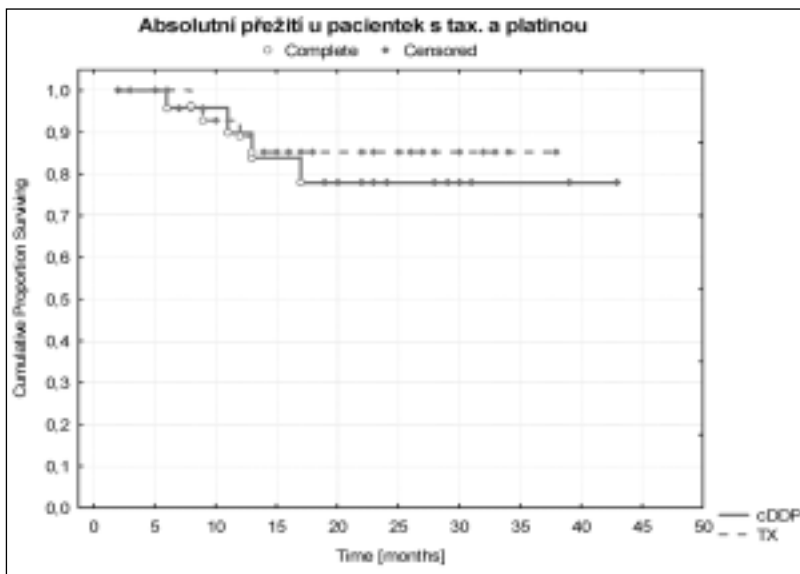
DFI a OS u randomizované skupiny chemoradioterapie - skupina I versus II

- Funkce přežívání byla spočítána Kaplan-Meierovou metodou, rozdíly mezi skupinami byly testovány log-rank testem. Při hodnocení DFI a OS se nepodařilo prokázat statisticky významný rozdíl mezi skupinami pacientek s paclitaxelem a cisplatinou pro DFI je P=0.66, pro absolutní přežití je P=0.60. Výsledek však může být ovlivněn malým počtem osob v souborech a poměrně krátkou dobou sledování medián doby sledování byl u pacientek s paclitaxelem 18 měsíců, u pacientek s platinou 12 měsíců
- V souboru s paclitaxelem dosáhlo kompletní remise 27 pacientek (90%), u pacientek léčených platinou bylo kompletní remise dosaženo ve 24 případech (80%). Fisherovým testem se nepodařilo zjistit statisticky významný rozdíl mezi těmito poměry.
- Do konce sledovaného období zemřel v obou souborech stejný počet pacientek - 4 (13,33%). Ve skupině TX+RT žily s tumorem 3 pacientky (10%), ve skupině cDDP+RT žila s tumorem 1 pacientka (3,3%).

Graf 1: Období bez příznaků choroby v měsících od ukončení léčby. skupina I (paclitaxel -TX) versus II (cisplatina-cDDP).



Graf 2: Absolutní přežití v měsících od ukončení léčby.



2. Akutní a pozdní toxicita dle kritérií WHO

Rozdíly ve výskytu jednotlivých toxických projevů použita kritéria WHO

Tabulka č. 3: Hodnocená toxicita skupina I versus II.

Reakce		TAX+RT N=30 %	cDDP+RT N=30 %	p
Alopecie		70,0	0,0	< 0,001
Anemie	st.3	50,0	60,0	0,604
Leukopenie	st. 2,3	36,7	66,7	0,038
Thrombocytopenie	st.2	6,7	23,3	0,145
GIT A	Naus+vom	10,0	63,3	< 0,001
	Diarrhea	43,3	56,7	0,439
GIT CH		10,0	26,7	0,181
Hypersens.r.		36,7	0,0	< 0,001
Kožní reakce		36,7	26,7	0,580
Sensor. neuropathia		13,3	20,0	0,730
Urol. A		26,7	56,7	0,035
Urol. CH		20,0	13,3	0,731

U pacientek s podaným paclitaxelem byl prokázán statisticky významně vyšší podíl případů alopecie a hypersenzitivních reakcí, které se nevyskytly ve skupině s cisplatinou.

U pacientek s cisplatinou se na rozdíl od skupiny s paclitaxelem častěji vyskytovala leukopenie st. 2 a 3, nevolnost a akutní urologické potíže. U ostatních nežádoucích účinků NU nebyly mezi oběma skupinami pozorovány statisticky významné rozdíly.

Ve sledované skupině I byla dále provedena **analýza vlivu stupňů toxicity u jednotlivých NU na přežití pacientek**. Zvláštní pozornost byla věnována především toxicitě hematologické.

Termín nižší hodnota hemoglobinu HB byl použit pro hodnoty odpovídající toxicitě st. 2 a 3 dle kritérií WHO – značeno plnou čarou. Přerušované jsou znázorněny výsledky skupiny pacientek bez projevů anémie - Graf 3.

Hodnocení

Akutní a pozdní toxicita ve skupinách I a II

- U pacientek s aplikovaným paclitaxelem byl prokázán statisticky významně vyšší podíl případů alopecie ($P < 0,001$) a hypersenzitivních reakcí ($P < 0,001$).
- U pacientek s cisplatinou se častěji vyskytovala leukopenie st. 2 a 3 ($P = 0,038$), nevolnost ($P < 0,001$) a akutní urologické potíže ($P = 0,035$).
- U ostatních sledovaných reakcí se statisticky významné rozdíly mezi oběma podskupinami nepodařilo zjistit.
- Žádný z NU nebyl důvodem k přerušení terapie.
- Nevyskytla se žádná život ohrožující komplikace.

Analýza vlivu stupňů toxicity na přežití pacientek

- U žádného ze sledovaných typů toxických reakcí nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl v délce přežití mezi uvedenými skupinami.
- Hodnoty P u některých ukazatelů byly poměrně malé, např. u přežití podle hodnot HB, kde $P = 0,09$ (log-rank test). Lze se tedy domnívat, že při větším počtu pacientek a delší době sledování by testované rozdíly mezi skupinami již byly statisticky významné.

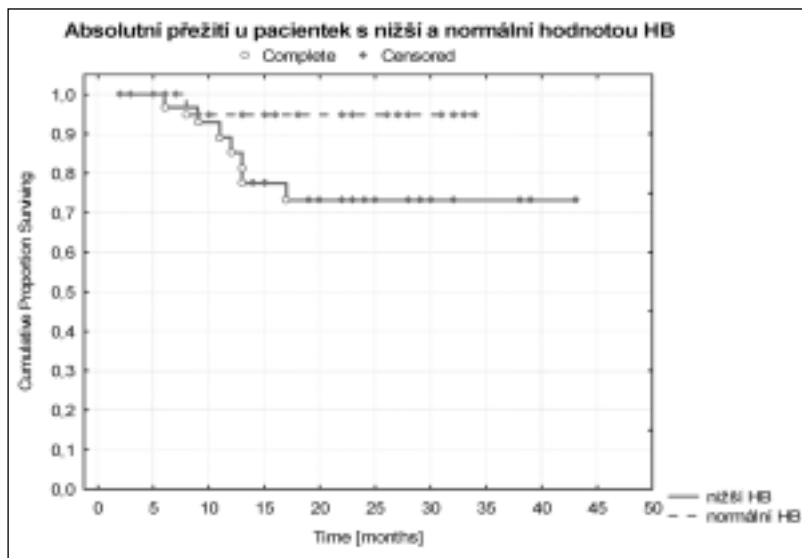
3. Význam histologického subtypu nádorového procesu na přežití

Jedním z uváděných rizikových faktorů uplatňujících se ve výsledném léčebném efektu je i histologický typ a stupeň diferenciacie nádorů. V našem souboru převažoval nerohovatějším typ 52/60 s větším zastoupením níže diferencovaných nádorů 38/60 - Graf 4.

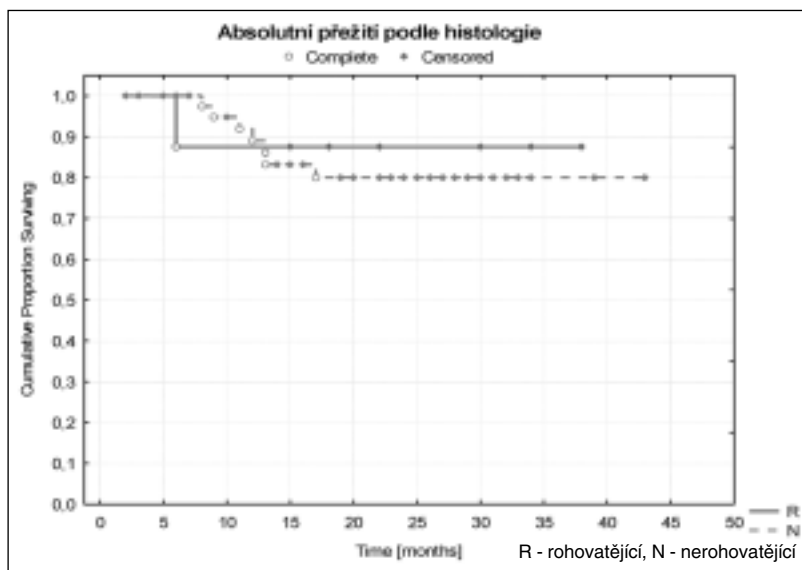
Hodnocení

- Log-rank test neprokázal rozdílnou délku přežití u pacientek s rohovatějším R a nerohovatějším typem N spinocelulárního karcinomu ($P = 0,706$). V našem souboru se tedy význam histologického subtypu na léčebném výsledku neprojevil.

Graf č. 3: Absolutní přežití u pacientek s normální a nižší hodnotou hemoglobinu.



Graf č. 4: Absolutní přežití pacientek v závislosti na histologickém subtypu spinocelulárního karcinomu děložního čípku.



SOUHRN:

1. Hodnocení DFI a OS

- Při hodnocení DFI a OS se nepodařilo prokázat statisticky významný rozdíl mezi skupinami pacientek léčených paclitaxelem (skupina I) a cisplatinou (skupina II). Pro DFI je $P=0.66$, pro absolutní přežití $P=0.60$. Procento CR bylo ve skupině s TAX 90% a ve skupině s cDDP 80%. Rozdíl mezi těmito poměry není statisticky významný.
- Výsledek může být ovlivněn malým počtem osob v souborech a poměrně krátkou dobou sledování medián doby sledování byl u pacientek s paclitaxelem 18 měsíců, u pacientek s platinou 12 měsíců.

2. Hodnocení akutní a pozdní toxicity, vliv stupňů toxicity na přežití

- Mezi skupinou I a II byl zjištěn signifikantní rozdíl sledované toxicity u leukopenie st.2 a 3 ($P=0,038$), u akutní gastrointestinální toxicity ($P<0,001$) a u akutní urologické toxicity ($P=0,035$). Vyšší výskyt uvedené toxicity byl pozorován ve skupině s cDDP. Alopecie a hypersenzitivní reakce se vyskytly pouze ve skupině s TAX.

- U žádného ze sledovaných stupňů toxických reakcí nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl v délce DFI nebo OS. V některých případech však byly hodnoty hraniční, a lze se tedy domnívat, že při větším počtu pacientek a delší době sledování by testované rozdíly již byly statisticky významné (např. hodnoty HB).
- V žádné skupině léčených pacientek nebyly pozorovány závažné ani život ohrožující komplikace v průběhu léčby, které by vznikly následkem léčebné strategie. U žádné pacientky nebyla toxicita důvodem k přerušení léčby.

3. Význam histologického subtypu na přežití v celém souboru pacientek (skupina I+II).

- Nepodařilo se prokázat rozdílnou délku přežití u pacientek s rohovatejším a nerohovatejším typem spinocelulárního karcinomu děložního čípku ($P=0,706$). Výsledky však mohou být ovlivněny malým počtem pacientek ve sledovaném souboru.

DISKUZE

Vývoj konkomitantní CHRT a výběr vhodných preparátů k léčbě pokročilých cervikálních karcinomů prošel poměrně dlouhým obdobím. Prvním cytostatikem podávaným za účelem zesílení radiační léčby byla hydroxyurea. Studie provedené v letech 1983-1988 potvrdily zlepšení léčebných výsledků v porovnání se samostatnou radioterapií, limitujícím faktorem se však v dané době stala myelosuprese. Dalšími studovanými cytostatiky v monoterapii se stal 5-fluorouracil a mitomycin C a cisplatinou. Ta byla užívána samostatně nebo v kombinaci s etoposidem, 5-FU, mitomycinem C a bleomycinem. Četné studie potvrdily vyšší a rychlejší odpověď na léčbu a zlepšení lokální kontroly u pokročilých nádorových procesů v porovnání se samostatnou radioterapií. Procento udávaných léčebných odpovědí v jednotlivých studiích se pohybovalo od 70-100%, z toho kompletních odpovědí 60-88%. Současně byla potvrzena lokální kontrola onemocnění v 55-86% bez ovlivnění výskytu vzdálených metastáz.^{2,3,4}

Konsensus NCI z roku 1999 shrnující výsledky pěti velkých randomizovaných studií fáze III provedených v letech 1986 až 1997 potvrdil benefit chemoterapie s cis DDP u pokročilých forem cervikálních karcinomů v kombinaci s radioterapií. DFI bylo signifikantně delší u skupin s aplikovanou cisplatinou. Ve sledovaných skupinách bylo uvedeno snížení úmrtnosti o 30-50%. Kombinace dvou a více cytostatik se neprokázala jako efektivnější, bylo pozorováno zvýšení toxicity. Nejnovější práce z let 2000-2003 potvrdily předchozí zkušenosti ale nepřinesly žádné nově zásadnější poznatky.⁵

Z nových cytostatik se koncem minulého století dostal do popředí zájmu paclitaxel extrahovaný v roce 1971 z kůry stromu *Taxus brevifolia*. Mechanismy vedoucí k radiosensibilizačnímu efektu tohoto cytostatika jsou značně složité a některé dosud nejsou zcela objasněny. Velký význam se přikládá synchronizaci buněčného cyklu, schopnosti indukce apoptózy a s tím související reoxygenaci nádorových buněk. Paclitaxel navozuje synchronizaci nádorových buněk do G2/M fáze, v níž je prokazatelně vyšší citlivost k radioterapii. Tento stav je závislý na koncentraci preparátu a délce expozice buněk.

Nízké kontinuální hladiny navozují indukci apoptózy trvající dle údajů dva dny. Radioterapie provedená v intervalu devět až dvacet čtyři hodin po expozici vyvolává signifikantní zvýšení radiačně indukované apoptózy. Odstraněním odumřelých buněk je dosaženo reoxygenace nádoru a tím zvýšení citlivosti k ozáření. S těmito mechanismy dále souvisí inhibice neoangiogeneze nádorových ložisek. Kromě těchto mechanismů je zvažována celá řada dalších významných faktorů. V experimentu to jsou biologické odlišnosti buněčných linií, koncentrace a trvání expozice paclitaxelu, technické faktory související s laboratorními podmínkami atd. V klinických podmínkách se mohou uplatňovat i vlivy individuální ze strany pacientky i nádorového procesu.^{6,7}

Výsledky preklinických studií prováděné na buněčných liniích různých typů nádorů např. nemalobuněčný karcinom plic, ovariální karcinomy, nádory hlavy a krku atd., prokázaly v některých případech aditivní až synergní efekt cytostatika se zářením. Výsledky na buněčných koloniích cervikálního karcinomu byly hodnoceny opatrněji, uváděn je maximálně aditivní efekt preparátu.^{8,9}

Efekt podání paclitaxelu v konkomitantní chemoradioterapii v různých schématech byl ověřen ve studiích fáze III u nádorů hlavy a krku a nemalobuněčných nádorů plic. V těchto indikacích se stal součástí standardních léčebných protokolů. Dobré zkušenosti podnítily autory k začlenění preparátu i do studií se spinocelulárním karcinomem děložního čípku. Jeho efektivitu v léčbě pokročilých a recidivujících forem karcinomů potvrdily GOG studie fáze II protokol 127, 128 a 76-S. Na jejím základě byl paclitaxel doporučen ke klinickému užití v případech pokročilých a recidivujících procesů v monoterapii nebo v kombinaci s platinovými deriváty a dále v kombinaci s radioterapií. Uváděná efektivita v monoterapii je 18%.^{10,11}

Počty klinických prací hodnotících efektivitu paclitaxelu v konkomitanci s radioterapií u nádorů děložního čípku jsou na rozdíl od ostatních nádorových lokalit poměrně malé. Bylo publikováno několik studií fáze I a II s malými počty pacientek, zjišťujících radiosenzibilizační efekt paclitaxelu v monoterapii nebo v kombinaci s platinovými deriváty v různých léčebných schématech. Za vhodnou z hlediska toxicity a efek-

tivity byla určena dávka 50mg/m², aplikovaná v průběhu radioterapie 1x týdně (De Paolo a kol. 1998).¹² Další dvě studie fáze I z roku 1997 a 2000 hodnotily toleranci paclitaxelu ve vzestupných dávkách v kombinaci s cisplatinou. Obě práce uvádějí jako maximální tolerovanou dávku MTD paclitaxelu v tomto režimu 50 mg/m² týdně. V obou studiích bylo dosaženo vysokých léčebných odpovědí 93 a 92%.^{13,14} Italská studie fáze II. autorů Loredana a kol.,¹⁵ jejíž výsledky byly zveřejněny na ASCO 2003 sledovala léčebné výsledky a toxicitu u skupiny 10 pacientek stadia IIB – IVA. Paclitaxel v dávce 175mg/m² a cisplatinu 75mg/m² aplikované 1x za 21 dní současně s kombinovanou RT. Bylo dosaženo 100% RR a v průběhu 6 měsíčního sledování nebyla zjištěna žádná recidiva. Do současné doby neproběhla žádná zásadní studie, která by přinesla jednoznačné závěry k postavení paclitaxelu v konkomitantní chemoradioterapii cervikálních karcinomů.

ZÁVĚR

Na souboru pacientek s pokročilým spinocelulárním karcinomem děložního čípku, léčených v MOU a ve FP Brno v letech 1999 až 2003, jsme ověřili dobrou toleranci a efektivitu uvedených léčebných metod. Provedli jsme srovnání sledovaných parametrů dvou nejčastěji studovaných a diskutovaných cytostatik s prokázaným radiosenzibilizačním efektem, cisplatinu a paclitaxelu.

Léčba konkomitantní radiochemoterapií je vhodnou léčebnou metodou především u pokročilých forem karcinomů děložního čípku u pacientek bez závažných interkurentních chorob. Obě cytostatika se prokázala jako vysoce efektivní, tolerance léčby byla dobrá a její průběh nebyl komplikován žádnou limitující toxicitou. Možnost výběru ze dvou efektivních radiosenzibilizátorů znamená rozšíření léčebných možností s využitím odlišného profilu toxicity obou cytostatik. Naše zkušenost je tedy dalším krokem umožňujícím optimalizaci a individualizaci léčebné strategie.

Získané výsledky odpovídají zahraňičním zkušenostem, prozatím však nebyla publikována žádná studie zabývající se námi sledovanou problematikou. Vzhledem k malému počtu pacientek a krátkému časovému intervalu sledování je nutné další ověření získaných výsledků.

Literatura

1. Benedeti J. L., Pecorelli S.: FIGO Special Report on Gynecologic Oncologic Cancer 2000, Official publication of FIGO 311.
2. Eifel P. J., Rose P. G. et al.: Chemotherapy and Radiation Therapy for Cervical Cancer. Education Book, ASCO 2000: 54-62
3. Petera J.: Přehled kombinované chemo-radioterapie v léčbě karcinomu čípku děložního. Klinická onkologie 1998, 11(3): 67-72
4. Kim R. Y., Alvarez R. D.: Recent Developments in Chemoradiotherapy for Locally Advanced Cancer of the Cervix. Oncology 2000,14(9): 1327-1338
5. Clinical Announcement (Draft 2/1/99) National Cancer Institute: Concurrent Chemoradiation for Cervical Cancer February, 1999 Cancer Trials NCI. <http://cancertrials...rvcan/clinann.html>
6. Tishler R. B., Schiff P., Geard CH R et al.: Taxol: A novel Radiation Sensitizer. Int. J. Radiation Oncology. Biology. Physics. 1992, 22: 613-617
7. Minarik L., Hall E. J.: Taxol in Combination with Acute and Lose Rate Irradiation. Radiotherapy and Oncology 1994, 32: 124-128
8. Erlich F., McCall A. R., Potkul R. K. et al.: Paclitaxel is Only a Weak Radiosensitizer of Human Cervical Carcinoma Cell Lines. Gynecol. Oncol. 1996, 60(2): 251-254
9. Formenti S. C., Danenberg P. V.: Paclitaxel-Induced Radiosetization: Myrth or Realty? Advances in Oncology 1999,15(1): 25-29
10. Thipgen T., Vance R., Khansur T. et al.: The Role of Paclitaxel in the Management of Patients with Carcinoma of the Cervix. Seminars in Oncology 1997, 24, Suppl. 2: 41-46
11. Glantz M. J., Choy H., Akerley W. et al.: Weekly Paclitaxel with and without Concurrent Radiation Therapy: Toxicity, Pharmacokinetics and Response. Seminars in Radiation Oncology 1997, 7(2), Suppl. 1 (April): 25-33
12. De Paolo G., Cerrota A., Gardami G. et al.: Concurrent Radiotherapy and Taxol as Radiosensitizer in Locally Advanced or Recurrent Carcinoma of the Uterine Cervix. A Pilot Study. Books of Abstracts ASCO 1998, 17: NO 1404
13. Chen D. M., Paley P., Potish R. A. et al.: Phase I Trial of Taxol as Radiation Sensitizer with Cisplatin in Advanced Cervical Cancer. Gynecologic Oncology 1997, 67: 131-136
14. Pignata S., Frezza P., Tramontana S. et al.: Phase I with Weekly Cisplatin – Paclitaxel and Concurrent Radiotherapy in Patients with Carcinoma of the Cervix Uteri Annals of Oncology II, 2000: 455-459
15. Loredana M., Milena B., Paola F. et al.: Concomitant Chemoradiotherapy with Cisplatin and Taxol in Advanced Squamous Cell Carcinoma (ASCC) of the Cervix Uteri Book of Abstracts ASCO 22, 2003: No 1914

ÚSPĚŠNÁ LÉČBA HISTOLOGICKY OVĚŘENÉHO ASPERGILOVÉHO ABSCESE MOZKU U DÍTĚTE S AKUTNÍ LYMFBLASTICKOU LEUKÉMIÍ A JATERNÍM SELHÁNÍM

SUCCESSFUL TREATMENT OF ASPERGILLUS BRAIN ABSCESS IN CHILD WITH ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA AND CONCOMITANT ACUTE LIVER FAILURE

ŠTĚRBA J.¹, PROCHÁZKA J.², VENTRUBA J.³, KŘEN L.⁴, DEMBICKÁ D.¹, ZAPLETAL O.⁵, BURGETOVÁ D.⁶, ZITTERBART K.¹, P. MUDRY¹

¹ KLINIKA DĚTSKÉ ONKOLOGIE FN BRNO A LF MU BRNO

² KLINIKA DĚTSKÉ RADIODIOLOGIE FN BRNO A LF MU BRNO

³ KLINIKA DĚTSKÉ CHIRURGIE, TRAUMATOLOGIE A ORTOPEDIE FN BRNO A LF MU BRNO

⁴ PATOLOGICKO ANATOMICKÝ ÚSTAV FN BRNO A LF MU BRNO

⁵ ODDĚLENÍ KLINICKÉ HEMATOLOGIE FN BRNO

⁶ ODDĚLENÍ KLINICKÉ MIKROBIOLOGIE FN BRNO

Souhrn: Mykotické infekce jsou relativně častou a velmi závažnou komplikací léčby u pacientů léčených s maligním nádorovým onemocněním. Jednou z nejobávanějších mykotických infekcí jsou aspergilové abscesy mozku, které jsou spojené s vysokou mortalitou. Na kazuistice šestnáctileté pacientky, léčené na naší klinice s akutní lymfoblastickou leukémií, dokumentujeme obtížnou diagnostiku a léčbu takovéto infekce při probíhající antineoplastické terapii. Indukční část chemoterapie u ní byla komplikována jaterním selháním a následným rozvojem febrilní neutropenie, během níž se rapidně změnilo chování pacientky, a provedená vyšetření prokázala aspergilový absces ve frontálních lalocích mozku. Absces se nám podařilo intenzivní kombinovanou antimykotickou terapií a neurochirurgickými zákroky zvládnout. Pacientka je při trvající první kompletní remisi leukemie bez známek mykotické infekce a již bez nutnosti antimykotické terapie. Zdůrazněna je široká mezioborová spolupráce při terapii mozkových abscesů, jsou diskutovány možnosti léčby mykotických infekcí.

Klíčová slova: mozkový absces, aspergilový absces, akutní leukémie, děti, jaterní selhání, antimykotická terapie

Summary: Fungal infections are increasingly observed during periods of prolonged neutropenia following intensive cancer therapy. Mycotic brain abscesses are among the most feared ones. Such infection carries very high mortality. The authors report a 16-year-old girl, who developed a histologically proven aspergillus brain abscess during induction treatment for acute lymphoblastic leukemia (ALL). Treatment course was complicated by liver failure during early induction as well. Details of the antifungal therapy are described here. Prolonged, combined, antifungal therapy with neurosurgical interventions successfully eradicated the lesion, while allowing continuation in the patient's antileukemic therapy. She remains in 1st complete remission of the ALL with no evidence of active mycotic infection, with no further antifungal treatment. We emphasize the need for a coordinated, multimodal diagnostic and therapeutic approach to treat such patients. Contemporary possibilities of antifungal treatment are discussed.

Key words: brain abscess, aspergillus abscess, acute leukemia, children, liver failure, antimycotic treatment

Úvod

Mykotické infekce jsou stále častější komplikací období hluboké myelosuprese po protinádorové chemoterapii, zejména u pacientů léčených opakovaně a dlouhodobě širokospektrými antibiotiky (10). Jednou z nejobávanějších mykotických infekcí jsou abscesy CNS způsobené vláknitými houbami (především *Aspergillus*), které, navzdory intenzivní terapii, jsou spojeny s velmi vysokou mortalitou (3, 14). Důkazem nespokojivého stavu je existence pouze několika kasuistik o úspěšné léčbě dětí se zhoubnými nádory, u kterých došlo k manifestaci aspergilové infekce CNS v průběhu indukce (15, 16). Situaci dále komplikuje fakt, že efektivní terapie mykotické infekce významně interferuje s aktivní antineoplastickou léčbou, a u řady pacientů, u nichž došlo k úspěšné eradikaci mykotické infekce, dojde dříve nebo později k relapsu základního onemocnění (1, 14).

V tomto sdělení popisujeme 16 letou pacientku s akutní lymfoblastickou leukémií a jaterním selháním, u které došlo v průběhu indukce remise k manifestaci mykotického abscesu CNS

a následně i k úspěšné eradikaci mykotické infekce prolongovanou kombinovanou sekvenční antimykotickou terapií a neurochirurgickým zákrokem.

Kazuistika

U asymptomatického dítěte bez anamnestické zátěže byla při vyšetřování u praktického lékaře pro děti a dorost (PLDD) z jiných příčin v posledních 4 letech dvakrát zachycena vyšší hodnota celkového bilirubinu (40 $\mu\text{mol/l}$) a hraniční hodnoty AST a ALT. Podrobnější vyšetření u asymptomatické pacientky nebyla provedena. 16 letá dívka studovala střední zdravotnickou školu a byla očkována proti hepatitidě B Engerixem B, 1. dávka 29.10.02. Týden po vakcinaci a tři týdny před přijetím do nemocnice byla vyšetřena PLDD pro váhový úbytek asi 3 kg, žízeň a zvýšenou diurézu. Diabetes mellitus nebyl laboratorně potvrzen. Za další 2 týdny se přidaly obtíže charakteru vertiga a pruritu a objevil se klinicky zjevný ikterus (87 $\mu\text{mol/l}$, konjugovaný 38 $\mu\text{mol/l}$, ALT 18,3 mkat/l). Pacientka byla odeslána k hospitalizaci na spádové dětské oddělení s podezřením

na hepatitidu. Tentýž den však byla ještě aplikována 2. dávka Engerixu B.

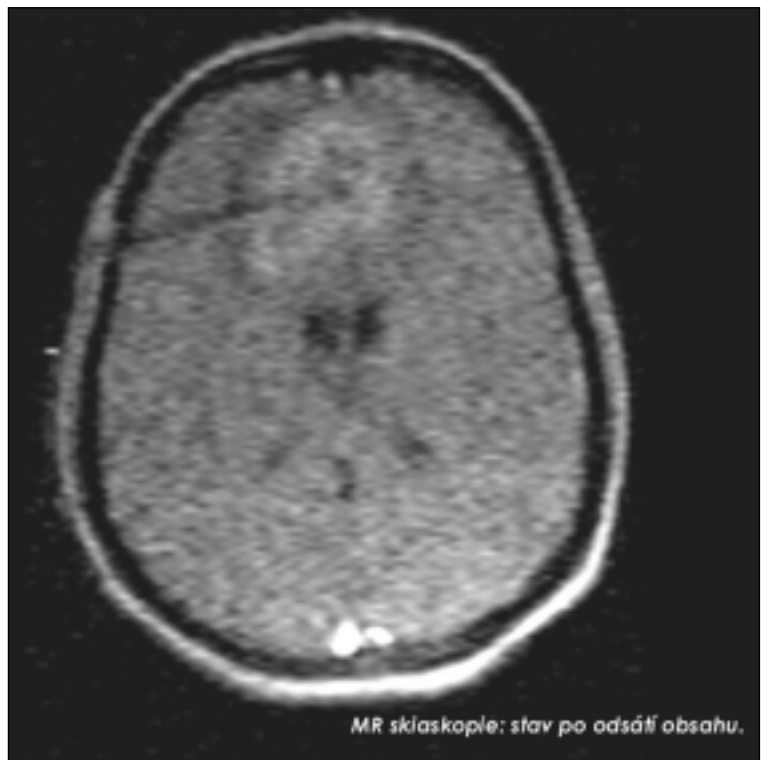
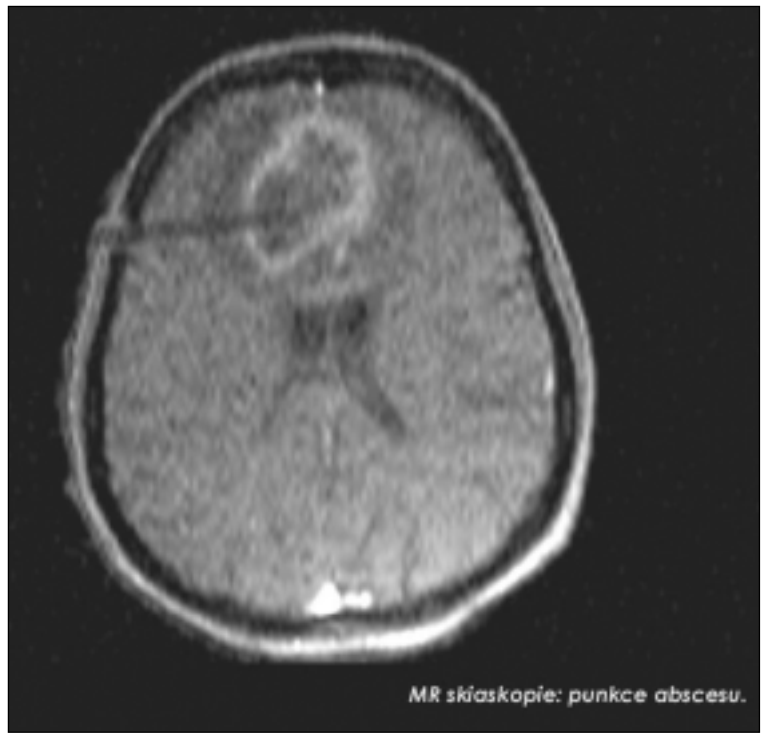
Hospitalizace na spádovém dětském oddělení byla ukončena po 5 dnech s diagnostickým závěrem: progredující ikterická jaterní léze nejasné etiologie, virové hepatitidy vyloučeny, výrazná pancytopenie v krevním obraze. Pacientka byla přeložena na Klinikou dětské onkologie (KDO) FN Brno.

Vstupní hodnoty laboratorních vyšetření byly následující: hemoglobin 76 g/l erytrocyty $2,73 \times 10^{12}/l$, hematokrit 0,22, leukocyty $1,1 \times 10^9/l$ trombocyty $50 \times 10^9/l$, v diferenciálním rozpočtu 3% blastických elementů, ionogram, glykémie, urea, kreatinin, kyselina močová v normě, bilirubin celkový 125 $\mu\text{mol}/l$, konjugovaný 100 $\mu\text{mol}/l$, ALT 16 $\mu\text{kat}/l$, AST 13,7 $\mu\text{kat}/l$, GMT 7,7 $\mu\text{kat}/l$, ALP 7,8 $\mu\text{kat}/l$, LDH 15,6 $\mu\text{kat}/l$, hemokoagulace norma, CRP 1 mg/l, FW 87/111 mm, moč chemicky i vyšetření močového sedimentu bylo negativní.

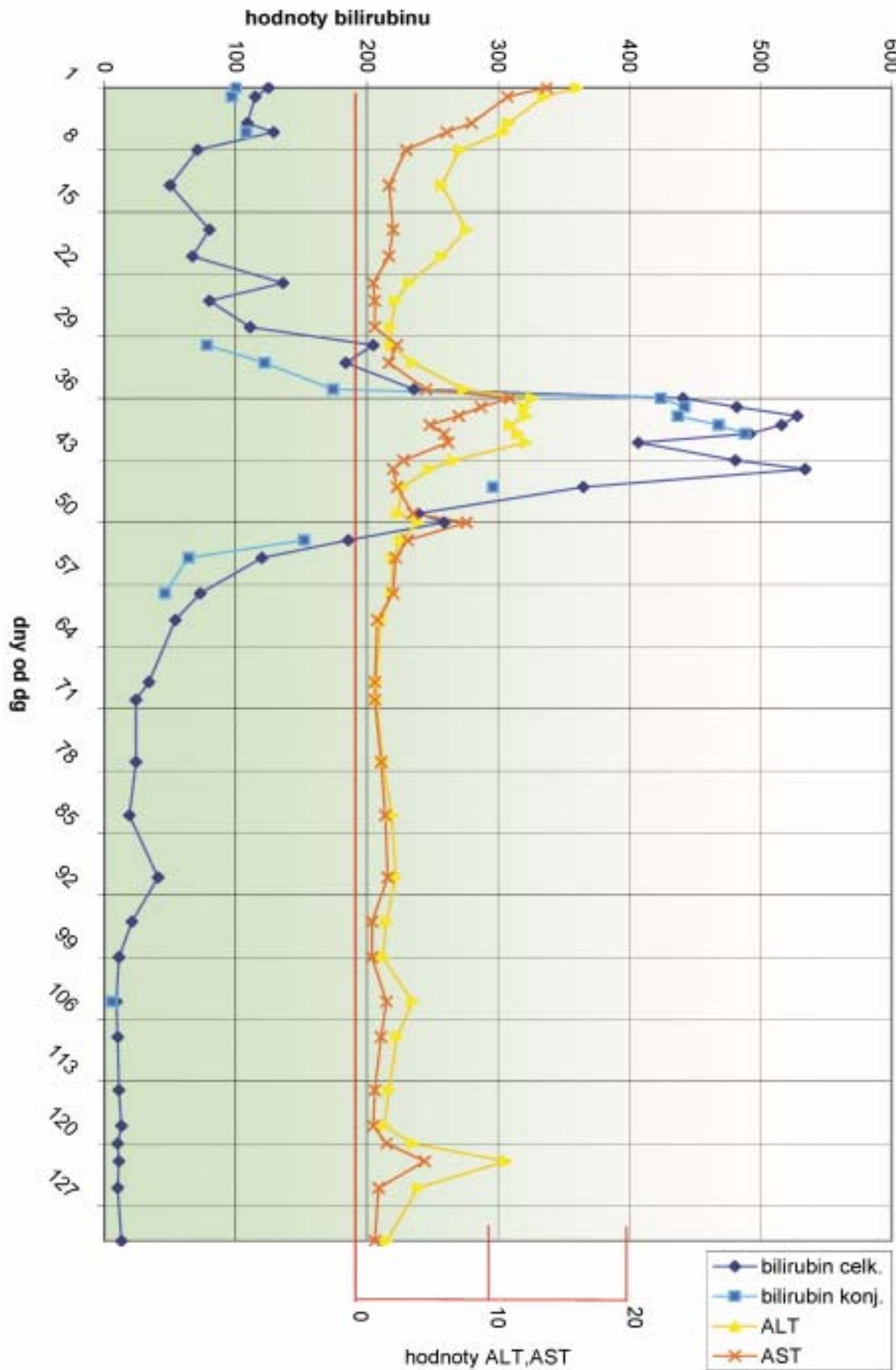
Aspirát kostní dřeně byl středně bohatý, infiltrován lymfoblasty (92%) morfologicky charakteru L1, flow cytometricky s hyperexpresí CD10 a aberantní expresí CD 66c na subpopulaci blastů (22%). Standardně vyšetřované fúzní geny (MLL AF4, BCR ABL a TEL AML 1) nebyly prokázány, cytogenetické vyšetření prokázalo komplexní změny karyotypu. Biochemické, cytologické i kultivační vyšetření mozkomíšního moku byla zcela v normě, stejně jako vstupní neurologické a oční vyšetření. Na vstupním ultrasonografickém vyšetření byla struktura jaterního parenchymu hodnocena jako normální, s normální echogenitou, mírná splenomegalie, s normální strukturou.

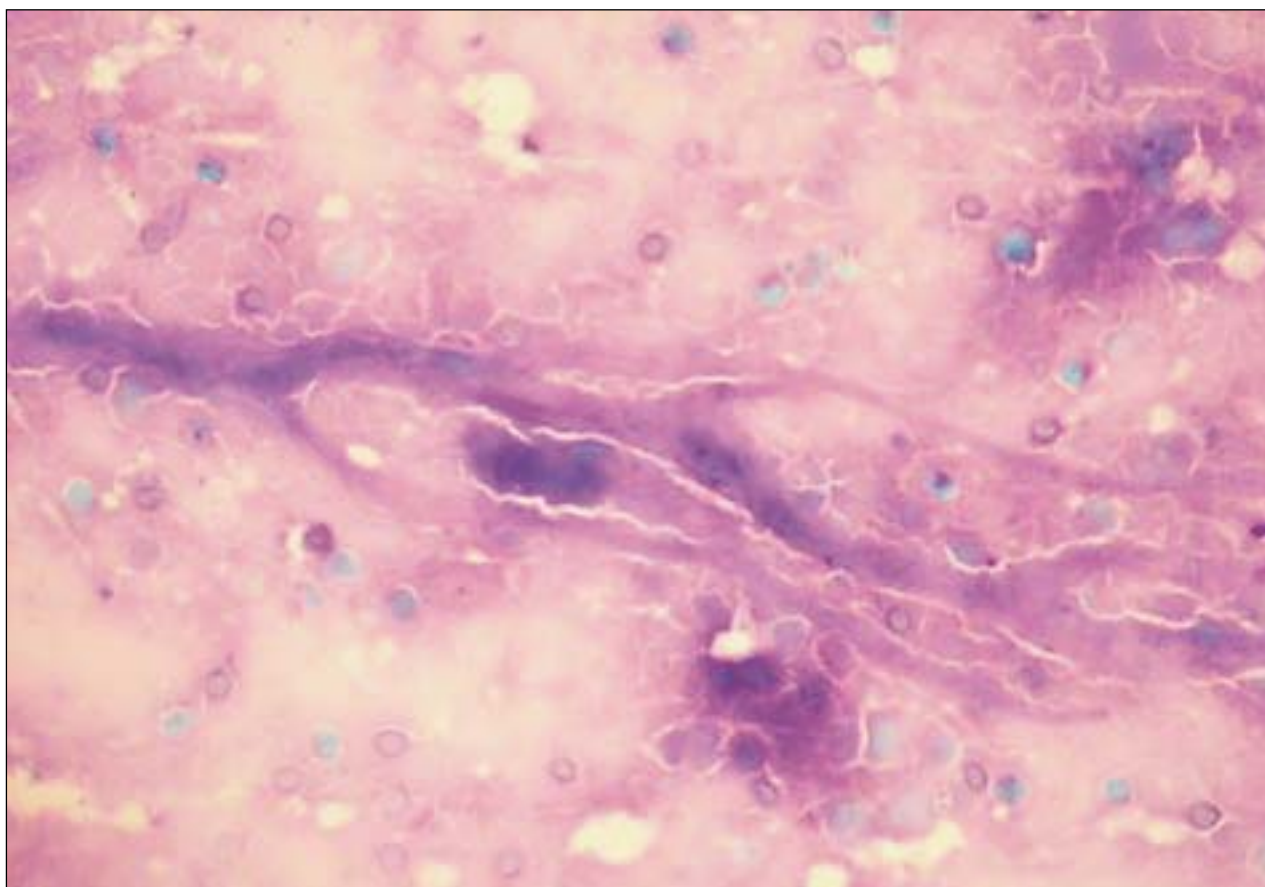
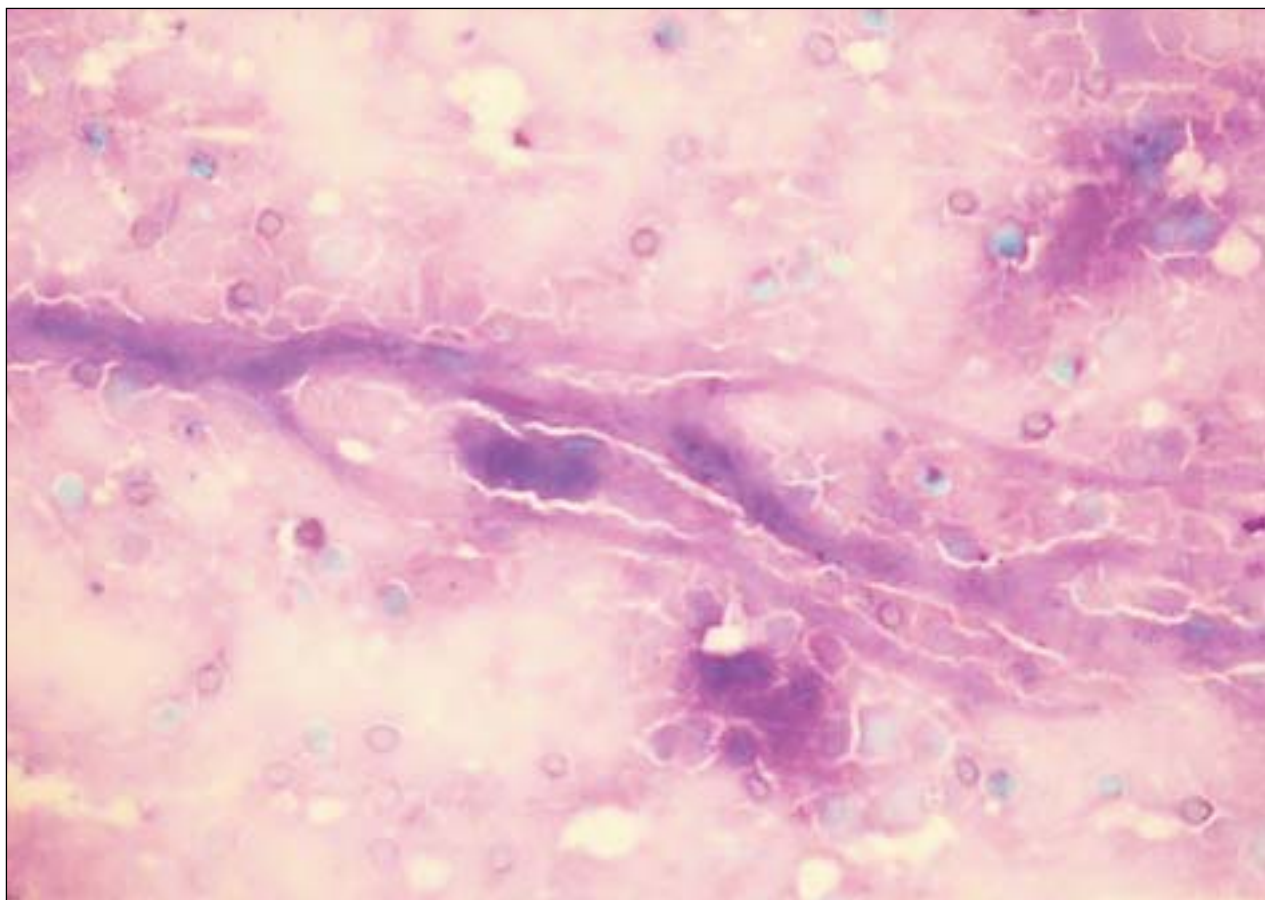
Byla stanovena diagnosa akutní lymfoblastické leukémie a 9.12.02 zahájena terapie dle protokolu ALL IC BFM 2002, střední riziko. Den 8 protokolu I ukazuje dobrou odpověď na kortikoidní předfázi (hodnocena jako „prednison good responder“). Postupně poklesly hodnoty transamináz i bilirubinu. Při kortikoterapii došlo k rozvoji steroidního diabetu, který byl upraven dietou a bolusy krátkodobě působícího insulínu. Kostní dřeň den 15 byla středně bohatá, s 2% blastů, splňovala tedy kriteria hematologické remise. Po dosažení hematologické remise jsme zahájili i podpůrnou terapii rekombinantním erythropoetinem beta (Neorecormon®). Celkový stav pacientky byl dobrý, proto byla propuštěna do ambulantní péče v den 16 protokolu I s hodnotami bilirubinu 67 $\mu\text{mol}/l$, ALT 5,7 $\mu\text{kat}/l$, ostatní hodnoty biochemických vyšetření a hemokoagulace byly v mezích normy. Pokles hladin bilirubinu a transamináz jsme dávali do souvislosti s dobrou odpovědí základního onemocnění na léčbu a tedy ústupem předpokládané infiltrace jater.

Ode dne 24 Protokolu I se ale hodnota bilirubinu začala znovu zvyšovat, opět s převahou konjugovaného. Pokračovali jsme v chemoterapii za hospitalizace, na kontrolním ultrazvukovém vyšetření byla prokázána difúzně zvýšená echogenita jater a zesílení stěny žlučníku. Hodnoty bilirubinu postupně dosáhly až 528 $\mu\text{mol}/l$, konjugovaného až 488 $\mu\text{mol}/l$, chemoterapie byla přerušena po dni 30. Na oddělení nukleární medicíny bylo provedeno vyšetření jater pomocí HIDA scanu, které prokázalo snížení jaterní



funkce na 30%, primárně hepatálního původu. Komplexní intenzivní terapie stavu spočívala v korekci fluidokoagulační rovnováhy, parenterální výživě s omezením tuků pro hodnoty triacylglyceridů až 12 mmol/l, a v podávání N-acetylcysteinu (Broncholysin®) ve vysokých dávkách (300 mg/kg/d) v kontinuální infuzi s cílem reparace hepatocytů (graf č. 1). Komplikací byla atelektáza pravého horního plicního laloku, velmi pravděpodobně způsobená hlenovou zátkou při nadprodukcii sekretu v dýchacích cestách při léčbě N-acetylcysteinem. Plánovaná kontrolní aspirace kostní dřeně den 33 potvrdila trvání kompletní hematologické remise základního onemocnění. V dalších dnech došlo k rozvoji febrilní neutropenie s těžkou mukositidou v oblas-





ti celé trávicí trubice s nutností kombinované antibiotické terapie, intervenčního podání hemopoetických růstových faktorů G-CSF (Neupogen®) a analgetické Morfinem. Rozvinul se subileosní stav, a těžká povšechná periferní neuropatie s inkontinencí moči i stolice, s bolestivými paresteziemi a hyperestéziemi zejména na prstech nohou. Po 10 dnech intenzivní symptomatické terapie se klinický stav i laboratorní parametry začaly postupně zlepšovat, ale nově se objevily kvalitativní změny chování (výraz „klackovitě chování“ vystihuje změnu přesně). Zpočátku jsme je připisovali celkovému stavu a suspektní jaterní encefalopatii (hladiny amoniaku však dosáhly nejvýše jen 75 μmol/l). Neurologické, EEG i oční vyšetření byla bez jednoznačné patologie, ale na CT a následně i MR mozku se zobrazilo patologické ložisko ve frontálních lalocích, překračující střední čáru velikosti 44x36 mm, se sytícím se lemem, kompatibilní s dg. mykotického abscesu (obr 1), a které svou lokalizací vysvětlilo změny chování. Vyšetření mozkomíšního moku prokázalo jen hraniční počet bílých krvinek s normálními hladinami bílkovin i glukosy a v diagnostice již dále nepomohlo. Nasadili jsme empirickou antimykotickou terapii amphotericinem B koloidní disperze (Amphocil®) v dávce 6 mg/kg/d. Po 12 dnech této terapie byla neurochirurgem pod MR skiaskopickou kontrolou stereotakticky provedena punkce ložiska (obr.1), odsáto 8 ml tekutiny hnědavého charakteru. Standardní kultivační mikrobiologické vyšetření, včetně prolongované kultivace bylo negativní. Histologicky byly prokázány septované hyfy s charakteristickými dvěma konturami, větvičí se pod úhlem 45°, kompatibilní s dg. aspergilosy (obr. 1). Zákrok byl komplikován lokálním krvácením do abscesové dutiny a okolí punkčného kanálu. Dávka Amphocilu byla zvýšena na 8 mg/kg/d. Po dalších 10 dnech po hematologické přípravě rekombinantním F VIIa (NovoSeven®) pro přetrvávající útlum kostní dřeně byla neurochirurgem zadrénována abscesová dutina v mozku, s odsátím 12 ml tekutého obsahu charakteru starší krve. Antimykotická terapie byla rozšířena o flucytosin (Ancotil®) 100 mg/kg/d systémově a Amphotericin B lokálně, 3 x denně 10mg do abscesové dutiny, po dobu celkem 10 dní. Dávka Amphocilu byla zvýšena na 10 mg/kg/d. Při stejné celkové anestezii byla provedena laparoskopicky biopsie jater. V histologickém vyšetření jaterní tkáně byla prokázána silně aktivní steatohepatitis, s fibrosou střední, bez možnosti jednoznačné etiopatogenetické zařazení. Plísňe nebyly v jaterní tkáni prokázány. Na kontrolním CT vyšetření byla patrná mírná regrese velikosti chronické abscesové dutiny na velikost 21x25 mm. Kontrolní vyšetření kostní dřeně potvrdilo hematologickou remisi základního onemocnění. Po přestávce 42 dnů bez antineoplastické terapie jsme pokračovali v protinádorové chemoterapii, spolu s konkomitantní léčbou Amphocilem (8 mg/kg/d) a Ancotilem. Bilirubin, transaminázy, krevní obraz i hemokoagulace byly prakticky v mezích normy. Celkový stav pacientky byl uspokojivý, dominovala výrazná neuropatie s hyperestéziemi prstů nohou a povšechná hypotonie svalstva. Opakované zvracení a nedostatečný perorální příjem si vyžádaly zavedení gastrostomie (PEG), což umožnilo zlepšení nutričního stavu pacientky. Pro trombocytopenii byla chemoterapie v indukci (protokol I) přerušena ještě na dalších 10 dnů. V této části terapie se hodnoty bilirubinu pohybovaly okolo 20 ukat/l a transaminázy v hodnotách okolo 2-3 násobku normy. V dalších fázích již bylo možno pokračovat s konkomitantní antimykotickou a antineoplastickou terapií dle protokolu. Prodleva v chemoterapii pouze 1 týden během dalších 4 měsíců je na dolní hranici obvyklých odchylek od protokolů BFM v této fázi terapie. Kontrolní vyšetření magnetickou resonancí dokumentovala postupnou regresi velikosti abscesové dutiny. Neurochirurgické odstranění residua chronického abscesového ložiska otevřenou cestou bylo provedeno v říjnu 2003, po ukončení plánované intenzivní chemoterapie a po 9 měsících od průkazu patologického ložiska v CNS. Při histologickém vyšetření byl potvrzen chronický mykotický aspergilový absces, který se sestával centrálně

ně ze zanikajících, zčásti fragmentovaných a lýzovaných aspergilových septovaných hyf s typickým dichotomickým větvením směrem k periférii a s charakteristickou dvojitou konturací. Vegetativní spory („fruiting bodies“) nebyly přítomny. Kolem skupin zanikajících hyf byla přítomna demarkující granulomatózní resorptivní reakce. Periferněji byla přítomna gliofibrózní jizva a úklidová reakce ze zrnčkových buněk. Vzhledem k fragmentaci a lýze aspergilových hyf, absenci vegetativních spor a intenzitě granulomatózní resorptivní reakce bylo možno usuzovat na regresivní trend v biokinetic mykózy. Antimykotická léčba Amphocilem byla ukončena 3 měsíce po exstirpaci abscesu. V průběhu udržovací per orální chemoterapie došlo, i při redukováných dávkách cytostatik, ke 3 epizodám febrilní neutropenie, kde klinickou odpověď přineslo až empirické přisazení antimykotika. Zde byl použit voriconazol.

V průběhu téměř jeden rok trvající léčby preparáty amphotericinu B dosáhla celková kumulativní dávka amphotericinu B 2. 232 g/kg, voriconazolu 0.9 g/kg.

Pacientka je i nadále v kompletní hematologické remisi své ALL, t.č. 21 měsíců od diagnózy, pokračuje v plánované perorální udržovací chemoterapii dle protokolu. Kontrolní MRI mozku je zcela bez známek mykotického postižení. Dívka je ve velmi dobrém celkovém stavu a náladě, schopná samostatné chůze a vrací se ke studiu střední zdravotnické školy. Hodnoty transamináz jsou normalizovány, hladiny bilirubinu jsou dlouhodobě kolem 20 – 25 umol/l, s normálními hodnotami urey a kreatininu.

Diskuse

Mykotické abscesy CNS jsou vzácnou a obávanou komplikací protinádorové terapie. Aspergilosa je u onkologicky nemocných považována za progredující a zpravidla fatální onemocnění (4). V literatuře se postižení CNS popisuje u 50–60 % nemocných s diseminovanou aspergilovou infekcí, zpravidla v souvislosti s primárním plicním postižením (22). Nicméně ve velké skupině pacientů po transplantaci kostní dřeně se přítomnost plicní aspergilosy podařilo prokázat jen u 30–48 % pacientů s aspergilovým abscesem CNS (6). U naší pacientky jsme klinicky, ani zobrazovacími metodami (RTG, CT) nezachytili obraz kompatibilní s mykotickým postižením plic, proto nebyly indikovány ani další vyšetřovací metody např. bronchoalveolární laváž nebo plicní biopsie.

Rizikovými faktory pro rozvoj invazivní mykotické infekce jsou přítomnost imunoprese, zavedení centrální žilní katétr, léčba chemoterapií a steroidy, léčba širokospektrými antibiotiky a předchozí kolonizace dýchacího či trávicího ústrojí (6, 14). Naše pacientka měla většinu z výše uvedených, jen s výjimkou kolonizace aspergilem.

Prognóza aspergilových abscesů CNS je obecně velmi nepříznivá, s mortalitou mezi 90–100 % (19). Velmi důležitým faktorem ovlivňujícím přežití pacientů s invazivními mykózami je včasnost nasazení antimykotické terapie. Nově jsou k dispozici možnosti diagnostiky aspergilové DNA pomocí PCR a stanovení galaktomananu pomocí ELISA (2, 11). U naší pacientky však bylo možno rutinně používat tyto testy až po několika měsících antimykotické terapie a proto nejsou zmiňovány.

Prognosticky je důležitá dostatečně dlouhá antimykotická terapie v dostatečně vysokých dávkách, zajišťujících penetraci do CNS a také možnost chirurgické intervence, i když o rozsahu, a stupni radikalitě neurochirurgického zákroku, se stále diskutuje (19). Použití amphotericinů na tukových nosičích zlepšilo možnosti léčby mykotických infekcí CNS (8, 14), avšak recentní literární údaje svědčí spíše o výhodnosti voriconazolu jako léku první volby u pacientů s aspergilovou infekcí (10, 19, 20).

Nevýhodou voriconazolu je především jeho efekt na isoformy cytochromů CYP3A4, CYP2C9 a CYP2C19, tedy rizika potenciálně závažných lékových interakcí. Týká se to přede-

vším pacientů léčených vinca alkaloidy, kdy klinicky závažné interakce jsou již dobře dokumentované u jiných azolů, především itraconazolu (9, 17). Zcela vyřešeno dosud není ani pediatrické dávkování vorikonazolu, kde se zdá, že děti potřebují vyšší dávky než dospělí pacienti (21).

Po histologickém stanovení diagnózy velmi pravděpodobně aspergilové infekce jsme se pokusili o kombinovanou antimykotickou terapii vorikonazol + koloidní disperse amphotericinu B. Přisazení vorikonazolu však v časné fázi léčby vedlo k významnému zhoršení renálních parametrů i jaterních testů, s jejich rychlým návratem k původním hodnotám po vysazení vorikonazolu.

K etiologii těžké hepatopatie, kterou se celé onemocnění manifestovalo, se nemůžeme jednoznačně vyjádřit. Uvažovali jsme o možnosti některých hereditárních lézí, jež se doposud chovaly bezpříznakově, jako např. Gilbertův syndrom. Následně jaterní selhání pak bylo pravděpodobně kombinací předpokládané preexistující hereditární léze, infiltrace jater při ALL a superpozice hepatotoxické chemoterapie. Jedním z opatření v iniciální fázi jaterního selhání je podávání vysokých dávek N-acetylcysteinu, jehož smyslem je suplementovat hepatocyt prekursorem glutathionu, který hraje důležitou roli v detoxikačních procesech (16). Vysoké dávky N-acetylcysteinu byly naší pacientkou dobře tolerovány a lze se domnívat, že N-acetylcystein přispěl k reparaci komplikující, klinicky významné jaterní léze.

V recentní literatuře lze najít řadu sdělení zdůrazňujících potenciální neuroprotektivní význam léčby rekombinantním erythropoetinem, která jsou podložena jak klinickým pozorováním, tak i experimentálními pracemi (5, 7). Lze pouze spekulovat, do jaké míry přispěla terapie rekombinantním erythropoetinem k velmi dobrému neurologickému stavu naší pacientky, včetně udržení kognitivních funkcí.

Domníváme se, že klinický průběh, radiologický i histologický obraz je u naší pacientky kompatibilní s aspergilovou infekcí. Jiné vláknité houby mohou být také příčinou invazivních infekcí u imunokompromitovaných pacientů a připomínat histopatologický i radiologický obraz aspergila (např. *Fusari-*

um, *Pseudoallescheria*, *Penicillium*), v tomto případě byl histopatologický obraz typický (*Fusarium* má hyfy sotva zřetelné v H&E barvení a větvení spíše pravoúhlé). Navíc rod *Aspergillus* se zdá být jedinou nekvasinkovou houbou, patřící mezi hyfomycety, která je schopná působit invazivní mykózy v hlubokých tkáních. Ačkoli nebyl *Aspergillus* kultivačně prokázán kultivačně prokázán – což ale není u aspergilových infekcí neobvyklý jev (4, 8, 17) – domníváme se, že u naší pacientky je infekce jinou plísní než aspergilem jen velmi málo pravděpodobná.

Sdělení podtrhuje potřebu dalších studií zaměřených na problematiku časné detekce a terapie mykotických infekcí u onkologicky nemocných, včetně i nadále problematické a kontroverzní oblasti efektivní antimykotické profylaxe u onkologicky nemocných.

Závěr

1. K život ohrožujícím mykotickým infekcím může dojít i v časných fázích indukční léčby akutní leukémie a na tuto možnost je třeba trvale pomýšlet. Cílená biopsie pod MRI kontrolou je spojena s minimální morbiditou, umožní histologickou diagnózu a je proveditelná i u pacientů v závažném celkovém stavu a těžké myelosupresi.
2. Prolongovaná kombinovaná, event. sekvenční antimykotická terapie je možná a proveditelná i u pacientů s akutní leukémií a s pokračující intenzivní chemoterapií vedenou s kurativním záměrem.
3. Renální toxicita derivátů amphotericinu B na tukovém nosiči je za podmínky adekvátní hydratace a suplementace minerálů (10) přijatelná a dovoluje velmi dlouhou terapii, a to i konkomitantně s nefrotoxickou chemoterapií.

Podtrhujeme dále význam široké mezioborové spolupráce a dostatečného personálního i technického zázemí pro péči o děti nemocné zhoubným nádorem.

Práce byla zčásti podpořena VZ MZd ČR č. 00065269705 a grantem IGA NC 7104-3.

Literatura

1. Bethell D, Hall G, Goodman TR et al: Resolution of orbitocerebral aspergillosis during combination treatment with voriconazole and amphotericin plus adjunctive cytokine therapy. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2004 May;26(5):304-7.
2. Buchheidt D, Hummel M, Schleiermacher D et al: Current molecular diagnostic approaches to systemic infections with aspergillus species in patients with hematological malignancies. *Leuk Lymphoma*. 2004 Mar;45(3):463-8.
3. Denning DW, Marinus A, Cohen J et al: An EORTC multicentre prospective survey of invasive aspergillosis in haematological patients: diagnosis and therapeutic outcome. EORTC Invasive Fungal Infections Cooperative Group. *J Infect*. 1998 Sep;37(2):173-80.
4. Denning DW: Invasive aspergillosis. *Clin Inf Dis*. 26, 781 – 803, 1998)
5. Grasso G, Sfacteria A, Cerami A et al: Erythropoietin as a tissue-protective cytokine in brain injury: what do we know and where do we go? *Neuroscientist*. 2004 Apr;10(2):93-8
6. Haktanese ME, Bauwens JE, Kjos B et al: Brain abscess following marrow transplantation: experience of the Fred Hutchinson Cancer Research Centre 1984 – 1992. *Clin Inf Dis* 1995, 19, 402 – 408)140, 2475 – 2479
7. Henry DH The evolving role of epoetin alfa in cancer therapy. *Oncologist*. 2004;9(1):97-107
8. Herbrecht R, Natarajan-Ame S, Nivoix Y et al: The lipid formulations of amphotericin B. *Expert Opin Pharmacother*. 2003 Aug;4(8):1277-87
9. Kamaluddin M, McNally P, Breatnach F et al: Potentiation of vincristine toxicity by itraconazole in children with lymphoid malignancies. *Acta Paediatr*. 2001 Oct;90(10):1204-7.
10. Klasterky J. Empirical antifungal therapy. *Int J Antimicrob Agents*. 2004 Feb;23(2):105-112
11. Komatsu H, Fujisawa T, Inui A et al: Molecular diagnosis of cerebral aspergillosis by sequence analysis with panfungal polymerase chain reaction. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2004 Jan; 26 (1):40-44.
12. Mayer J, Doubek M, Doubek J et al: Reduced nephrotoxicity of

- conventional amphotericin B therapy after minimal nephroprotective measures: animal experiments and clinical study. *J Infect Dis*. 2002 Aug 1;186(3):379-88. Epub 2002 Jul 11
13. Ng T, Robson GD, Denning DW: Hydrocortison enhances growth of *Aspergillus* spp.: implication for pathogenesis. *Microbiology* 1994.
14. Ng A, Gadong N, Kelsey A et al: Successful treatment of aspergillus brain abscess in a child with acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Hematol Oncol*. 2000 sep;17(6):497-504.
15. Okamoto K, Kuroiwa A, Yokoyama Y et al: A case of cerebral aspergillosis associated with induction chemotherapy for acute lymphoblastic leukemia No To Shinkei. 1996 Nov;48(11):1047-51.
16. Psiachou-Leonard E, Sidi V, Tsvitanidou M et al: E.J. Brain abscesses resulting from *Bacillus cereus* and an *Aspergillus*-like mold. *Pediatr Hematol Oncol*. 2002 Oct;24(7):569-71
17. Sathiapalan RK, Al-Nasser A, El-Solh H et al: Vincristine-itraconazole interaction: cause for increasing concern. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2002 Oct;24(7):591.
18. Sener G, Tosun O, Sehirlirli AO et al: Melatonin and N-acetylcysteine have beneficial effects during hepatic ischemia and reperfusion. *Life Sci*. 2003 May 2;72(24):2707-18
19. Schwartz S, Thiel E. Update on the treatment of cerebral aspergillosis. *Ann Hematol*. 2004;83 Suppl 1:S42-4.
20. Walsh TJ, Pappas P, Winston DJ et al: National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group. Voriconazole compared with liposomal amphotericin B for empirical antifungal therapy in patients with neutropenia and persistent fever. *N Engl J Med*. 2002 Jan 24;346(4):225-34.
21. Walsh TJ, Karlsson MO, Driscoll T et al: Pharmacokinetics and safety of intravenous voriconazole in children after single- or multiple-dose administration. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004 Jun;48(6):2166-72
22. Wheat JL, Goldman M, Sarosi GA: Fungal Infection in the immunocompromised host, in: Rubin RH, Young LS. *Clinical Approach to Infection in Compromised Host*. 4th edition, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York 2002

ZPRÁVA Z KONFERENCE FAMILIAL CANCER CONFERENCE – MADRID 6.–7. 5. 2004

FORETOVÁ L.¹, GOETZ P.²

¹MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV BRNO

²2. LF UK A FN MOTOL PRAHA

Konference „Familial Cancer“ byla pořádána European School of Oncology a Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas v Madridu. Jednalo se o dvoudenní velmi intenzivní jednání, které bylo uspořádáno do přehledných půlhodinových přednášek vyzvaných řečníků a posterové sekce. Ve dvou dnech jsme se seznámili s nejnovějšími poznatky z oblasti jak výzkumu hereditárních malignit tak jejich klinického sledování. Přestože se konference konala záhy po pumových atentátech, byl Madrid velmi přívětivým a okouzlejícím městem. Onkologické výzkumné centrum v Madridu je umístěno v krásném prostředí zahrady, má moderní vybavení laboratoří a rychle se rozvíjející výzkum.

Program byl rozdělen do několika tématických celků: koncept familiární nádorové genetiky, dědičné syndromy nádorů prsu a ovaria, klinické aplikace u syndromu nádorů prsu/ovariva, méně časté nádorové syndromy, syndromy kolorektálního karcinomu, klinické studie u kolorektálního karcinomu, nové strategie výzkumu.

Nádorové syndromy s dědičnou etiologií byly klinicky popisovány po mnoho let, od 80 let minulého století se postupně objevovaly geny zodpovědné za některé z nich. Kromě autosomálně dědičných syndromů se vyskytují recesivně dědičné. Problematika nádorových syndromů je komplikována genetickou i klinickou heterogenitou, kdy více genů může disponovat ke stejnému klinickému syndromu (například u HNP-CC, HBOC, Fanconioho anemie aj.) i stejný gen může způsobovat různé klinické projevy (například u NF1). Na klinický projev predispozičních genů mají vliv modifikující faktory, jako lokalizace a typ mutace ovlivňující například stabilitu RNA nebo kritické vazebné oblasti, a dále pravděpodobně i modifikující geny například HRAS, RAD51 aj. Pro genetické vyšetření je nutná správná selekce rodin, tak aby primární pravděpodobnost záchytu mutace byla vyšší než 10% (podle ASCO doporučení). Nicméně i v rodinách, které nejsou testovány, je potřebné určit empirické riziko onemocnění pro příbuzné a dle něj navrhnout preventivní opatření. Mnoho familiárních kumulací nádorů nespádá do žádných kritérií syndromů a mohou mít polygenní etiologii. Zatím neznáme hlavní predispoziční geny například pro Grawitzův nádor, nádory plic, testes, jícnu nebo hematologické malignity. Účast na mezinárodních kolaborativních studiích je nutná.

Ne vždy se dá říci, že dědičné nádorové syndromy jsou způsobeny podle Knudsonovy teorie dvojího zásahu bíalelickou inaktivací genu, vrozenou a získanou. Existují geny ovlivňující rezistenci i susceptibilitu k nádorům, geny se silným i slabým predispozičním vlivem. Oba typy mají variabilní a inkompletní penetranci. Modifikační geny jsou důležitým faktorem ovlivňujícím expresi ostatních genů, zatím bylo klonováno pouze několik těchto genů. Jsou studovány pomocí vazebných studií, přímou analýzou kandidátních genů i pomocí screeningu funkčních polymorfismů celého genomu.

Otázka prevence u hereditárních nádorových syndromů není jednoduchá. Po zkušenostech především v zemích západní Evropy, kde jejich diagnostika začala dříve, je možné nyní vyslovit určitá základní doporučení. Primární prevence musí

být samozřejmě součástí preventivních opatření, ale u některých typů nádorů (např. nádory prsu) bude mít omezený vliv na snížení rizika. Dědičně disponovaní lidé mají mít naprosto jiný preventivní přístup než běžná populace a k tomu je nutné uzpůsobit i funkci „preventivních center“.

Problematika hereditárního syndromu nádorů prsu a ovaria byla diskutována v několika sděleních. Časná detekce nádorů je problematická. BRCA1 nosičky mají densní parenchym, méně DCIS a MMG je méně sensitivní, 1/2 nádorů je intervalových. V prevenci HBOC se stále více doporučují jiné diagnostické metody pro „časnou“ detekci nádoru prsu než UZ a MMG a profylaktické operace mají své neoddiskutovatelné místo v prevenci. MMG musí být nahrazena MR, jinak bychom nemohli mluvit o možnosti „časné“ detekce nádorů u rizikových žen. MMG i UZ zachycují u těchto mladých žen nádory ve velkém procentu s pozitivními lymfatickými uzlinami, což není žádoucí. Níže specifická u MR není problematická ve zkušených centrech, kde je vhodná koncentrace těchto žen. Profylaktické operace prsu jsou sice spojeny s vyšší zátěží ženy, ale opět je nutná koncentrace do center s největší zkušeností a jejich vliv na snížení rizika ca prsu je markantní. Probíhají dlouhodobé studie s follow-up profylakticky operovaných žen. Ve studii 950 případů po profylaktické operaci bylo residuální riziko ca prsu 1,1%. Operace následně snižuje stres, obavu z rakoviny a zlepšuje duševní pohodu. Riziko nádoru prsu může být redukováno podáváním Tamoxifenu o 40%, profylaktickou adnexectomií o 50%, podáváním Tamoxifenu a profylaktickou adnexectomií o 70% a profylaktickou mastektomií o 90–100%.

Ovaria nelze preventivně sledovat s předpokladem „časné“ detekce nádoru. U nosiček BRCA mutace ve studii se 187 ženami, 97 mělo profylaktickou operaci a 90 jich bylo preventivně sledováno TVUZ po půl roce. V neoperované skupině bylo diagnostikováno 5 nádorů ovaria, všechny ve stadiu III. a IV. Proto je nutné provádět profylaktickou adnexectomií ve věku 35–40 let. 3 ženy z 97 profylakticky operovaných měly nádor v profylakticky resekovaných ováriích, dobrá spolupráce patologa je nutná. Pooperační riziko peritoneálního karcinomu je udáváno asi 5%.

Histologie BRCA1 pozitivních nádorů prsu je odlišná v několika faktorech, větším zastoupením medulárního ca, vyšším gradem, vyšším procentem ER, PR, Her2 negativních tumorů, vyšší proliferací aktivitou s Ki67 posit. než ve sporadických případech, častější c-MYC amplifikací. BRCA2 nádory jsou vyššího gradu, častěji Her2 neg. Nádory jsou rychle rostoucí s vyšší agresivitou. Probíhají studie hodnotící expresi cytokeratinů, E-cadherinu, P-120, gama a beta cateninů aj. Funkce BRCA1/2 genů je velmi široká, zasahuje do homologní rekombinace a reparace DNA, remodelace chromatinu, regulace transkripce i buněčného cyklu.

Selekční kritéria pro genetické testování BRCA1/2 jsou různá na pracovištích, existují však počítačové modely pro rozhodování. Tyto modely predikují pravděpodobnost nalezení mutace u dané probandky. Dostupné modely jsou Couchův, Myriad I., II. a BRCAPRO (na Internetu – <http://astor.som.jhmi.edu/brcapro>), jeho výhodou je zahrnutí věku při dg., ca prsu u muže i bilaterality.

Výzkum dalších predispozičních genů pro hereditární nádor prsu (BRCA3...) probíhá v rámci Breast Cancer Linkage Consortia, asi 200 rodin bylo vybráno a je prováděna vazebná studie. Zatím nebyl nalezen další kandidátní lokus. Předpokládá se však, že velká část non-BRCA1/2 rodin bude mít způsobeno vyšší riziko onemocnění díky různým genům s nízkou penetrancí a kombinací jejich účinku.

Podstatná část kongresu byla věnována problematice hereditárních kolorektálních karcinomů (KK). Syndromy kolorektálních karcinomů jsou děleny na HNPCC a polypozni syndromy, kam patří adenomatózní polykozy – FAP, MAP (MYH polypoza) a AXIN 2 polypoza (nový syndrom hereditární malignity podmíněný zárodečnou mutací AXIN 2 genu, projevující se vysokým rizikem vzniku KK a nevývinem zubů). K hamartomatozním polykozám se řadí Peutz-Jeghersův syndrom (zárodečná mutace LKB 1 genu), juvenilní polypoza a Cowdenův syndrom, který se zdá být poddiagnostikován, ale riziko KK je nízké. Největší soubor o 1042 pacientů s KK mají Finové. Frekvence nosičů mutací mismatch repairových genů (MMR) dosahuje ve finské populaci 2,9%. Byl zdůrazněn význam detekce mikrosatelitové instability (instabilita dinukleotidů) - MSI u KK. U HNPCC se MSI vyskytuje v 50–95 %, u sporadických KK se prokazuje v 8–20 % nádorů a představuje dobrý prognostický znak (nádory mají nízkou prevalenci k P53 a RAS mutacím, vysokou prevalenci k BAX mutacím, postihují pravý tračník, jsou málo diferencované, mucinosní). Výzkum prokazuje zvýšený význam epigenetických událostí v průběhu kancerogeneze. Druhý zásah - vyřazení druhé alely MMR genů v cílové tkáni - může představovat hypermetylace divoké alely.

V DNA reparačních procesech se kromě MMR genů účastní i produkty genů MYH, FAP, BRCA a P53. Tento průkaz má zásadní klinický výstup: u nositelů/nositelek zárodečných mutací těchto genů nemají být v algoritmech monitorování zdravotního stavu používány rtg vyšetřovací metody (např. mamografie apod.), ale spíše metody MR. Ionizované záření by v terénu snížené reparační schopnosti buněk dále zvyšovalo frekvenci mutací v nádorovém klonu.

Pro detekci mutací v APC genu většina laboratoří používá současně DHPLC a PT test. Je známo, že existují hot spots mutace, vztahy mezi genotypem a fenotypem, ale přežití pacientů s různými mutacemi v APC genu se kromě atenuované formy neliší. Kromě APC a MMR genů se u KK uplatňují dominantní predisponující geny (LKB1/STK1, SMAD4, HMPS/CRAC1, PTEN) i recesivní predisponující geny (např. MYH). Významné jsou i polymorfismy – APC 307K, HRAS-VNTR, MTHFR varianty).

FAP má incidenci 1:8000, mutační analýza potvrdí diagnózu u 70–80 % rodin. Presymptomatické testování je doporučováno od 12 let věku, prokáže-li se nosičství zárodečné mutace, provádí se sigmoidoskopie v 1-2 letech intervalech, u atenuované formy je doporučována totální kolonoskopie (polypy mohou být lokalizovány v proximální části tračníku) od 18-20. roku věku. Screening duodena se podle stadia vývoje malignity doporučuje v 5,3,1-2 letech intervalech od 30 let věku. Neefektivnější snížení rizika KK je profylaktický chirurgický zásah. Kolektomie s ileorektální anastomózou je efektivní, ale vyžaduje kontinuální endoskopické kontroly, případně sekundární proctectomie. Alternativně se dnes častěji provádí proctokolektomie s „ileal-pouch-anal“ anastomózou. Preventivně se podávají NSAIDs (Sulindac, Celecoxib), které sice snižují počty polypů o 30-50%, riziko KK se však neodstraní a terapie nenahrazuje koloskopie. Zkouší se podávat Tamoxifen i Glivec.

Karcinom ledvin se vyskytuje u 28–40 % pacientů s von Hippel-Lindauovým syndromem, ale také u familiárních translokací zahrnujících krátká raménka 3. chromozomu. Je doporučováno provádět cytogenetická vyšetření u pacientů s VHL a neprokázanou mutací a u pacientů s uvedenou malignitou zejména při familiárním výskytu.

Byla prezentována souhrnná fakta u syndromů s chromozomální instabilitou (FA, XP, AT, Bloomův sy, Nijmegen breakage sy). U FA typu D1 byly nalezeny mutace v BRCA 2 genu a poukázáno na vztahy signalizačních drah FA a BRCA.

Francouzská studie neprokázala účast mutací CHEK 2 genu u Li-Fraumeniho syndromu a opět zdůrazněna nevhodnost rtg vyšetření u nosičů zárodečných mutací P53. Je podezření, že u nosičů – mužů je kompletní penetrance (malignit), u žen je nižší.

Byl zdůrazněn význam opakovaného genetického poradenství a psychologické konzultace v testovacích protokolech nádorových rodin. U PTEN hamartomatozního syndromu byla stanovena hlavní a vedlejší diagnostická kritéria a zdůrazněna fenotypová heterogenita zárodečných mutací PTEN genu (10q23). Zárodečné mutace genu se vyskytují v 80 % pacientů s Cowdenovým syndromem, v 60 % u Bannayan – Riley – Cuvalcaba syndromu, ve 20 % u Proteus syndromu a v 50 % u Proteus-like syndromu.

Otázka dědičné predispozice pro karcinom prostaty je nejasná, jsou důkazy pro AR, AD i X vázanou dědičnost predispozice. Riziko pro další výskyt ca prostaty stoupá s počtem postižených v rodině. Mezinárodní konsorcium pro ca prostaty shrnuje 232 rodin s familiárním výskytem ca prostaty. Kriteřium pro zařazení do souboru: dva případy v rodině, jeden s výskytem pod 60 let věku, nebo tři nebo více případů v kterémkoli věku. Dle analýz vazebné nerovnováhy byla vytipována řada predisponujících genů i polymorfismů, jedná se pravděpodobně o mnoho genů s malou penetrancí.

Nové perspektivy pro časnou diagnostiku malignit představuje virtuální kolonoskopie. U nosiček BRCA mutací je nutno provádět vyšetřování prsu pomocí MRI (jsou radiosenzitivní) od 30 let věku nebo u jedinců o 25 let mladších než byl věk postiženého prvou malignitou v rodině. Celková senzitivita MRI screeningu je vyšší než 93 %.

Z čipových technologií byly prezentovány literární údaje u karcinomu prsu. U čipu obsahujícího 25 000 genů (publ. 2001) bylo označeno 231 genů významně asociovaných s průběhem onemocnění, 70 genů spojených se špatnou prognózou. Na rozdíl od klinické klasifikace byla zhodnocením čipových nálezů charakterizována skupina 30% žen z vyšetřovaného souboru s dobrou prognózou, kde není třeba indikovat adjuvantní terapii. Limitace čipových technologií stále spočívá v nákladnosti metodiky, v problémech se standardizací i v problémech s odebíráním nádorové tkáně.

Specifické histopatologické nálezy byly prezentovány u polypů u Peutz-Jeghersova syndromu, HNPCC, sporadických HNPCC kde MMR deficiencie byla způsobena metylací promotoru MLH 1 a u polypů asociovaných s mutacemi MYH genu. Problematika genetického testování má také své etické zásady. Základem je prohibice jakékoliv diskriminace osoby na základě genetického dědictví a testování pouze pro zdravotní účely nebo pro výzkum ve vztahu ke zdravotním účelům. Genetická data jsou určena pro zdravotní péči, medicínský výzkum, forensní a legální účely a další, které jsou konsistentní s Deklarací o lidském genomu a lidských právech. Testovaná osoba má právo nevědět a právo na autonomii. Je nutné zachovávat důvěrnost informace, výjimka je možná se souhlasem osoby, ve zvláštních případech při zvážení rizika choroby, existence preventivních opatření.

Monotematické symposium v moderním a nepředstavitelně bohatě prostorově vybaveném Centro Nacional de Investigaciones Oncologias v Madridu imponovalo souhrnným pojetím problému familiárních malignit. Mezinárodní auditorium představovalo kolem 150 specialistů a umožňovalo bohatou diskuzi a navázání kontaktů pro mezinárodní kolaborativní studie. Náš vzkaz pro české specialisty spočívá v doporučení zapojit se do mezinárodních multicentrických studií, neboť pouze z takových vycházejí signifikantní teoretické i klinické výstupy. Centro Nacional de Investigaciones Oncologias doporučujeme všem mladým vědcům, kteří mají zájem o výzkumnou laboratorní práci v oblasti onkologie.

JAKÁ JE OPTIMÁLNÍ DÁVKA KLODRONATU PRO PACIENTY S MALIGNÍ OSTEOLÝZOU?

ADAM Z., VORLÍČEK J.

INTERNÍ HEMATOONKOLOGICKÁ KLINIKA FN BRNO

V poslední době se v lékárnách objevila nová forma klodronatu, Lodronat tablety 520 mg, která doplnila dřívější nabídku Lodronat 400 mg a Bonefos 400 a 800 mg.

Firma Schering doporučuje podávat pacientům s maligní osteolýzou perorálně denně 1600 mg Bonefosu, to znamená 4 kapsle po 400 mg nebo 2 kapsle po 800 mg.

Firma Roche doporučovala dříve stejnou perorální denní dávku klodronatu, 1600 mg, ve formě preparátu Lodronat 400 mg. V poslední době se objevuje doporučení nahradit tuto dávku preparátem Lodronat tablety 520 mg v perorální denní dávce 1040 mg. Snížení dávky je zdůvodňováno bioekvivaleční studií, kterou zorganizovala dnes již zaniklá firma Boehringer Mannheim. Studie byla provedena na 36 dobrovolníků a překvapivé je, že nebyla zveřejněna v odborné literatuře registrované v databázi vědeckých publikací MEDLINE.

Vzhledem k tomu, že tato změna v doporučené dávce vedla k diskuzím mezi lékaři, hledali jsme odpověď na otázku, jak dalece je doporučeno „podávat pacientům s maligní osteolýzou denně 1040 mg Lodronatu“ podloženo publikovanými klinickými a farmakokinetickými studiemi.

Pro získání informací jsme použili jsme standardní postup - vyhledávání vědeckých informací v databázích odborných publikací PubMed – MEDLINE a zjištěné údaje jsme konfrontovali se závěry metaanalýz. Za nejbosáhlejší metaanalýzu považujeme práci J. R. Rosse, a kol., 2004 o 139 stranách. Naším cílem bylo formulovat doporučení dle pravidel *evidence based medicine*, které shrnuje tabulka 1.

Zásadní informace o dostupných preparátech dle programu AISLP

Bonefos potahované tablety po 800 mg obsahují dinatrii clodronas tetrahydricus 1000 mg, což odpovídá dinatrii clodronas anhydricus 800 mg v jedné potahované tabletě.

Lodronat potahované tablety po 520 mg obsahují dinatrii clodronas tetrahydricus 649,7 mg, což odpovídá dinatrii clodronas anhydricus 520 mg.

1. Dávky klodronatu používané v randomizovaných klinických studiích

Jako první jsme hledali odpověď na otázku: „jaké dávky klodronatu byly použity v rámci randomizovaných klinických studií u lidí od roku 1988 do roku 2004?“. V databázi PubMed a MEDLINE jsme našli celkem 89 publikací při zadání hesla *clodronate* a omezení na randomizované klinické studie prováděné na lidech, časové rozpětí a anglický jazyk a celkem 93 publikací bez omezení na anglický jazyk.

Mezi nalezenými 93 publikacemi jsou studie popisující účinek klodronatu jak u pacientů s hyperkalcemií maligního původu, tak u pacientů s maligní osteolýzou, ale i u pacientů s postmenopauzální či iatrogeně vyvolanou osteoporózou.

V uvedeném databázi jsem našel více randomizovaných prospektivních studií, dokumentujících závislost účinku na výši podané dávky. Uvedeme pouze některé z nich:

Herrala (1998) hodnotil změny kostní denzity při denní dávce 800, 1600 a 2400 mg. U pacientů dostávajících 800 mg nedošlo k signifikantnímu nárůstu kostní denzity oproti pacientům s placebem. U pacientů dostávajících 1600 mg denně vz-

stoupila kostní denzita průměrně o 2,6 % za rok a u pacientů dostávajících 2400 mg o 3,0 % za rok (*Herrala, 1998*).

O'Rourke (1995) vyhodnocoval účinek klodronatu dle míry poklesu kalcieurie. Testoval placebo, 400 mg, 1600 mg a 3200 mg. Dávka 1600 mg již způsobila signifikantní pokles kalcieurie oproti skupině dostávající placebo ($p = 0,0002$). Pokles kalcieurie byl ve skupině dostávající 3200 mg ještě významnější $p = 0,0001$, ale další pokles kalcieurie u pacientů léčených 3200 mg oproti pacientům dostávajícím 1600 mg již nedosáhl statistické významnosti. Autoři této studie uzavírají, že klodronat v dávce 1600 až 3200 mg inhibuje maligní osteolýzu a doporučují dávku 1600 mg pro dlouhodobé podávání u pacientů s maligní osteolýzou.

Pod heslem *clodronate and randomized clinical trial* jsme ale nenalezli žádnou randomizovanou studii používající pro maligní osteolýzu klodronat v denní perorální dávce 1040 mg.

Tablety obsahující 520 mg (preparát s názvem Loron 520 dodávaný na trh firmou Boehringer Mannheim, která později přešla pod firmu Roche) byly použity v rámci velké britské studie (MRC PR05 trial, 311 mužů. Pacienti s metastatickým karcinomem prostaty byly randomizováni do větve užívající 2080 mg klodronatu (4 tablety Loronu a 520) a do větve s placebem. Tato studie prokázala snížení intenzity symptomů nemoci, mezi celkovým přežitím obou skupin nebylo statisticky významného rozdílu. V druhé britské studii (MRC Pr04) byla testována role tohoto léku u pacientů s lokálně pokročilou chorobou, vyhodnocení studie se očekává v roce 2004 (*Deamaley, D.P., 2003*).

V dalším odstavci uvádíme dávky, používané dominantně pro maligní osteolýzu, pro ilustraci však informujeme o dávkách klodronatu použitých v jiných indikacích:

Tabulka 1: Úroveň důkazu a stupně doporučení používané ve směrnících (guidelines) a principech medicíny založené na důkazech (evidence based medicine).

Úroveň důkazu a její definice	
Ia	Důkaz je získán z metaanalýzy randomizovaných studií.
Ib	Důkaz je získán z výsledku alespoň jedné randomizované studie.
IIa	Důkaz je získán alespoň z jedné dobře formulované ale nerandomizované klinické studie, včetně studií II. fáze a takzvaných „ <i>case control study</i> “.
IIb	Důkaz je získán alespoň z jedné, dobře formulované experimentální studie, ale i studií založených na pouhém pozorování.
III	Důkaz je získán z dobře formulované, neexperimentální popisné studie. Do této kategorie jsou zahrnuty také důkazy získané z metaanalýz a z jednotlivých randomizovaných studií, které však byly zveřejněny pouze formou abstraktu a nikoliv jako publikace „ <i>in extenso</i> “.
IV	Důkazy založené na mínění skupiny expertů a/nebo na klinické zkušenosti respektovaných autorit.
Stupně doporučení a jejich definice	
A	Doporučení založeno alespoň na jedné randomizované klinické studii, tedy založené na důkazu typu Ia nebo Ib.
B	Doporučení je založeno na dobře vedené studii, která však nemá charakter randomizované studie zkoumající předmět doporučení. Doporučení je tedy založeno na důkazu typu IIa, IIb, III
C	Doporučení založené na mínění kolektivu expertů, tedy na základně důkazu typu IV.

1.1 Hyperkalcémie způsobená maligní osteolýzou

Klodronat 300 mg i.v. inf. 7 dní po sobě (Atula, 2003), alternativa 900 mg či lépe 1500 mg v jednorázové dlouhodobé infuzi (Atula, 2003, Purohit, 1995).

1.2 Osteolytická ložiska maligního původu

V následujících studiích byl podáván perorálně klodronat v denní dávce 1600 mg, což byla a je standardně doporučovaná dávka oběma producenty klodronatu (Atula, 2003, Powles, 2002, Jagdev, 2001, Tubiana-Hulin, 2001, McCloskey, 2001, 1998, Saarto, 2001, Kristensen, 1999, Diel, 1998, Piga, 1998, Powles, 1998, Kanis, 1996, Rizzoli, 1996, Robertson, 1995, Pater-son, 1993, Lahtinen, 1992, Delmas, 1991). Z počtu citací je zřejmé, že tato dávka byla použita v převážně většině prospektivních randomizovaných studií. Pouze výjimečně bylo v některých studiích použito jiné dávkování. To zde v přehledu uvedeme.

- 2080 mg p.o. 3 roky (Dearnaley, 2003) 311 pacientů s karcinomem prostaty, přínos přínos klodronatu byl tím větší, čím dříve po zjištění diagnózy byla tato léčba zahájena.
- 3200 mg p.o. prvni měsíc a dále 1600 mg p.o. denně (D'Amelio, 2003, Elomaa, 1992) Eloma uvádí, že 3200 mg mělo větší analgetický vliv než 1600 mg.
- 1500 mg i.v. infuze každé tři týdny (Ernst, 2003, Haderslev, 2002).
- 1800 mg i.v./měsíc snížilo úbytek kostního minerálu (Peest, 1996, Tomiska, 2001)
- Další studie srovnávala klodronat u pacientů s maligní osteolýzou v dávce 800 a 1600 mg denně se závěrem: dávka 1600 mg denně signifikantně intenzivněji snižuje kalciiuriu než dávka 800 mg denně (Arikan, 1999).
- Trvalá denní dávka 3200 mg klodronatu byla doporučena pouze v jedné studii (Strang, 1997).
- Zahajovací dávka 300 mg i.v. 10 dní po sobě a následně 1600 mg p.o. denně použil Ernst (1997).
- 2400 mg denně bylo použito ve finské studii (350 pacientů) Laakso, 1994, Lahtinen, 1992).

1.3 Postmenopauzální osteoporóza a osteoporóza jiné etiologie

Byla testována dávka 400 a 800 mg denně, 800 mg/den bylo v této indikaci dostačující (Kormano, 2002, Valimäki, 2002, McCloskey, 2001). Osteoporóza indukovaná thalasémií: 100 mg i.m. 1x za 10 dní (Morabito, 2002). V kombinaci s relaxifemem se osvědčilo i podávání klodronatu 100 mg i.m. v 10denních intervalech (D'Amelio, 2003) nebo 14 denních intervalech (Rossini, 1999). Klodronat podávaný nitrožilně v dávce 300 mg i.v. 1x týdně měl nepatrně větší účinek než 100 mg klodronatu podávaného 1x týdně i.m. (Celi, 2003). Muskulární aplikace klodronatu je však bolestivá, takže 50 % léčených posléze tuto formu aplikace odmítlo (Rossini, 1999).

1.4 Iatrogenně způsobená osteoporóza

1600 mg klodronatu p.o. u pacientů po transplantaci srdce zvýšilo lumbální denzitu (Ippoliti, G. 2003) a stejná dávka se osvědčila u premenopauzálních žen po ovariálním selhání způsobeném předchozí chemoterapií (Vehmanen, 2001).

Klodronat v dávce 800 mg denně dostatečně zabraňuje úbytku kostní hmoty a vzniku osteoporózy, která je běžná po transplantaci ledvin (Grotz 1998). Stejná dávka (800 mg) byla doporučena pro kortikoidy indukovanou osteoporózu (Herála 1998). Osteoporózu indukovanou inhalačními glukokortikoidy mírnil klodronat v dávce 100 mg i.m. ve 14 denních intervalech (Muratore, 2000).

2. Přehled publikovaných farmakokinetických studií klodronatu

Abychom zjistili další dostupné informace v odborné literatuře, vztahující se k farmakokinetice a biologické dostupnosti klodronatu, vyhledali jsem v databázi PubMed – MEDLINE všechny publikované informace pod hesly: *bioavailability and*

clodronate a ověřili je vyhledáním publikací pod heslem *clodronate and pharmacokinetics* s omezením na *clinical trial*.

Pod uvedenými průniky množin se nám zobrazilo pouze 8 publikací:

1. Publikace (Villikka 2002)- popisuje testování biologické dostupnosti dvou dávek klodronatu ve formě Bonefosu.
2. Publikace (Tomiska, 2001)- popisuje účinek dlouhodobé nitrožilní léčby klodronatem i.v. v dávce 900 mg i.v. inf 1 za 14 dní,
3. Publikace (Laitinen, 2000) - popisuje vliv stravy na vstřebatelnost klodronatu
4. Publikace (Gastren-Kortekagas, 1997)- popisuje variabilní gastrointestinální resorpci
5. Publikace (Lapham, 1996) popisuje biologickou dostupnost dvou forem klodronatu: Bonefosu v jednorázové dávce 1600 mg a Loronu v jednorázové dávce 1040 mg
6. Publikace (Kylmala, 1996) analyzující farmakokinetiku současného podání estramustin fosfátu a klodronatu u pacientů s karcinomem prostaty
7. Publikace (Aranko, 1995) popisuje účinek klodronatu na osteolýzu a hyperkalcemii
8. Publikace (Ylitalo, 1999) popisuje farmakokinetiku klodronatu po prvním a opakovaném podání

2.1 Farmakokinetické srovnání biologické dostupnosti 1600 mg Bonefosu a 1040 preparátu Loron firmy Boehringer Mannheim publikované anglickými autory (Lapham, 1996)

Z publikací nalezených v databázi PubMed-MEDLINE se srovnáním biologických dostupností dvou preparátů klodronatu zabývá pouze práce Lampham a kol. (1996). Tato práce vznikla poté, co nyní již zaniklá firma Boehringer Mannheim Livingstone zveřejnila doporučenou dávku své nové formy klodronatu v dávce 1040-2080, zatímco dřívější forma klodronatu byla doporučována v dávce 1600-2400 mg. Doporučená denní dávka preparátu Loronu se odvíjela v té době od nezveřejněné firemní bioekvivalenční studie a nebyla podpořena žádnou klinickou studií. Lapham a jeho kolektiv se domníval, že takto může docházet k podávání nedostatečně účinné dávky pacientům. Lampham udává, že firma Boehringer Mannheim nevysvětlila, jakým způsobem dosáhla nárůstu biologické dostupnosti o 35 %.

Proto Lapham a kol. zorganizovali klinickou studii dle zásad *European Union Standards (Investigation of Bioavailability and Bioequivalence, 1992)*, srovnávající biologickou dostupnost jednoho podání preparátu Bonefosu v dávce 1600 mg a jednoho podání preparátu Loron v dávce 1040 mg. Studie měla formu *two-way, cross-over*. Provedena byla na 88 dobrovolníků (47 mužů, 41 žen) v Anglii v institutu *Leicester Clinical Research Center*, v městě Leicester.

Dobrovolníci dostali ráno po přibližně 8 hodinovém lačnění 1600 mg klodronatu ve formě preparátu Bonefos kapsle nebo 1040 mg klodronatu ve formě Loron tablety. Tyto léky zapili 150 ml vody. Každý dobrovolník dostal po týdnu také druhý preparát ve stejném režimu. Vzorky krve byly odebírány před podáním léku a následně po podání v 15., 30., a 45. minutě a dále v 1., 1,5., 2., 3., 4., 6., 8., 10., 12., 24. a 48. hodině.

Stanovení klodronatu v séru bylo provedeno metodou plynové chromatografie se hmotnostní spektrofotometrickou detekcí. Tato metoda měla koeficient variací 5,3-12,0 %.

Ze zjištěných hodnot byly sestrojeny křivky plazmatické koncentrace v závislosti na čase podání. Lapham uvádí, že vstřebané množství klodronatu ze dvou tablet Loron po 520 (celková dávka 1040 mg) odpovídalo 52 % vstřebaného klodronatu ze 4 tablet Bonefos a 400 mg.

Autoři této studie uvádějí, že podání takzvané „terapeutické“ dávky Loronu 1040 mg dosahuje podstatně nižší AUC a podstatně nižší maximální plazmatické hladiny klodronatu než je dosaženo při podání Bonefosu v dávce 1600 mg p.o. Z této studie vyplynulo, že denní dávka Loronu by musela být 2080 mg aby se vyrovnala Bonefosu v dávce 1600 mg. Výsledky této studie uvádíme v tabulce 2.

Tabulka 2: Srovnání průměrných farmakokinetických parametrů podání jedné dávky Bonafosu (1600 mg) a preparátu Loron (1040 mg) (Lapham, 1996).

Farmakokinetické vlastnosti	Bonafos tablety		Loron tablety		Mean ratio	
	průměr	standardní odchylka	průměr	standardní odchylka	(Loron : Bonafos) 90 % CI	
C max (ng/ml)	2432	2191	1297	973	55,7	47,1 – 65,9
T max (h)	0,75	0,87	0,55	0,41	76,4	67,9 – 85,9
AUC (0-48 ng.h/ml)	8833	6375	4370	2625	52,2	45,8 – 59,6
T 1/2 h	6,3	3,5	4,7	4,0	81,3	71,0 – 93,0
AUC (0 -)	9478	7247	4552	2514	52,3	42,3 – 64,5

Ze srovnání ploch pod křivkou plazmatické hladiny v čase (*area under curve* – *AUC*) vyplynulo konstatování, že biologicky dostupné množství klodronatu po podání 1040 mg Loronu se rovna 52 % biologicky dostupného klodronatu z podání 1600 mg Bonafosu, neboli že dávce 1600 mg Bonafosu je ekvivalentní 2080 mg Loronu.

2.2 Další farmakokinetické studie

Studie testující biologickou dostupnost Bonafosu v dávkách 800 a 1600 mg

Tato bioekvivalenční studie vyhodnocovala biologickou dostupnost dvou rozdílných dávek stejného preparátu Bonafos. Popsala téměř identické hodnoty vstřebaného množství, 1,9 % při podání 800 mg a 2,1 % při podání 1600 mg, mezi uvedenými hodnotami nebylo statistického rozdílu (Villikka, 2002).

Studie testující závislost biologické dostupnosti Bonafosu v závislosti na intervalu mezi spolknutím kapslí Bonafosu a podáním jídla.

Resorpcce klodronatu při perorálním podání je velmi nízká, pohybuje se od 1 % do 5 % při podání nalačno. Proto se doporučuje podávat klodronat nalačno. U zdravých dobrovolníků bylo sledováno vstřebávání klodronatu podaného a) 2 hodiny před snídaní, b) 1 hodinu před snídaní, c) 30 minut před snídaní, d) při snídaní a e) 2 hodiny po snídaní. Pokud se množství vstřebané při podání 2 hodiny před snídaní označilo jako 100 %, pak při podání

- 1 hodinu před snídaní se vstřebalo 91 %, mezi oběmi hodnotami nebylo statisticky významného rozdílu,
- 30 minut před snídaní se vstřebalo 69 %,
- současně se snídaní se vstřebalo jen 10 %,
- 2 hodiny po snídaní činilo vstřebávání jen 34 %.

Proto se doporučuje podávat Bonafos v časovém intervalu 1-2 hodin před snídaní (Laitinen, 2000).

2.3 Redukce dávek klodronatu při selhávání ledvin

Výše uvedené dávkování platí při normálních hodnotách kreatininu. Metabolismus klodronatu při renální insuficienci byl analyzován finskou skupinou a bylo vysloveno následující doporučení: redukovat dávku klodronatu, neboť jinak se zvyšuje jeho koncentrace v séru, a tím se zvyšuje možnost vzniku nežádoucích účinků. Autoři finské farmakologické studie doporučují při clearance kreatininu 50 - 80 ml/min podávat 75 - 100 % doporučené dávky, při 12 - 50 ml/min podávat 50 - 75 % normální dávky a při clearance pod 12 ml/min jen 50 % normální dávky.

Při renální insuficienci je vhodná značně pomalá rychlost i.v. aplikace, neboť akutní nežádoucí účinky závisí na vyšší okamžité koncentraci v séru (tvorba komplexů) a ne na celkovém množství adsorbovaném na hydroxyapatit. Pokud je pacient dialyzován, je nutno vzít v úvahu že klodronat přechází do dialyzátu při hemodialýze. Při peritoneální dialýze však do dialyzátu nepřechází (Saha, 1994).

Závěr z uvedených informací pro praxi

Po prostudování informací z literatury obsažené v databázi MEDLINE a dále po prostudování nejnovější metaanalýzy bisfosfonátových studií (Ross, 2004,) konstatujeme:

- Nenalezli jsme v uvedené databázi publikované informace potvrzující ekvivalenci dávky 1040 mg obsažené ve 2 tabletách klodronatu po 520 mg s dávkou Bonafosu 1600 mg.
- Nenalezli ani jednu prospektivní kontrolovanou randomizovanou klinickou studii, která by u pacientů s maligní osteolýzou dokumentovala účinnost tablet obsahujících klodronat v denní dávce 1040 mg, nebo která by na formou prospektivní randomizované studie srovnávala účinnost této nízké dávky s dosavadní lékovou formou v dávce 1600 mg.
- Nalezli jsme pouze randomizovanou studii prokazující účinnost tohoto přípravku klodronatu v dávce 2080 mg.

To znamená, že jsme nenalezli důkazy účinnosti I-III stupně pro podávání klodronatu v dávce 1040 mg.

Proto nemůže být dle principů *evidence based medicine* (viz tabulka č. 1) vysloveno doporučení denní dávky 1040 mg klodronatu ani síly A ani B (viz tabulka 1).

Denní dávka klodronatu používaná pro maligní osteolýzu by neměla být při normální funkci ledvin nikdy nižší než 1600 mg/den ať se použije kterýkoliv preparát. Při dobré toleranci lze použít i dávky vyšší, neboť byla prokázána závislost míry inhibice osteolýzy na podané dávce.

Pouze jedna studie popisuje příznivý účinek klodronatu v dávce 2080 mg, takže dle principů *evidence based medicine* lze pro podávání 2080 mg klodronatu denně vyslovit doporučení síly A, podpořené důkazem síly Ib.

Závěrem bychom chtěli ještě připomenout, že na rozdíl od účinku biochemického lze klinický přínos podávání bisfosfonátů vyhodnocovat až po dostatečně dlouhé době. Ross a kol. v rámci metaanalýzy vyhodnocovali pouze studie, u nichž podávání bisfosfonátů trvalo déle než 6 měsíců. Jejich metaanalýza prokázala, že bisfosfonáty signifikantně snižují *odds ratio* pro vertebrální i nevertebrální fraktury, nutnost analgetické radioterapie a četnost hyperkalcemií. Snížení četnosti ortopedických zákroků se ale projevilo pouze u pacientů, kteří dostávali bisfosfonáty déle než jeden rok (Ross, 2003 a 2004).

Bisfosfonáty je tedy nutno podávat ihned po zjištění maligního osteolytického procesu, vždy v dostatečné dávce ověřené klinickými studiemi a vždy s vědomím, že skutečný přínos těchto léků se projevuje u pacientů až po mnoha měsících jejich podávání.

Literatura

1. Aranko, K., Hanhijarvi, H., Humpresys, M. et al.: Beneficial effects of oral clodronate in the management of osteolysis and hypercalcaemia. *Bone*, 16, 1995, s. 275-278.
2. Arican, A., Ieli, F., Akbulut, H. et al.: The effect of two different doses of

oral clodronate on pain in patients with bone metastases. *Med. Oncol.*, 16, 1999, 204-210.

3. Atula, S. T., Tahtela, R. K., Nevalainen, J. I. Clodronate as a single dose intravenous infusion effectively provides correction of malignant hypercalcaemia. *Acta Oncol.*, 42, 2003, 735-740.

4. Atula, S. T., Tahtela, R. K., Nevalainen, J. I., et al.: Clodronate as a single dose intravenous infusion effectively provides short-term correction of malignant hypercalcaemia. *Acta Oncol.*, 7, 2003, 735-740.
5. Atula, S., Powles, T., Paterson, A. et al.: Extended safety profile of oral clodronate after long-term use in primary breast cancer Patients. *Drug Saf.* 27, 2003, 661-671.
6. Castren-Kortekagas, P., Lyytyniemi, E., Liukko-Sipi, S., et al.: Pooling of clodronate urinary excretion data: a new pharmacokinetic method of study drugs with highly variable gastrointestinal absorption. *J. Bone Miner. Res.*, 12, 1997, 66-71.
7. Celi, M., Balducci, S., Schiappoli, A. et al.: The use of parenteral clodronate in elderly women with postmenopausal osteoporosis: compliance, effect on bone mineral density and bone turnover. *Ann. Ital. Int.*, 18, 2003, 89-98.
8. D'Amelio, P., Muratore, M., Tinelli, F., et al.: Effect of reloxifene and clodronate on bone density in postmenopausal osteoporotic woman. *Int. J. Tissue React.*, 25, 2003, 73-78.
9. Dearnaley, D. P., Sydes, M. R., Mason, M. D., et al.: A double blind placebo-controlled randomized trial of oral sodium clodronate for metastatic prostate cancer. *J. Natl. J. Cancer Inst.*, 95, 2003, s. 1300-1311.
10. Delmas, P. D.: The use of clodronate in multiple myeloma. *Bone*, 12, 1991, s.31-34.
11. Diel, I. J., Solomayer, E. F., Costa, S. D. et al.: Reduction in new metastases in breast cancer with adjuvant clodronate treatment. *N. Engl. J. Med.*, 339, 1998, s. 357-363.
12. Diel, I. J.: Bisphosphonate in the adjuvant therapy of breast cancer, *Gynekol, Geburtshilfliche Rundsch.*, 38, 1998, 64-71.
13. Elomaa, I., Kylmala, T., Tammela, T. et al.: Effect of oral clodronate on bone pain. A controlled study in patients with metastatic prostatic cancer. *Int. Urol., Nephrol.*, 24, 1992, 159-166.
14. Elomaa, I., Kylmala, T., Tammela, T. et al.: Effect of oral clodronate on bone pain. A controlled study in patients with metastatic prostatic cancer. *Int. Urol. Nephrol.*, 24, 1992, 159-166.
15. Ernst, D. S., Brasher, P., Hagen, N. et al.: A randomized controlled trial of intravenous clodronate in patients with metastatic bone disease and pain. *J. Pain Symptom Manage.*, 13, 1997, 319-326.
16. Ernst, D. S., Tannock, I. F., Winquist, E. W., et al.: Randomized, double blind controlled trial of mitoxantron/prednisone and clodronate versus mitoxantron/prednisone and placebo in patients with hormone-refractory prostate cancer and pain. *J. Clin. Oncol.*, 21, 2003, s. 3335-3342.
17. Grotz, W. H., Rump, L.D., Niessen, A et al.: Treatment of osteopenia and osteoporosis after kidney transplantation. *Transplantation*, 66, 1998 1004-1008.
18. Haderslev, K.V., Thjellesen, I., Sorensen, H. A. et al.: Effect of cyclical intravenous clodronate therapy on bone mineral density and markers of bone turnover in patients receiving home parenteral nutrition. *Amer. J. Clin. Nutr.*, 76, 2002, 482-488.
19. Herrala, J., Pouljoki, H., Liippo, K. et al.: Clodronate is effective in preventing corticosteroid-induced bone loss in a astmatic patients. *Bone*, 22, 1998, 577-582.
20. Ippoliti, G., Pellegri, C., Campana, C. et al.: Clodronate treatment of established bone loss in cardiac recipients. A randomised study. *Transplantation*, 75, 2003, 330-334.
21. Jagdev, S.P. Purohit, P., Heatley, S. et al.: Comparison of the effects of intravenous pamidronat and oral clodronate on symptoms and bone resorption in patients with metastatic bone disease. *Ann. Oncol.*, 12. 2001, 1433 – 1438.
22. Kanis, J. A. Powles, T., Paterson, A. H. et al.: Clodronate decrease the frequency of skeletal metastases in woman with breast cancer, *Bone*, 19, 1996, 663- 667.
23. Korman, K. Makinen. M., Salmi, J. et al.: Prevention of bone loss by clodronate in early postmenopausal women vertebral osteopenia: a dose finding study. *Osteoporos. Int.*, 13, 2002, 937-947.
24. Kristensen, B. Ejlersten, B. Groenvold, M., et al.: Oral clodronate in breast cancer with bone metastases: a randomised study: *J. Intern. Med.*, 246, 1999, 67-74.
25. Kylmala, T., Castren-Kortekangas, P., Scpanen, J. et al.: Effects of concomitant administration of clodronate and estramustin phosphat on their bioavailability in patients with metastasized prostate cancer. *Pharmacol. Toxicol.*, 79, 1996 s. 157-160.
26. Kylmala, T., Taube, T., Tammela, T. L. et al.: Concomitant i.v. and oral clodronate in the relief of bone pain. A double placebo controlled study in patients with prostate cancer. *Brit. J. Cancer.*, 76, 1997, 939-342.
27. Laakso, M., Lahtinen, R., Virkkunen, P. et al.: Subgroup and cost-benefit analysis of the Finnish multicentre trial of clodronate in multiple myeloma. *Finisch Leukaemia Group. Brit. J. Haematol.*, 87, 1994, s. 725-729.
28. Lahtinen, R., Laakso, M., Palva, I., et al.: Randomised, placebo controlled multicentre trial of clodronate in multiple myeloma. *Finnish leukemia Group. Lancer*, 1992, 340, s. 1049-1052.
29. Laitinen, K., Patronen, A., Harju, P. et al.: Timing of food intake has a marked effects on the bioavailability of clodronate. *Bone*, 27, 2000, s. 293-296.
30. Lapham, G., Aranko, K., Hanhijarvi, H., et al.: Bioavailability of two clodronate formulation. *Brit. J. Hosp. Med.*, 56, 1996, s. 231-133.
31. Mardiak, J., Bohunicky, L., Chovanec, J. et al.: Adjuvant clodronate therapy in patients with locally advanced breast cancer. Long term results of double blind randomized Trial. *Neoplasma*, 47, 2000, 177- 180.
32. McCloskey, E. Selby, DeTakats, D. et al.: Effect of clodronate on vertebral fracture risk in osteoporosis: a one-year interim analysis. *Bone*, 28, 2001., 310-315.
33. McCloskey, E. V., Dunn, J. A.; Kanis, J. A.; et al.: Long-term of a prospective, double-blind placebo-controlled randomised trial of clodronate in multiple myeloma., *Brit. J. Haematol.*, 113, 2001, 1035-1043.
34. McCloskey, E. V., MacLennan, I.C. Drayson, M. T. et al.: A randomized trial of the effect of clodronate on skeletal morbidity in multiple myeloma. *MRC Working Party on Leukemia in Adults. Brit. J. Haematol.*, 100, 1998, s. 317-325.
35. Morabito, N., Lasco, A.; Gaudio, A. et al.: Bisphosphonate in the treatment of thalassaemia-induced osteoporosis. *Osteoporos. Int.*, 13, 2002, 644-649.
36. Muratore, M., Santacesaria, G., Quatra, E. et al.: Prevention with clodronate of osteoporosis secondary to inhaled corticosteroids treatment in patients with chronic astmatic bronchitis. *Int. J. Clin. Pharmacol. Res.*, 20, 2003, 61-63.
37. O'Rourke, N. M., McCloskey, E., Houghton, F. et al.: Double-blind, placebo-controlled, dose response trial of oral clodronate in patients with bone metastases. *J. Clin. Oncol.*, 13, 1995, 29-34.,
38. O'Rourke, N., McCloskey, E. V., Neugebauer, G. et al.: Renal and nonrenal clearance of clodronate in patients with malignancy and renal impairment. *Drug Invest.* 7, 1994, 1, 26-33.
39. Paterson, A. H., Powles, T. J., Kanis, J. A. et al.: Double-blind controlled trial of oral clodronate in patients with bone metastases from breast cancer. *J. Clin. Oncol.*, 11, 1993, s. 59-65.
40. Peest, D., Deicher, H., Fett, W. et al.: Pyridinium cross-links in multiple myeloma: correlation with clinical parameters and use for monitoring of intravenous clodronate therapy A pilot study of the German Myeloma Treatment Group (*Eur. J. Cancer*, 32, 1996, 2053-2057.
41. Piga, A., Bracci, R., Ferretti, B. et al.: *J. Exp. Clin. Cancer Res.*: 17, 1998, 213-217.
42. Powles, T., Peterson, S., Kanis, J. A. et al.: Randomized, placebo-controlled trial of clodronate in patients with primary operable breast cancer. *J. Clin. Oncol.*, 20, 2002, S. 19-24.
43. Powles, T. J., McCloskey, E., Paterson, A. H. et al.: Oral clodronate and reduction in loss of bone mineral density in women in operable primary breast cancer. *N. Natl. Cancer. Inst.*, 90., 1998, s. 704-708.
44. Purohit, O. P., Randstone, C. R., Anthony, C. et al.: A randomised double blind comparison of intravenous pamidronate and clodronate in the hypercalcaemia of malignancy. *Brit. J. Cancer.*, 72, 1995, s. 1289-1293.
45. Ralston, S. H., Gallacher, S. J., Patel, U., et al.: Comparison of three intravenous bisphosphonate in cancer associated hypercalcaemia. *Lancet*, 18, 1989, 1180-1182.
46. Rizzoli, R., Forni, M., Sxhaad, M. A. et al.: Effects of oral clodronate on bone mineral density in patients with relapsing breast cancer. *Bone*, 18, 1996, s. 531-537.
47. Robertson, A. G., Reed, N. S.; Ralston, S. H.: Effect of oral clodronate on metastatic bone pain: a double-blind placebo controlled study. *J. Clin. Oncol.*, 13, 1995, 2427-2430.
48. Ross, J. R., Saunders, Y., Edmonds, P. M. et al.: A symptomatic review of the role of bisphosphonate in metastatic disease. *Health Technology Assessment*, 8, 2004, 4, s. 1-139.
49. Ross, J. R., Sounder, Y., Edmonds, P. M. et al.: Systematic review of role of bisphosphonate on skeletal morbidity in metastatic cancer. *Brit. Med.*, J. 14, 327, 469-479.
50. Rossini, M., Braga, V., Gatti, D. et al.: Intramuscular clodronate therapy in postmenopausal osteoporosis. *Bone*, 24, 1999, 125-129.
51. Saarto, T., Blomquist, (Dearnaley, 2003) C., Virkkunen, P. et al.: Adjuvant clodronate treatment does not reduce the frequency of skeletal metastases in node positive breast cancer patients: 5-year result of a randomized controlled trial. *J. Clin. Oncol.*, 19, 2001, 10-17.
52. Saha, H., Castren-Kortekangas, P., Ojanen, S. et al.: Pharmacokinetics of clodronate in renal failure. *J. Bone Mineral Research*, 9, 1994, 12, 1953-1958.
53. Strang, P., Nilsson, S., Brandstedt, S., et al.: The analgesic efficacy of clodronate compared with placebo in patients with painful bone metastases from prostatic cancer. *Anticancer Res.*, 17, 1997, 4717-1721.
54. Tomiska, M., Adam, Z., Prokeš, B. et al.: Bone mineral density in multiple myeloma after intravenous clodronate therapy. *Acta Med. Austriaca*, 28, 2001, s. 38-42.
55. Tubiana-Hulin, M., Beuzeboc, P., Mauriac, L. et al.: Double-blind controlled study comparing clodronate versus placebo in patients with breast cancer bone metastases. *Bull. Cancer.*, 88, 2001., 701- 707.
56. Valimaki, M. J., Laitinen, K., Patronen, A. et al.: Prevention of bone loss by clodronate in early postmenopausal women with vertebral osteopenia: a dose finding study. *Osteoporosis Int.*, 13, 2002, 937-947.
57. Varena, M., Zucchi, F., Ghiringhelli, D. et al.: Intravenous clodronate in the treatment of reflex sympathetic dystrophy. A randomized double blind placebo controlled study. *J. Rheumatol.*, 27, 2000, 1477-1483.
58. Vehmanen, L., Saarto, T., Elomaa, I., et al.: Long-term impact of chemotherapy induced ovarian failure on bone mineral density in premenopausal breast cancer patients. The effect of adjuvant clodronate treatment. *Eur. J. Cancer*, 37, 2001, 2373-2378.
59. Villikka, P., Perttunen, K., Rosnell, J. et al.: The absolute bioavailability of clodronate from two different oral doses. *Bone*, 31, 2002, s. 418 – 421.
60. Vinholes, J., Guo, C. Y., Purohit, O. P. et al.: Evaluation of new bone resorption markers in a randomised comparison of pamidronate or clodronate for hypercalcaemia of malignancy. *J. Clin. Oncol.*, 15, 1997, 131-138.
61. Yalitalo, P., Holli, K., Monkkinen, J. et al.: Comparison of pharmacokinetics of clodronate after single and repeated administration. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.*, 37, 1999, 294-300.

ZÁPIS Z JEDNÁNÍ VÝBORU ČESKÉ ONKOLOGICKÉ SPOLEČNOSTI KONANÉHO DNE 21. 9. 2004 V OLOMOUCI

Přítomni: Vorlíček, Abrahámová, Aschermannová, Cwiertka, Jelínková, Konopásek, Petruželka, Petera, Stáhalová, Stankušová, Žaloudík

Omluveni: Rob, Vyzula, Příbylová, Finek, Eckschlager

Přítomné členy výboru ČOS přivítal na jednání v zasedací místnosti děkanátu LF UP spectabilis prof. MUDr. Z. Kolář, CSc., který je rovněž členem ČOS.

1. Dr. Hajdúch referoval o výsledcích voleb do nově vzniklé Sekce diagnostické a prediktivní onkologie, z 45 členů SDPO volilo 39, z prvních pěti členů s nejvyšším počtem hlasů se funkce ve výboru sekce vzdali prof. Žaloudík (20), dr. Cwiertka (19) a prof. Kolář (13). Výbor SDPO byl tedy zvolen ve složení Dr. Hajdúch (37), doc. Ehrman (20), Dr. Petráková (19), dr. Janků (14) a dr. Netočný (13).
2. Podle požadavku MZD bude za ČOS do komise pro revizi vyhlášky o lázeňské péči delegován dr. Vladimír Mach, onkolog a lékařský ředitel Františkových Lázní, člen ČOS.
3. Pro medializaci podpory Nadace Běhu T. Foxe onkologickému výzkumu se organizátorce BTF v organizaci Sokol p. H. Wichové ohlásí nositelé grantů dr. Tesařová (Praha) a dr. Hajdúch (Olomouc). Zajistí doc. Petruželka a dr. Cwiertka.
4. Výbor ČOS vzal na vědomí oznámení Krajského úřadu Karlovarského kraje o obsazení funkce klinického onkologa v Sokolově MUDr. Petrem Frydrychem.
5. Výbor ČOS vyslechl návrh na Roční analytické studie v onkologii (RASO) jako pravidla využití prostředků Běhu Terry Foxe rozdělovaných v gesci ČOS. Členové výboru souhlasí s vyhlášením soutěže za podmínek, které jsou uvedené v příloze tohoto zápisu, aby pravidla mohla fungovat pro rozdělování grantů BTF již v tomto roce. Vyhlášení soutěže a pravidla budou publikována v časopise Klinická onkologie a na www stránkách ČOS.
6. Předseda prof. Vorlíček informoval o dopise Českého svazu žen ZO Olomouc, který nabízí součinnost v primární i sekundární prevenci karcinomu prsu. Pro kontakt s touto organizací jsou určeni především olomoučtí onkologové, tedy prof. Macháček, za výbor ČOS pak dr. Cwiertka.
7. Na jednání výboru ČOS se dostavili zástupci České urologické společnosti prof. Pacík z Brna a doc. Fiala z Olomouce k projednání účasti urologů na Národním onkologickém programu. Došlo k dohodě o přístupu ke zlepšení časné diagnostiky karcinomu prostaty ve spolupráci s praktickými lékaři, došlo ke shodě, že nejsou podmínky pro formu screeningu. Problém je především s akceptací proplácení preventivních vyšetření, včetně PSA, u VZP. Dále bylo jednáno o kategorizaci LHRH agonistů v léčbě karcinomu prostaty, což se týká zhruba 500 pacientů ročně. Bylo upozorněno, že z pohledu onkologů jde také o indikace u premenopauzálních žen s karcinomem prsu. Existuje shoda, že v kategorizaci léku jsou rezervy obecně a potřebný je soustředěný tlak několika odborných společností, a to jak zařazování nových, tak na vyřazování méně zdůvodněných preparátů. Byla ustavena pracovní skupina pro řešení problematiky onkologie doc. Fiala, doc. Odrážka, doc. Abrahámová, která podá zprávu o připravených materiálech do příští výborové schůze.
8. Do akreditační komise pro nový systém atestačního vzdělávání podle Zák. 95/2004 jsou za ČOS navrženi prof. Vorlíček, doc. Vyzula a doc. Petruželka.
9. Prof. Žaloudík seznámil přítomné s návrhem jednostránkového materiálu vzešlý z MOÚ a v důsledku porady na MZD

jako návodu praktikům, který se jmenuje Naše ordinace přispívá k boji s rakovinou a sumarizuje úkoly a možnosti první linie v naplňování Národního onkologického programu. Tento jednostránkový návod má být vyvěšen v ordinacích a je vlastně informací pro pacienty a klienty co mohou od praktika očekávat.

10. Prim. Stankušová informovala o aktivitách Centra pro správu doporučených postupů pro praktické lékaře Společnosti všeobecného lékařství. Kontaktem pověřen za ČOS doc. Vyzula a prof. Žaloudík.
11. Pro žesání požadavků vedoucí odboru zdravotnictví Magistrátu hlavního města Prahy ve věci koncepce onkologických činností pověřen výborem doc. Petruželka.
12. Byla vedena rozsáhlá diskuse o další účasti onkologů ve zkvalitňování NOR, nadále existuje shoda na potřebě revize a rekonstrukce základních principů a metodologie NOR. Výbor ČOS podporuje vedení nové Rady NOR s předsedkyní doc. Abrahámovou, místopředsedou dr. Novákem a dr. Beškou.
13. Výbor ČOS vzal na vědomí obsah projektu Mgr. Spurné, který má zkoumat kvalitu života pracovníků v onkologii.
14. Výbor ČOS schválil přijetí nových členů Dr. Mirossaye (SR – Košice), dr. Štanlichová (Klatovy), dr. Pospíšilová (Brno).
15. Byl projednán stav šíření a naplňování Národního onkologického programu.
16. Doc. Petruželka upozornil na některé kontroverze ve vydání Zásadách cytostatikové léčby maligních onkologických onemocnění. Připomínky je třeba dodat písemně předsedovi ČOS pro korekci příštího vydání, které se plánuje k 1. 7. 05.
17. Prof. Žaloudík připomněl za výkonnou redakční radu časopisu Klinická onkologie členům výboru ČOS, aby na svých pracovištích a v okruhu svého vlivu více podporovali vyšší publikační aktivitu v časopise Klinická onkologie. Vyzýváme k této publikační činnosti všechny členy ČOS.

Další schůze výboru ČOS se koná ve středu 27. 10. 2004 v 10 h v Brně, LF Kamenice 3 (v sousedství FN Brno-Bohunice).

ČESKÁ ONKOLOGICKÁ SPOLEČNOST (ČOS) za podpory prostředků získávaných v rámci každoroční akce **Běh Terry Foxe (BTF)** a organizace **Sokol** oznamuje **VYHLÁŠENÍ A PODMÍNKY SOUTĚŽE O GRANTOVOU PODPORU KLINICKÉHO ONKOLOGICKÉHO VÝZKUMU**

*Název soutěže: Roční analytické studie v onkologii (RASO ČOS).
Tematické zaměření projektů:* Hodnocení relevantního objemu klinických dat či vzorků získaných na tuzemských pracovištích, které je proveditelné v průběhu jednoho roku z retrospektivního materiálu, případně prospektivně, a které může přinést zjištění s praktickým dopadem pro onkologii. Předpokládají se především konsistentní hodnocení léčebných výsledků s dopadem pro další onkologickou praxi a studie z oblasti prediktivní onkologie, podporující zavádění nových metod v diagnostice, léčbě a prevenci nádorů.

Výše jednoho grantu: 100 000 - 200 000 Kč (pouze neinvestiční prostředky - spotřební materiál, odměny, nelze plánovat investice a cestovné).

Doba trvání grantu: 1 rok.

Počet ročně udělených grantů: v závislosti na získaných prostředcích z BTF.

Vyhlášení soutěže: 1. 10. 2004.

Odevzdání dvoustránkových přihlášek: do 31.10. 04 na adresu předsedy ČOS.

Zasedání hodnotitelské komise ČOS: listopad 04.

Vyhlášení výsledků soutěže: prosinec 04.