

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
tel., fax: 543 134 226
Přijetí příspěvků:
e-mail: vukfait@centrum.cz
e-mail: bousa@mou.cz

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
HÁJEK ROMAN
KOCÁK IVO

VALÍK DALIBOR
VORLÍČEK JIŘÍ
ŽALOUdÍK JAN

REDAKČNÍ RADA:

ADAM ZDENĚK, Brno
BABUŠÍKOVÁ OLGA, Bratislava
BEDNAŘÍK OTAKAR, Brno
BILDER JOSEF, Brno
ČOUPEK PETR, Brno
DRBAL JOSEF, Brno
ECKHARDT SANDOR, Budapešť
FAIT VUK, Brno
HÁJEK ROMAN, Brno
JURGA LUDOVIT, Trnava
KALLAY JOZEF, Bratislava
KAUŠITZ JURAJ, Bratislava
KLAŠTERSKÝ JAN, Brusel
KLENER PAVEL, Praha
KOCÁK IVO, Brno
KOUTECKÝ JOSEF, Praha

KOVAŘÍK JAN, Brno
KOZA IVAN, Bratislava
MAYER JIŘÍ, Brno
MECHL ZDENĚK, Brno
NĚMEC JAROSLAV, Brno
ONDRUŠ DALIBOR, Bratislava
PAČOVSKÝ ZDENĚK, Brno
PLEŠKO IVAN, Bratislava
PETRUŽELKA LUBOŠ, Praha
REJTHAR ALEŠ, Brno
SPURNÝ VLADIMÍR, Brno
UJHÁZY VILIAM, Bratislava
VORLÍČEK JIŘÍ, Brno
VYZULA ROSTISLAV, Brno
WAGNEROVÁ MÁRIA, Košice
ŽALOUdÍK JAN, Brno

Přehled	
Ablorsu E., Kothaj P. Súčasnité postavenie chirurgie v liečbe pečeneňových metastáz kolorektálneho karcinómu.	121
Krkavcová M., Jančárková N., Janashia M., Křítková A., Pexidrová M., Kohoutová M Detekce a výskyt chromozomálných aberací u zhoubných nádorů děložního hrdla a vaječníku.	124
Pavelka Z., Zitterbart K. Medulloblastom (pnet) u dětí - současné možnosti diagnostiky a léčby	130
Původní práce	
Petrlová J., Blašík O., Průša R., Kukačka J., Mikelová R. Stiborová M., Vojtěšek B., Adam V., Zítka O., Eckschlager T., Kizek R Analýza obsahu metallothioneinu u pacientů se zhoubným nádorem prsu, tlustého střeva a nebo Melanomem	138
Sedláková I., Vávrová J., Tošner J., Hanousek L. Lysosofosfatidová kyselina u pacientek s ovariálním karcinomem	143
Bartoňková H., Standara M., Schneiderová M., Fait V., Demlová R. Ultrazvuková topografie axilly	147
Sdělení	
Filip S., Mokřý J., Petera J., Kmenové buňky, nádorové kmenové buňky a karcinogeneze	149
Zprávy	
Horová H., Novotný T. 15. Konference dětských hematologů a onkologů ČR a SR	153
Nekulová M., 33.kongres ISOBM	153
Dubská L., International Symposium on Translational Research: Apoptosis & Cancer, Trivandrum, 18-21 prosinec 2005.	154
Mouková L., 9.Bauerův den	155
Informace	157
Recenze	137
Onkologické společnosti	158

CONTENTS

2 / 2006

Reviews	
Ablorsu E., Kothaj P., Current role of surgery in treatment of liver metastases from colorectal cancer	121
Krkavcová M., Jančárková N., Janashia M., Křítková A., Pexidrová M., Kohoutová M. Detection and occurrence of the chromosomal aberrations in malignant tumours of cervix and ovary	124
Pavelka Z., Zitterbart K., Medulloblastoma (PNET) in children - present management	130
Original publications	
Petrlová J., Blašík O., Průša R., Kukačka J., Mikelová R. Stiborová M., Vojtěšek B., Adam V., Zítka O., Eckschlager T., Kizek R. Determination of metallothionein content in patients with breast cancer, colon cancer, and malignant melanoma	138
Sedláková I., Vávrová J., Tošner J., Hanousek L., Lysophosphatidic acid in ovarian carcinoma patients	143
Bartoňková H., Standara M., Schneiderová M., Fait V., Demlová R., Ultrasound Topography of the Axilla	147
Communications	
Filip S., Mokřý J., Petera J., Stem cells, tumor stem cells and carcinogenesis	149
Report	
H. Horová, T. Novotný, 15 th Conference of pediatric hematologists and oncologists of the Czech Republic and the Slovak Republic	153
M. Nekulová, The XXXIII Meeting of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine (ISOBM)	153
L. Dubská, International Symposium on Translational Research: Apoptosis & Cancer, Trivandrum, December 18-21, 2005	154
L. Mouková, The 9 th Bauer's Day - Controversy in oncology: cervical cancer prevention, screening, vaccination	155
Notification	157
Oncological associations	158

SÚČASNÉ POSTAVENIE CHIRURGIE V LIEČBE PEČEŇOVÝCH METASTÁZ KOLOREKTÁLNEHO KARCINÓMU

CURRENT ROLE OF SURGERY IN TREATMENT OF LIVER METASTASES FROM COLORECTAL CANCER

ABLORSU E., KOTHAJ P.

CHIRURGICKÁ KLINIKA FNŠP F.D.ROOSEVELTA BANSKÁ BYSTRICA

Sumár: Najčastejším miestom lokalizácie vzdialených metastáz kolorektálneho karcinómu je pečeň. V nej môžu byť prítomné izolované alebo mnohopočetné ložiská. Z hľadiska resekcie, ako aj manažmentu celkovej liečby, môžeme metastatické postihnutie pečene rozdeliť na izolované, viacpočetné a inoperabilné. Základom liečby izolovaných metastáz je resekcia pečene. Vďaka technike „bezkrvavej“ resekcie pečene je možné minimalizovať rozsah resekcie, vykonaním neanatomickej resekcie, ako aj operáciu za asistencie laparoskopie. V kombinácii s adjuvantnou onkologickou liečbou má ešte lepšie výsledky. Pacienti s prítomnými viacpočetnými metastázami v pečeni boli v minulosti kontraindikovaní k resekcii. Vďaka pokroku v chirurgii, onkológii, rádiológii sa aj títo pacienti stali kandidátmi resekčného výkonu, tzv. „dvojstupňovej resekcie pečene“. Tento liečebný postup preukázateľne zlepšuje výsledky dlhodobého prežívania. V skupine pacientov s inoperabilnými metastázami je doporučená len paliatívna onkologická a rádiologická liečba.

Kuratívna alebo non-kuratívna resekcia pečene, u indikovanej skupiny pacientov, síce prináša benefit v zmysle lepšieho prežívania, ale dobré výsledky sa docielia len komplexnou, multimodálnou liečbou v spolupráci chirurga, onkológa a rádiológa.

Kľúčové slová: pečenné metastázy kolorektálneho karcinómu, resekcia pečene, multimodálna liečba

Summary: Liver is the predominant location of distant metastases from colorectal cancer. The metastatic foci can be isolated or multiple. From the point of view of the liver resection as well as the overall treatment management, the metastatic liver diseases may be divided into the three groups: isolated, multiple, and non-resectable. The treatment of isolated liver metastases is based on resection. Due to the „bloodless“ liver resection technique it is possible to minimize the resection size, perform a non-anatomical resection as well as a laparoscopically assisted surgery. Surgery provides better results in combination with oncological treatment. Historically, resections were not indicated in patients with multiple liver metastases. Due to development in surgery, oncology, and radiology, these patients now also represent liver resection candidates, namely for the „two-stage resection“. This therapeutic procedure has improved long-term survival. In the group of patients with non-resectable liver metastases only palliative oncology and radiology treatment is recommended.

Curative and non-curative liver resections are beneficial and improve survival in selected patients. Good results may be achieved only by complex multimodal treatment based on cooperation of a surgeon, an oncologist, and a radiologist.

Keywords: Liver metastases from colorectal cancer, liver resection, multimodal treatment

Úvod

V čase diagnostiky kolorektálneho karcinómu, 20% (25) pacientov má prítomné vzdialené metastázy (synchronne). Z toho počtu, až u 25% prípadov sú lokalizované v pečeni. Ďalším 20-50% (1) pacientom sa vytvoria pečenné metastázy v období po resekcií primárneho tumoru hrubého čreva (metachróne).

Pri diseminácii kolorektálneho karcinómu pečeň môže byť postihnutá prítomnosťou izolovaných alebo mnohopočetných metastáz. Mnohopočetné postihnutie pečene, sa na základe počtu, lokalizácie a veľkosti metastáz, rozdeľuje na štyri typy. (7)

typ A: mnohopočetné metastázy v jednom laloku a v jednom segmente

typ B: mnohopočetné, metastázy veľkosti viac ako 2 cm, lokalizované v jednom laloku alebo v troch segmentoch.

typ C: mnohopočetné, difúzne, metastázy oboch lalokov, menšie ako 2 cm

typ D: metastázy veľkosti viac ako 2 cm, v oboch lalokoch alebo v každom segmente.

Prítomnosť a rozsah hepatálnych a extrahepatálnych metastáz kolorektálneho karcinómu, určuje manažment liečby ako aj celkové prežívanie pacientov.

Diskusia

Za „zlatý štandard“ v liečbe pečenných metastáz kolorektálneho karcinómu je považovaná resekcia pečene. Z celkové-

ho počtu pacientov s týmto ochorením, len 10-25% (1,21), 15-25 (24) spĺňa indikačné kritériá k resekcijnému výkonu: (1,17)

1. kuratívna resekcia primárneho tumoru hrubého čreva
2. neprítomnosť extrahepatálnych metastáz
3. menej ako 4-5 metastáz v pečeni (19)
4. postihnutie len jedného laloku pečene
5. možnosť vykonania kuratívnej resekcie pečene, so zachovaním 10 mm bezpečnostného lemu
6. ponechanie dostatočnej funkčnej kapacity pečene.

Zvyšných 90% pacientov (21) sú indikovaní len k paliatívnej liečbe. V dôsledku pokroku chirurgie, onkológie a rádiológie, časť týchto pacientov sa stala kandidátmi resekcijného výkonu v dôsledku zmeny indikačných kritérií: (27)

- vykonanie kuratívnej resekcie extrahepatálnych metastáz (5)
- odstránenie viacpočetných metastáz pečene jednou alebo viacerými resekciami
- non-kuratívna resekcia pečene s ponechaním minimálneho množstva malígneho tkaniva (3,4)
- ponechanie maximálneho objemu funkčného parenchýmu pečene v dôsledku predoperačnej hypertrofie parenchýmu a minimalizácii resekcijného výkonu

V súčasnosti je resekcia pečene spojená s poklesom peroperačnej morbidity na 0,8% (22) až 5% (20). Je to aj v dôsledku vývoja v chirurgii. Jedným z hlavných faktorov je zavedenie nových operačných nástrojov (CUSA - Cavitron Ultrasonic Surgical Aspirator, RFA - radiofrekvenčná ablácia, Harmonický skalpel, Water-Jet Dissector, floating ball, Habib sealer, LigaSure, Argon Plasma Coagulator). Tie v dôsledku účinnej koagulácie vytvorili tzv. techniku „bezkrvavej“ resekcie, ktorá celkovo uľahčila a urýchlila resekcijný výkon.

Zavedenie tejto techniky následne dopomohlo k rozvoju dvoch základných postupov v chirurgii pečene. Vysoká účinnosť koagulácie, redukovala počet krvácajúcich komplikácií, tým sa stali najmä neanatomicke resekcie, menej rizikové. Ich použitie je prospešné najmä pri odstraňovaní viacpočetných lézií, kedy namiesto rozsiahlej, anatomickej, resekcie pečene sa použije niekoľko malých neanatomických resekcií. Výhodou je zachovanie väčšieho množstva funkčného parenchýmu pečene.

Resekcia pečene za asistencie laparoskopie, je ďalšou metódou, ktorá vychádza práve z tejto techniky. V súčasnosti ide o plne akceptovanú chirurgickú metódu s presne definovanými indikačnými kritériami, ku ktorým patria: (28)

1. solitárne benígne a malígne tumory a cystické lézie
2. lézie lokalizované periférne a povrchovo v segmentoch II,III, IVB,V,VI
3. lézie veľkosti do 5 cm, pri zachovaní minimálnej resekcijnej hranici 10mm a benígne cystické lézie veľkosti do 10 cm.

Izolované lézie pečene

Do tejto skupiny patria pacienti, s nálezom solitárnych metastáz kolorektálneho karcinómu pečene, ktoré sú odstrániteľné kuratívnou anatomickou alebo neanatomickou resekciou pečene. Podmienkou je odstránenie tumoru s minimálne 10 mm lemom resekcijnej hranice. (1)

Niekoľko štúdií (1,6,8,18) potvrdilo, že u pacientov s týmto ochorením je resekcia pečene najefektívnejšou liečbou, s dokázateľným predĺžením dlhodobého prežívania. Päť ročné prežitie po resekcii pečene sa popisuje 20-30% (19), 24-38% (1,26), 34 (2), 25-46% (9), 40% (20). Ide o neporovnateľne lepšie výsledky v porovnaní s rovnakou skupinou pacientov, ktorí sa nepodrobili resekcijnému výkonu. U týchto pacientov je prežitie menšie ako 2-5%. Ak sa však chirurgická liečba skombinuje s adjuvantnou liečbou (chemoterapia, imunoterapiou) (20), výsledky dlhodobého prežívania sa ešte viac zlepšia.

Viacpočetné lézie

Pacienti, u ktorých sa nachádza niekoľko metastatických ložísk v pečeni boli niekedy kontraindikovaní k resekcijnému výkonu. Jedným z dôvodov bola hroziaca pooperačná hepa-

tálna insuficencia pri ponechaní nedostatočného množstva funkčného parenchýmu pečene po kuratívnej resekcii. Ďalším limitujúcim faktorom bola možnosť vykonania kuratívnej resekcie pri ponechaní malígneho tkaniva v pečeni. Títo pacienti sa v súčasnosti stali kandidátmi tzv. „dvojstupňovej resekcie pečene“ (4), ktorej zavedenie zvýšil počet operabilných nálezov o 15% (4,9,23), ako aj percento 5-ročného prežívania (9,21). Podstatou „dvojstupňovej resekcie pečene“ (3) je v prvom kroku vykonanie „down staging“ malígneho ochorenia neoadjuvantnou chemoterapiou, alebo zváženie funkčného parenchýmu pečene v dôsledku hypertrofie, následkom intraportálnej embolizácie. Ďalším krokom je kuratívna (RO) alebo non-kuratívna resekcia (s ponechaním malígneho tkaniva vo zvyšnom parenchýme pečene - kontralaterálny lalok, resekcijná línia). Po regenerácii pečene a pacienta sa pokračuje adjuvantnou liečbou. Tu je k dispozícii systémová chemoterapia, lokálna intraartériálna chemoterapia (a.hepatica), „in situ“ ablácia, mikrosféry. Tá je zameraná na liečbu rezíduí v pečeni, rekurencie ochorenia ako aj vznik vzdialených metastáz (najmä pľúcnych).

Nereseekabilné lézie

K nereseekabilným nálezom zaraďujeme pacientov s mnohopočetnými metastázami postihujúcimi obidva laloky, alebo s izolovanými metastázami uloženými pri hlavných pečenných štruktúrach, ktorých lokalizácia neumožňuje resekciu.

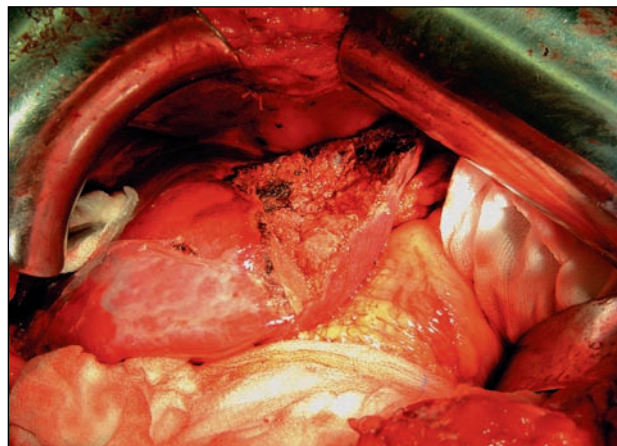
Nereseekabilné pečenné metastázy sú rezistentné k rádioterapii a imunoterapii. Nádejou je systémová chemoterapia a lokálna intraartériálna chemoterapia, intraartériálna hepatická chemoembolizácia, aplikácia rádioaktívnych mikrosfér (ytrium-90), (18, 23) Aj napriek tomu, že ide o paliatívnu liečbu u pokročilého ochorenia, napomáha k predĺženiu prežívania pacientov. (16)

Záver

Resekcia pečene je dlhodobý „zlatý štandard“ v liečbe izolovaných pečenných metastáz kolorektálneho karcinómu s nízkou morbiditou a mortalitou. V kombinácii s adjuvantnou liečbou (chemoterapia, imunoterapia, monoklonálne protilátky proti vaskulárnemu endoteliálnemu rastovému faktoru) dokázateľne predlžuje dlhodobé prežitie pacientov. (8)

Počet nereseekabilných nálezov sa zvýšil v dôsledku zavedenia „dvojstupňovej resekcie pečene“, u ktorej sa tiež dokázal pozitívny vplyv na prežitie pacientov.

Nezávisle na tom o aké metastatické postihnutie pečene ide, len komplexná, multimodálna liečba (chirurgická, onkologická, rádiologická) zabezpečí dobré výsledky terapie.

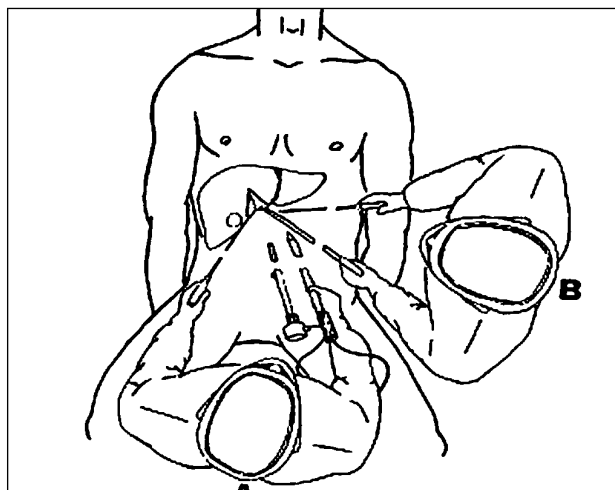


Obr. 1.: Technika „nekrvavej“ resekcie pečene

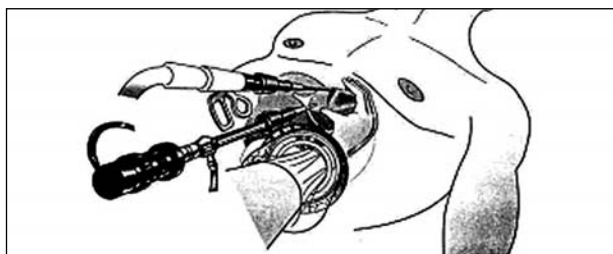
a) Resekčná plocha, bez známok krvácania, po neanatomickej resekcii II-III segmentu pečene, za asistencie RFA (radiofrekvenčnej ablácie)



b) Resekcia za asistencie Harmonického skalpela



Obr. 2. Postavenie pri laparoskopickej resekcii pečene.



Obr. 3. Laparoskopická „hand assisted“ resekcia pečene.

Literatúra

1. Yoon SS, Tanabe KK. Surgical Treatment and Other Regional Treatments for Colorectal Cancer Liver Metastases. *Oncologist* 1999; 4:197-208
2. Nicoli N, Casaril A, Mangiate G, Ciola M, Hilal MA, Marchiori L. Surgical treatment for liver metastases from colorectal carcinoma: results of 228 patients. *Hepatogastroenterology* 2004; 51(60): 1810-4
3. Sekido H, Ike H. Two-stage hepatectomy for multiple bilobular liver metastases from colorectal cancer. *Hepatogastroenterology* 2005; 52(63): 913-9
4. Azoulay D, Castaing D. Two-stage hepatectomy: A planned strategy to treat irresectable liver tumors. *Ann Surg* 2000; 232(6): 777-785
5. Elias D, Libérale G, Vernerey D, Pocard M, Ducreux M, Boige V, Malka D, Pignon JP. Hepatic and extrahepatic colorectal metastases: when respectable, their localization does not matter, but their total number has a prognostic effect. *Ann Surg Oncol* 2005; 12(11):900-909
6. Ciferri E, Bondaza GS, Municino O, Castagnola M, Gazzaniga GM. Colorectal cancer metastases: surgical indications and multimodal approach. *Hepatogastroenterology* 2003; 50(54): 1836-46
7. Togo S, Yamaguchi S. Is hepatic resection for multiple liver metastases from colorectal carcinoma acceptable treatment? *Hepatogastroenterology* 2001; 48(39): 803-807
8. Vecchio R. New trends in the surgical treatment of colorectal cancer liver metastases. *Tumori* 1998; 84(3): 281-288
9. Choti MA, Bulkley GB. Management of hepatic metastases. *Liver Transplant Surg* 1999; 1:65-80
10. Turrini O, Guiramand J, Moutardier V, Viret F, Bories E, Giovannini M, Mokart D, Blache JL, Delpero JR. Major hepatectomy for metastasis of colorectal cancer improves survival in the elderly. *Ann Chir* 2005; 130(9): 562-565
11. Petrowsky H, Mithat G, Jarnagin W, et al. Second liver resections are safe and effective treatment for recurrent hepatic metastases from colorectal cancer. *Annals of Surgery* 2002; 235:863-871
12. Abdalla EK, Vauthey JN, Broglio KR, Curley SA. Recurrence and outcomes following hepatic resection, radiofrequency ablation, and combined resection/ablation for colorectal liver metastases. *Ann Surg* 2004; 239(6): 818-825
13. Scaife CL, Izzo F, Marra P, Delrio P, Daniele B, Cremona F, Gershenwald JE, Patta YZ, Fornag BD, Woodalla ML. Feasibility of adjuvant hepatic arterial infusion of chemotherapy after radiofrequency ablation with or without resection in patients with hepatic metastases from colorectal cancer. *Ann Surg Oncol* 2003; 10(4): 348-354
14. Kemeny MM, Adak S, Gray B, Lipsitz S, Sigurdson ER, O'Dwyer PJ. Combined-modality treatment for resectable metastatic colorectal carcinoma to

- the liver: surgical resection of hepatic metastases in combination with continuous infusion of chemotherapy: an intergroup study. *J Clin Oncol* 2002; 20(6): 1499-1505
15. McMasters KM. Morbidity of adjuvant hepatic arterial infusion pump chemotherapy in the management of colorectal cancer metastatic to the liver. *Am J Surg* 2004; 188(6): 714-721
16. Heslin MJ, Alderete J, Urist MM. Colorectal hepatic metastases: resection, local ablation, and hepatic artery infusion pump are associated with prolonged survival. *Arch Surg* 2001; 136(3): 318-323
17. Alberts S, Figueras J, Kunstlinger F, Mentha G, Nordlinger B, Patt Y, Roh M, Rougier P, Ruers T, Schmoll HJ, Valls C, Cornelis M, Kahan JP. Onco-Surge: a strategy for improving resectability with curative intent in metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2005; 23(28): 7125-7134
18. Changchien CR. Combining systemic chemotherapy with chemoembolization in the treatment of unresectable hepatic metastases from colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis* 2005; 8:
19. Pignol JP, Lasser P. Hepatic and extrahepatic colorectal metastases: when resectable, their localization does not matter, but their total number has a prognostic effect. *Ann Surg Oncol* 2005; 12(11): 900-909
20. Bentrem DJ, Dematteo RP, Blumgart LH. Surgical therapy for metastatic disease to the liver. *Annu Rev Med* 2005; 56:139-156
21. Farabos C, Waechter F, Majno P, Engerran L. Resection of nonresectable liver metastases from colorectal cancer after neoadjuvant chemotherapy. *Ann Surg* 1996; 224(4): 509-520
22. Cavallari A, Vivatelli M, Bellusci R, Montalti R, De Ruvo N, Cucchetti A, De Raffele E, Salone M, La Barbara G. Liver metastases from colorectal cancer: present surgical approach. *Hepatogastroenterology* 2003; 50(54): 2067-2071
23. Fusai G, Davidson BR. Management of colorectal liver metastases. *Colorectal Dis* 2003; 5(1): 2-23
25. Audisio R, Setti-Carraro P, Segala M, et al. Follow-up in colorectal cancer patients: a cost-benefit analysis. *Ann Surg Oncol* 1996; 3:349-357
26. Fog Y, Cohen AM, Fortner JG et al. Liver resection for colorectal metastases. *J Clin Oncol* 1997; 15:938-946
27. Fernandez-Trigo V, Shamsa F, Sugarbaker PH. Repeat liver resection From colorectal metastases. *Surgery* 1995; 117:296-304
28. Cherqui D, Husson E, Hammoud R, Mmalassagne B, et al. Laparoscopic Liver Resections: A Feasibility Study in 30 Patients. *Ann Surg* 2000; 232: 753-61

Došlo: 29. 11. 2005
Prijato: 12. 12. 2005

DETEKCE A VÝSKYT CHROMOZOMÁLNÍCH ABERACÍ U ZHOUBNÝCH NÁDORŮ DĚLOŽNÍHO HRDLA A VAJEČNÍKU

DETECTION AND OCCURENCE OF THE CHROMOSOMAL ABERRATIONS IN MALIGNANT TUMOURS OF CERVIX AND OVARY.

KRKAVCOVÁ M.¹, JANČÁRKOVÁ N.², JANASHIA M.¹, KRÍTKOVÁ A.¹, PEXIDROVÁ M.¹,
KOHOUTOVÁ M.¹

¹ÚSTAV BIOLOGIE A LÉKAŘSKÉ GENETIKY I.LF UK A VFN V PRAZE

²GYNEK.-POROD. KLINIKA I.LF UK A VFN V PRAZE

Souhrn: Karcinom děložního hrdla je druhým nejčastějším zhoubným nádorem u žen v celosvětovém měřítku. I přes dobře definované a známé přednádorové stavy a dostupné metody jejich detekce je výskyt tohoto nádoru stále vysoký. V etiologii hraje významnou roli HPV (human papilloma virus) infekce. Incidence tohoto nádoru v České republice je daleko vyšší než v ostatních rozvinutých zemích. Karcinom ovaria je onemocnění s nejvyšší mortalitou mezi gynekologickými zhoubnými nádory. Etiologie není zcela známá, předpokládá se mnoho-
stupňový proces spojený s nahromaděním genetických změn postihující onkogeny, tumor-supresorové geny a mutátorové geny, které hrají klíčovou roli v buněčné regulaci. Cytogenetické a molekulárně genetické charakteristiky nádorů v korelaci s ostatními molekulárně biologickými parametry upřesňují znalosti o karcinogenezi. Konečným cílem je vytvoření prediktivního modelu pro klinickou praxi. V článku je podán přehled současných znalostí o genetických aspektech cervikálních a ovariálních karcinomů.

Klíčová slova: karcinom děložního hrdla, karcinom ovaria, chromozomální aberace, genetické alterace, cytogenetika.

Summary: Cancer of the cervix is the second most common cancer among women worldwide. In spite of well-defined premalignant lesions as well as available and effective methods of their detection, the incidence of the tumour is still high. The incidence of cervical cancer in Czech women is much higher than in other developed countries. Ovarian cancer represents the most lethal malignancy among gynecological tumours. Etiology is still largely unknown. A multistep process is supposed, with accumulation of genetic alterations concerning factors with key role in cell regulation - oncogenes, tumor-suppressor genes and mismatch-repair genes.

Cytogenetic and molecular genetic characteristics of the tumours in correlation with other molecular biological parameters increase knowledge of carcinogenesis. The final aim is to create a predictive model for clinical practice. The review presents contemporary information about genetic aspects of cervical and ovarian cancer.

Key words: cervical carcinoma, ovarian carcinoma, chromosomal aberrations, genetic alterations, cytogenetics.

Cytogenetické a molekulárně biologické markery u solidních nádorů představují nový prvek v klinické onkologii posledních let. Jejich význam spočívá v tom, že umožňují hlubší poznání nádoru samotného a jeho charakteristik. Implementace těchto poznatků jak směrem diagnostickým, tak i směrem terapeutickým by měla vést k uplatnění preciznějších a více individualizovaných postupů v oblasti detekce, skríningu, predikce, prognózy a také monitorování aktivity nádorového onemocnění (1).

Karcinom děložního hrdla představuje druhý nejčastější zhoubný nádor u žen v celosvětovém měřítku. Ročně je diagnostikováno přibližně 470 000 nových případů onemocnění, 230 000 žen v souvislosti s tímto onemocněním umírá. Více než 80% případů se vykytuje v rozvojových zemích. Pětileté přežití dosahuje až 70% žen, v rozvojových zemích pouze 40% žen. I přesto, že existují dobře definovaná, relativně dlouho se

vyvíjející a léčitelná předstadiá a poměrně spolehlivé a dostupné metody jejich detekce (kolposkopie, onkologická cytologie), velký počet nádorů je diagnostikován v pokročilých stádiích. Významným faktorem ve vývoji cervikálního karcinomu je infekce onkogenním typem lidského papilomaviru (HPV). Místo integrace HPV je významné pro studium genomických oblastí vedoucích k HPV indukované patogenezi. Nejčastějším histopatologickým typem je dlaždicobuněčný karcinom, který představuje až 85% případů, podstatně menší skupinu tvoří adenokarcinomy, výskyt neepitelových nádorů je sporadický. Incidence nádoru v České republice je mnohem vyšší než v jiných rozvinutých zemích.

Zhoubné nádory ovaria patří mezi nejčastější příčiny úmrtí na gynekologické zhoubné nádory a představují přibližně 30% všech nádorů ženské reprodukční soustavy. V úmrtnosti na všechny zhoubné nádory žen zaujímají 4. místo. Ve více než

75% případů je toto onemocnění diagnostikováno v pokročilých stadiích. Nejsou definované přednádorové stavy. Neexistuje efektivní screening. I přes vysoké procento léčebných odpovědí na primární léčbu dochází u více než 80% případů k recidivám. Ročně je ve světě diagnostikováno přibližně 190 000 nových případů ovariálního karcinomu, úmrtí v souvislosti s tímto nádorem je evidováno ročně asi 114 000. Převážná část ovariálních zhoubných nádorů je původem z povrchového epitelu, patří mezi ně karcinom serózní, mucinózní, endometroidní, mezonefroidní a vzácný Brennerův tumor. Neepitelové nádory včetně germinálních tumorů, nádorů ze zárodečných pruhů a metastatické nádory jsou méně časté (2). Ovariální nádory se ve většině případů vyskytují u žen sporadicky, bez pozitivní rodinné anamnézy. Maligní transformace je zde vyvolána pouze somatickými mutacemi. V nádorové tkáni mohou být mutovány jak protoonkogeny, tak tumor-supresorové geny nebo mutátorové geny. Jenom malá část všech karcinomů ovaria (5- 10%) je geneticky podmíněna.

Hereditární karcinom se vyskytuje jako součást jednoho ze tří autozomálně dominantních syndromů: 1. vlastní familiární ovariální karcinom, 2. familiární karcinom prsu a ovaria 3. syndrom hereditárního nepolypozního kolorektálního karcinomu a karcinomu ovaria (HNPCC) (3, 4, 5, 6).

Celkové pětileté přežití žen se zhoubným nádorem ovaria (pro všechna stadia) představuje v Evropě 32%, u pokročilých stadií ovšem nepřekračuje 20%.

Mohutný rozvoj molekulární biologie a genetiky v posledních dvou desetiletích umožnil díky novým poznatkům objasnit celou řadu mechanismů účastnících se při vzniku procesu nádorové transformace a regulačních pochodů spojených s abnormálním růstem a proliferací buněk. Tyto objevy umožňují přesunout pozornost od epidemiologických dat a klinických pozorování k důkladnějšímu a hlubšímu poznání nádoru samotného a jeho biologických parametrů. To by v konečném důsledku mělo vést ke zvýšení efektivity onkologické léčby. Je pravděpodobné, že i dosavadní léčebný arzenál aplikovaný cíleně podle biologických charakteristik má stále značný potenciál zlepšit léčebné výsledky (7).

Samotný proces vzniku a vývoje nádoru je ve všech případech multifaktoriální a vícestupňový proces. Zásadní význam při vzniku nádorových onemocnění mají následující skupiny genů: protoonkogeny a tumor-supresorové geny, které ovlivňují regulaci buněčného cyklu, mutátorové geny, které kontrolují stabilitu buněčného genomu a také geny ovládající programovanou buněčnou smrt (geny apoptotické kaskády) (8).

V literatuře je popsáno více než 200 genů, jejichž variabilní alterace jsou přítomny v různých typech lidských karcinomů. Problematika cytogenetických a molekulárně-cytogenetických změn je u solidních nádorů prostudována daleko méně než u hematologických malignit.

Jejich studium umožnil rozvoj a zavedení do praxe molekulárně-cytogenetických metod, jako jsou fluorescenční in situ hybridizace (FISH) s použitím lokus-specifických a centromerických sond a také dvoubarevná a vícebarevná FISH a dále metoda komparativní genomové hybridizace (CGH), která patří mezi nejmodernější metody výzkumu genomu nádorových buněk.

Základní a stále hojně využívanou cytogenetickou metodou, nejen v onkologii, zůstává klasické G-pruhování, poskytující základní informace o karyotypu včetně chromozomálních přestaveb, ačkoli jsou jeho možnosti limitovány.

Princip hybridizačních metod (FISH, SKY, mFISH, CGH) je založen na schopnosti jednořetězcové DNA (sonda) vázat se s komplementárními úseky cílové DNA. Sonden jsou značeny přímo fluorochromy a po hybridizaci a dalším ošetření lze preparáty hodnotit pomocí fluorescenčního mikroskopu vybaveného příslušnými filtry.

Fluorescenční in situ hybridizace je vhodnou metodou ke zjišťování počtu jednotlivých chromozomů, na rozdíl od komparativní genomové hybridizace (CGH), která hodnotí

relativní změny v počtu kopií. CGH tedy nelze použít ke zjišťování ploidie a balancovaných chromozomálních přestaveb. U solidních nádorů je častý výskyt polyploidních karyotypů, na rozdíl od hematologických malignit, kde jsou časté balancované translokace. Je vhodné proto použít jako doplněk ke zjištění stavu ploidie, například právě FISH či průtokovou cytofluorometrii.

Komparativní genomová hybridizace (CGH) je molekulární genetická metoda, která je založena na in situ hybridizaci odlišně značené celkové genomové DNA z nádoru a referenční genomové DNA na preparát s normálními metafázickými chromozomy. Poměr intenzity fluorescence nádorové a referenční DNA měřený v každém lokusu podél chromozomu, udává numerické změny v DNA (sequence copy number changes, gains, losses), např. poměr 0,5 značí monosomii, 1,5 trisomii apod. V jedné hybridizaci tak lze detekovat nebalancované přestavby (delece, amplifikace) všech chromozomů. Výhoda této metody spočívá v tom, že k analýze nejsou potřeba chromozomální preparáty z nádoru, které je často obtížné získat, ale pouze izolovaná nádorová DNA. Nevýhodou je, že tato metoda detekuje pouze početní změny ve struktuře chromozomů, neodhalí translokace, inverze a jiné balancované přestavby. Z analýz je třeba vyloučit GC bohaté oblasti (heterochromatin). Další nevýhodou je komplikované využití CGH pro rutinní diagnostické testování. Tuto nevýhodu překonává použití CGH na DNA microarrays, tzv. matrix-CGH (9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16).

Studie zaměřené na detekci genetických alterací v buňkách karcinomu děložního hrdla přinesly v posledních letech celou řadu poznatků, především z výzkumu dlaždicobuněčných karcinomů.

Tanke et al. zjišťovali na buněčných liniích pocházejících z pěti cervikálních nádorů, místa integrace viru a karyotypové změny pomocí COBRA-FISH (multicolor COmbined Binary RAtio-FISH). HPV-16 byl detekován v blízkosti t(3p14.1-14.3; 14), místa zlomu u spinocelulárního karcinomu, HPV-45 se integroval poblíž 3q26-29; 1q21-23; t(1q21; 22q13) místa zlomu u adenokarcinomu nebo adenoskvamózního karcinomu, HPV-67 u t(3p23-26; 13q22-31) místa zlomu. Nejvíce přestavby byly chromozomy 3, 7, 15, 20 (17). Rovněž metodou COBRA-FISH, skupina Brink et al., zjišťovala integrační místa HPV-16 a 18, a to v pěti kulturách primárních cervikálních karcinomů. U dvou karcinomů byl HPV integrován v 17q21-23, u jednoho v místě 1q42 a u dalších dvou v 8q24 - integrace poblíž translokačního místa zlomu (18). Integrace HPV-18 v 8q24 byla publikována již dříve (19, 20). Zimonjic et al. zjišťovali pomocí G-pruhování a FISH chromozomální aberace ve dvou HPV-negativních buněčných liniích. U obou byly zjištěny translokace na chromozomu 1 a částečná či úplná ztráta krátkého raménka chromozomu 9, stejně jako ztráta chromozomu 13. U linie HT-3 byly nalezeny přestavby a delece chromozomů 1p, 3p, 9p, 10q/p, 11p/q a 17p, tedy v oblastech, kde byly nalezeny tumor supresorové geny (21). Pomocí konvenčního G-pruhování byly skupinou Atkin et al. nalezeny strukturní přestavby na chromozomu 1 (delece, translokace a izochromozomy). Tyto změny byly nalezeny u více než 95% nádorů. Jako nejčastější numerické změny cervikálních nádorových buněk byly detekovány aneuzomie a polyploidie chromozomu 1 (22). Thein et al. provedli molekulárně-cytogenetickou analýzu pěti cervikálních buněčných linií reprezentujících stadia IB, IIA, IIB-HPV+ a III-HPV-. Kombinací G-pruhování a fluorescenční in situ hybridizace odhalili ve všech pěti liniích přestavby na chromozomech 1, 3. Místa zlomu u spinocelulárních linií byla vždy na 3q, ale v různých oblastech. Ve čtyřech liniích na chromozomu 9, kde místa zlomu byla v oblasti tumor-supresorového genu (MTS-1) v 9p21-22 (Kamb et al., 1994). V jedné linii byla nalezena del(5q), v jiné t(X;5). Strukturní změny 11q byly nalezeny ve dvou případech (23).

U pacientek s cervikální intraepiteliální lézí (CIN) byla u LSIL

lézí (low-grade squamous intraepithelial lesion) nalezena v 41,2% trizomie 7 a v 35,5% trizomie X. U HSIL lézí (high-grade squamous intraepithelial lesion) se trizomie 7 vyskytovala v 79,3% případů a trizomie X v 48,2% případů. Trizomie chromozomu 3 byla pozorována pouze ve spojení s trizomií chromozomu 7. I v tomto případě byl patrný trend trizomie od LSIL (20%) k HSIL (40,0%) lézím (24). Heselmeyer-Haddad et al. došli k závěru, že nadbytek (gain) chromozomového raménka 3q nastává v případě přechodu premaligních lézí v invazivní karcinom. Už v předchozích pracích zjistili, že nadbytky některých chromozomů jsou častější u pokročilých stadií (IIB-IV). Nejčastější amplifikace byly pozorovány na chromozomech 3q (77%), 1q (47%), 5p (30%), 6p (27%), 20 (23%). Časté delecce byly mapovány na 2q (33%), 3p (50%), 4 (33%), 8p (23%), 13q (27%). Ve většině případů byla detekována přítomnost HPV. U složitějších aberací byla pozorována vyšší proliferativní aktivita. Tato studie potvrzuje důležitost aberace 3q při cervikální karcinogenezi a dokládá časté amplifikace chromozomů 1q, 3q a 5p u pokročilých stadií cervikálních karcinomů (25). Kombinací metod CGH, SKY a FISH byla provedena analýza osmi cervikálních buněčných linií. Spektrálním karyotypováním (SKY) byly detekovány opakovaně tyto přestavby: der(5)t(5;8)(p13;q23) a i(5)(p10); delecce na 5p11, 5q11 a 11q23; a místa zlomu 2q31, 3p10, 3q25, 5p13, 5q11, 7q11.2, 7q22, 8p11.2, 8q11.2, 10p11.2, 11p11.2, 14q10, 15q10, 18q21 a 22q11.2. FISH byla použita k detekci míst integrace HPV-16 (26). Heselmeyer-Haddad et al. zkoumali pomocí mFISH, zda nadbytek 3q a amplifikace genu TERC (telomerase gene) mohou předpovídat progresi z CIN1/CIN2 k CIN3 a invazivnímu karcinomu. Měli tři typy vzorků: CIN1/CIN2 vedoucí k CIN3 (progressors), CIN1/CIN2 vedoucí spontánně k regresii (regressors) a normální cytologické nálezy u žen, u kterých se později vyvinula CIN3 nebo karcinom děložního hrdla. U „progresorů“ byl nalezen nadbytek 3q, zatímco u „regresorů“ nikoliv. Nadbytek 3q byl nalezen u 33% normálních cytologických nálezu, u kterých byla později diagnostikována CIN3 či invazivní cervikální karcinom. Detekce 3q a TERC amplifikace by mohla sloužit jako diagnostická metoda a mohla by pomoci tam, kde je cytologický screening falešně negativní (27, 28). Kirchhoff et al. analyzovali 17 případů cervikálních intraepiteliálních lézí (CIN) a 29 případů pokročilých spinocelulárních karcinomů pomocí CGH. V obou skupinách zaznamenali srovnatelný výskyt aberací, z nichž nejčastější u karcinomů byly amplifikace 3q (72%), 1q (45%), 8q (41%), 15q (41%), 5p (34%) a Xq (34%) a delecce 3p (52%), 11q (48%), 13q (38%), 6q (38%) a 4p (34%). Pro karcinomy cervixu typická amplifikace 3q se vyskytla v 35% preinvazivních cervikálních lézí a v 72% invazivních cervikálních karcinomů. Je to první studie, která nalezla opakující se typ aberace již v preinvazivních stadiích cervikálních karcinomů (29). Dellas et al., 1999, analyzovali 62 vzorků cervikálních karcinomů stadia IB. Nejčastější nálezy byly delecce 4q (53%), 3p (52%), 13q (45%), 4p (44%), 5q (40%), 18q (37%), 6q (35%). Delecce 9p se statisticky významně více vyskytuje u tumorů s metastázami v lymfatických uzlinách. Ztráty na chromozomech 11p a 18q jsou spojeny s horší prognózou onemocnění u nádorů bez metastatického postižení lymfatických uzlin. Nálezy naznačují, že ztráta tumor-supresorových genů na 9p, 11p a 18q může hrát roli v rozvoji karcinomu cervixu. Amplifikace byly nalezeny na chromozomech 17p (30%), 17q (27%), 20q (16%) a 3q (15%). Delecce 3p je druhá nejčastější aberace nalezena v této studii, která naznačuje roli 3p delecce při progresi cervikálních nádorů. Amplifikace 3q byla nalezena pouze v 15% případů, v kontrastu s ostatními studiemi (30). Dellas et al., 2003, aplikovali CGH na 22 cervikálních adenokarcinomů (stadium IB). Aberace byly nalezeny ve všech případech, s průměrem 6 aberací na tumor. Amplifikace se vyskytly nejčastěji na chromozomu 17q (54%) a 20q (23%), delecce na chromozomu Xq (50%), Xp (50%), 18q (36%), 4p (36%), 9p (32%), 13q (27%), 5q (27%) a 3p (23%). Rozdíl

v prognóze tumoru s vyšším počtem aberací a tumoru s malým počtem aberací nebyl nalezen. Ztráta 18q byla asociována s horší prognózou onemocnění. Studie naznačuje, že inaktivace tumor-supresorového genu na 18q může být zodpovědná za progresi dlaždicobuněčného i žláзовého karcinomu. Tři kandidátní tumor-supresorové geny lokalizované na 18q jsou DCC, DPC4 a MADR2. Lokus 17q11-12 obsahuje geny HER-2/neu (erbB2), BRCA1 a nm23, jejich změny byly detekovány i v nádorech prsu a ovaria, u nádorů cervixu mohou také hrát důležitou roli. Při srovnání se spinocelulárními nádory z předchozí studie nebyl nalezen signifikantní rozdíl v počtu aberací. Amplifikace 17q byla častější u adenokarcinomů. Ztráty na 4p, 3p a 13q byly častější u dlaždicobuněčného karcinomu. Odlišné nálezy naznačují, že proces karcinogeneze u obou histotypů by mohl obsahovat odlišné kroky. Všechny nádory byly pozitivní na HPV (31). Matthews et al. detekovali amplifikace 1q, 3q, 5p, 20q a Xq a delecce 3p, 5p, 8q a 16q při analýze 27 cervikálních karcinomů. Pozitivita HPV (16, 18) byla prokázána u 95% nádorů. Nebyla prokázána souvislost mezi HPV typem a chromozomálními aberacemi (32). Thein et al. porovnávali chromozomální aberace zjištěné pomocí karyotypování a CGH u spinocelulárních cervikálních karcinomů. Nejčastěji pozorované byly amplifikace 3q a 8q, které byly detekovány pomocí obou metod ve všech nádorech (33). Allen et al. studovali 37 cervikálních karcinomů (stadium IB). Statisticky více aberací bylo nalezeno u tumorů s metastázami v lymfatických uzlinách. Nejčastěji detekované byly delecce 3p, 11p, 6q a 10q a amplifikace 3q (34). Hidalgo et al., 2000 studovali 12 primárních cervikálních karcinomů a 12 buněčných nádorových linií. Nejčastější aberací byla delecce 3p a 2q a amplifikace 3q. Buněčné linie obsahovaly větší množství aberací než nádory. Infekce HPV-18 byla spojena s vyšším počtem aberací ve specifických lokusech, většinou známých jako integrační místa HPV (35). Hidalgo et al., 2003, analyzovali buněčné linie získané ze 4 karcinomů cervixu (stadium IIA a IVA) pomocí CGH, u souvislosti s infekcí HPV-18. Unikátní aberace vyskytující se u HPV-18 pozitivních případů byly amplifikace 1q31-q32 a 7p13-p14 a delecce 6q26-q27 (36). Sherwood et al. hodnotili 13 spinocelulárních karcinomů a 11 adenokarcinomů děložního hrdla. V 92% zjistili delecce na chromozomu 4. U spinocelulárního karcinomu převažovaly delecce na 4q, u adenokarcinomu byly nalezeny hlavně delecce na 4p. Ze studie (nejedná se o CGH, ale LOH - loss of heterozygosity) vyplývá, že delecce na chromozomu 4 jsou u cervikálního karcinomu časté a odlišují se u dlaždicobuněčného karcinomu a adenokarcinomu - jde patrně o odlišné geny zainteresované v karcinogenezi (37). Guo et al. potvrzují, že cervikální karcinomy vznikají ze serie premaligních lézí (CIN). Hlavním etiologickým faktorem je infekce HPV a delecce chromozomu 3p. Studie byla provedena pomocí LOH, ne CGH (38). Yang et al. prezentuje CGH studii 20 cervikálních adenokarcinomů. Amplifikace byly detekovány častěji než delecce. 70% případů obsahuje amplifikaci 3q, další časté nálezy jsou amplifikace 17q (45%), 1p (30%), 1q (25%), 11q (20%) a delecce 4q, 13q a 18q. Přítomnost HPV byla prokázána v 90% případů, ale nebyla nalezena korelace mezi HPV typem a určitými aberacemi. Studie dokládá důležitost 3q amplifikací při rozvoji cervikálního adenokarcinomu (39). Umayhara et al. pomocí CGH (po předchozí DOP-PCR) analyzovali 18 pacientek s cervikální intraepiteliální neoplazií a současně se vyskytující spinocelulárním karcinomem. U obou typů se vyskytly časté amplifikace chromozomů 1 a 3q a delecce 2q, 3p, 4, 6p, 11q a 17p. Studie naznačuje, že množství genetických změn je přímo úměrné progresi karcinomu (40). Rao et al. analyzovali 77 cervikálních karcinomů (5 adenokarcinomů, 72 spinocelulárních karcinomů, stadia IB-IVA). CGH odhalila delecce 2q (57%) a amplifikaci 3q (54, 5%) jako nejčastější genetické změny charakteristické pro invazivní nádor cervixu. Amplifikace byly nejčastější na chromozomech 3q (54,5%), 5p (29,9%), 1p (27,3%), 8q (26%), 20q (26%),

9q (24,7%), 1q (19,5%), 20p (18,2%), Xq (16,9%), 19p (16,9%) a 13q (15,6%). Delece (častější než amplifikace) byly nalezeny na chromozomech 2q (57,1%), 13q (42,9%), 4q (36,4%), 11q (36,4%), 4p (29,9%), 17p (29,9%), 3p (28,6%). Pacientky pozitivní na HPV-18 vykazovaly větší množství aberací, korelace s prognózou a stadiem onemocnění nebyly v této studii prokázány (41).

Souhrnem lze říci, že amplifikace jsou detekovány nejčastěji na chromozomech 1q, 3q, 5p, 8q, 17q a 20q. Delece se vyskytují nejvíce na 2q, 3p, 4p, 4q, 6q, 11q, 13q, 17p, 18q a Xq. Aberace byly nalezeny u nádorů všech stadií, včetně preinvasivních lézí, t.j. cervikálních intraepiteliálních neoplazií. Většina studií potvrdila, že amplifikace dlouhých ramének chromozomu 3 je nejběžnější alterace nalézaná v buňkách cervikálních karcinomů. Dalším charakteristickým nálezem cervikálních nádorů je izochromozom 5p, který potvrzuje i klasické cytogenetické studie. Ve většině nádorů byla detekována přítomnost HPV (human papilloma virus) typu 16 nebo 18, souvislost specifických aberací s virovou infekcí nebyla jednoznačně prokázána. HPV je považován za nejvýznamnější faktor pro rozvoj spinocelulárního karcinomu, samotná přítomnost HPV však k rozvoji karcinomu zřejmě nestačí. Větší množství chromozomálních aberací v nádoru bylo spojeno s pokročilejším stadiem tumoru a s horší prognózou onemocnění. Více aberací bylo také nalezeno u nádorů s metastázami v lymfatických uzlinách. Také delece 11p a 18q jsou asociovány s horší prognózou. Nejvíce studované geny v souvislosti s karcinomem cervixu jsou RB gen (13q14), p53 (17p13.3) a HER2/neu (erbB2, 17q11.2-q12). Inaktivace tumor-supresorových proteinů pRB a p53 může být důležitým krokem v cervikální karcinogenezi a probíhá formou mutace nebo v součinnosti s HPV infekcí. Existence dalších genů hrajících roli v cervikální karcinogenezi je předpokládána v konstatních místech amplifikací a delecí.

Ovariální karcinomy představují z hlediska genetických alterací velkou variabilitu v nálezech. Zvýšená pozornost je jim věnována od 90. let, v poslední době se jejich výzkumu věnuje stále větší počet pracovišť, především díky významnému rozvoji cytogenetických a molekulárně-cytogenetických technik. Mark et al. detekovali trizomii chromozomu 8 v serózních karcinomech (stadium I a III) pomocí chromozom 8-specifické alfa-satelitní sondy. Testováno bylo 24 vzorků, z nichž u 87,5% byla zjištěna trizomie 8. Z těchto pozitivních vzorků odpovídalo 80% stadiu I a 93% stadiu III. Trizomie 8 se tedy vyskytuje s vysokou frekvencí u časných i pozdních stadií (42). Tibiletti et al. zjišťovali cytogenetické abnormality u benigních, border line a maligních ovariálních nádorů pomocí klasického karyotypování a FISH. Unikátní nálezy pro invazivní karcinomy jsou: ztráta chromozomu 4, nadbytek chromozomu 2, 7, 8, 9, 10, 16, 17, 18, 19, 20 a 21, 6q16-q24, dále přestavby na 3p, 3q, 13q a 21q (43). Iwabuchi et al. analyzovali 56 ovariálních tumorů (benigní, LMP - low malignant potential, maligní). Benigní nádory vykazovaly hlavně amplifikaci 3q a 8q a delecí 16q a 17p. U LMP tumorů byly nejčastější amplifikace 3q a 20q, u maligních tumorů amplifikace 8q. Větší množství aberací bylo asociováno s kratší dobou celkového přežití (44). Arnold et al. vyšetřili 47 maligních ovariálních tumorů. Nejčastější aberace byly amplifikace 8q (53%), 3q (51%), 20q (43%), 1p (32%), 19q (30%), 1q (28%), 12p (28%), 6p (21%), 2q (19%). Delece byly detekovány na 18q (23%, 4 (23%), 13q (17%), 16q (17%). Vyskytly se i delece na X chromozomu, které pozitivně korelovaly s věkem pacientek (může být způsobeno aging fenoménem) (45). Sonoda et al. analyzovali 25 maligních ovariálních nádorů. Nejčastější místa amplifikace byly 8q, 3q, 20q, 7q, 17q, 19q. Delece byly časté na 5q, 9q, 17p, 17q, 4q, 16q, 22q. Delece 17p se, statisticky významně, více vyskytovala u tumorů ve vyšším stadiu, což naznačuje, že může hrát roli v pozdějším rozvoji karcinomu a tvorbě metastáz (46). Tapper et al. porovnávali 20 ovariálních karcinomů pozitivních na BRCA1 a BRCA2 mutaci s 20 sporadic-

kými ovariálními karcinomy. Porovnání odhalilo vysokou genetickou podobnost mezi oběma skupinami s výjimkou amplifikace 2q24-q32, která se u dědičných nádorů vyskytovala výrazně častěji. Zjištění podporuje hypotézu společného průběhu karcinogeneze u dědičných a sporadických karcinomů ovaria a naznačuje přítomnost onkogenu v lokusu 2q24-q32, který je aktivní při nefunkčním BRCA1 genu (47). Patel-Karasik et al. analyzovali 16 ovariálních karcinomů. Nejčastějším nálezem byla amplifikace 8q (66,6%), 1q (41,6%), 3q (33,3%), 10p (33,3%) a delece 9q (41,6%), 16q (33,3%). Všechny nádory s prokázanou mutací BRCA1 genu vykazovaly 9q delecí. Žádný se sporadických chromozomů neobsahoval delecí chromozomu 19. Z toho vyplývá, že dědičná predispozice ke karcinomu ovaria by mohla zahrnovat dispoziční k somatické delecí chromozomů 9 a 19 (48). Kiechle et al. studovali 106 primárních ovariálních karcinomů. Nejčastější aberace byly amplifikace 8q, 1q, 20q, 3q a 19p, které se vyskytly u 53-69% nádorů a delece, které byly nalezeny u 50-54% nádorů. Nediferencované ovariální karcinomy pozitivně korelovaly s delecí 11p a 13q a amplifikací 8q a 7p. U středně diferencovaných tumorů se vyskytovala často delece 12p a amplifikace 18p. Studie naznačuje, že primární ovariální karcinomy jsou spojeny s určitými chromozomálními aberacemi, které zřejmě hrají roli v karcinogenezi. Korelace mezi určitými aberacemi a nediferencovanými karcinomy by mohla pomoci při rozlišení primárních a sekundárních genetických událostí a při lokalizaci genů ovlivňujících tento proces (49). Shridhar et al. studovali pomocí CGH 12 ovariálních karcinomů časného stadia a 17 karcinomů pokročilého stadia, histologicky byly zastoupeny karcinomy serózní, endometroidní a světlebuněčné. Obě skupiny nádorů vykazovaly podobné aberace, přesto byly pozorovány i určité rozdíly. U raných stadií převažovaly delece nad amplifikacemi. Nejčastější byly delece 2q, 4q, 5q, 6q, 13q, 18q, u obou skupin zastoupeny v podobné míře. Amplifikace byly pozorovány hlavně v pokročilejších stadiích, a to na chromozomech 3q, 8q, 11q, 12p, 17q a 20q. Tyto rozdíly naznačují způsob vývoje ovariálních karcinomů (50). Zweemer et al. analyzovali 36 dědičných ovariálních karcinomů. Amplifikace byly nalezeny nejčastěji na chromozomech 8q, 3q, 11q a 2q. Delece se vyskytly zejména na chromozomech 8p, 16q, 22q, 9q, 12q, 15q, 17p, Xp, 20p a 18p. Porovnání s literaturou odhalilo, že podobné aberace se vykytují i u sporadických karcinomů. Specifické pro dědičný karcinoma se ukázaly delece 15q, 8p, 22q, 12q a amplifikace 11q, 13q a 17q (51). Sham et al. aplikovali CGH na 31 primárních ovariálních karcinomů. Amplifikace byly detekovány nejčastěji na chromozomech 3q (55%), 8q (52%), 19q (39%), Xq (35%), 1q (32%), 12p (32%), 17q (32%), 20q (29%). Delece byly nalezeny na chromozomech 16q (29%), 1p (23%), 18q (23%) a 22 (23%) (52). Bayani et al. provedli paralelní studii ovariálních karcinomů pomocí SKY, CGH a microarrays. Zjistili, že největší frekvenci aberací mají chromozomy 3, 8, 11, 17 a 21. Nejčastější přestavby byly detekovány (SKY) v oblastech 1p11, 1q11, 2q23, 3p21, 3q11, 5p11, 5q11, 6p11-p12, 6q14, 8p11, 8q11-12, 8q22-q23, 11p11, 11q11, 11q23, 13p11, 13q11 a 21p11. Zároveň na chromozomech 6, 8 a 11 byly nalezeny čtyři a více centromerických nebo pericentromerických přestaveb. Vysoké procento delecí chromozomu 4 se vyskytuje u tumorů v pokročilejších stadiích. Aberace jsou častější u endometroidních histotypů (53). Stabler et al. prokázali jako nejčastější aberaci u serózních ovariálních karcinomů amplifikaci 8q, kde leží c-myc onkogen, často se vyskytovala také amplifikace 3q (54). Umayahara et al. analyzovali 30 ovariálních karcinomů. Rovněž prokázali, že nejčastěji se vyskytující amplifikace jsou 8q, 3q a delece 17p, 18q a 4q. U nádorů s metastázami v lymfatických uzlinách se vyskytovaly významně více amplifikace 11q a delece 17q. Tyto dvě aberace také pozitivně korelovaly s klinickým stadiem a diferenciací nádoru (55). Hauptmann et al. analyzovali 47 ovariálních nádorů a prokázali, že serózní karcinomy pokročilých stadií vykazují dvakrát více aberací než nádory nižších stadií.

Amplifikace byly nalezeny na chromozomech 3q, 6p, 7, 8q a 20, delece 4q, 6q, 12q, 13q a 16q. Společné aberace pro různé histotypy byly zejména amplifikace 3q, 6p a delece 4q. Aberace spojené s horší prognózou byly amplifikace 6p, 7q, 13q a delece 15q, 17p, 18q a 21q. Data naznačují, že nádory nízkého maligního potenciálu a invazivní karcinomy obsahují odlišné aberace a jsou tedy dvěma odlišnými skupinami ovariálních nádorů (56). Hu et al. analyzovali 20 serózních karcinomů. Nejčastější místa amplifikací byly 1q, 8q, 19p, 20q, 3q, 12p, 2p, 7p, 5p, 17q. Delece se vyskytovaly na Xp, 4q, 18q, 13q, 9p, 16q. Až 85% tumorů vykazovalo amplifikaci v oblastech 2p a 8q, kde se nachází rodina myc genů, které mohou hrát roli v karcinogeneze ovariálních serózních karcinomů. Pacientky s tumorem obsahujícím méně než 7 aberací přežily déle. Data naznačují, že tumory s amplifikací 1p, 19p, 20q a delecí 5q mohou mít větší riziko recidiv (57). Kim et al. studovali 22 ovariálních karcinomů. Amplifikace se vyskytovaly nejčastěji na 20q (90%), 17q (86%), 8q (68%), 6p (59%), 11q (54%), 16p (40%), 2q (36%), 7q (36%), 14q (36%), 15q (36%) a 1q (31%). Nejčastější místa delecí byly 4q (54%), 5q (50%), 13q (45%). Tato studie mapuje oblasti, ve kterých by se mohly vyskytovat onkogeny a tumor-supresorové geny (58). Fishman et al., analyzovali 7 serózních karcinomů stadia III. CGH analýza odhalila opakující se aberace u 6 karcinomů: amplifikace 1q, 2p, 2q, 3q, 6q, 8q, 12p a delece 18q a X. Tyto nálezy potvrzují i předchozí studie. Porovnání odhalilo více aberací u primárního karcinomu než u metastáz (59).

Z provedených studií vyplynula celá řada závěrů. U epitheliálních nádorů CGH analýza odhalila amplifikace na chromozomech 1q, 3q, 8q, 20q, delece byly nalezeny na chromozomech 4q, 13q, 16q, 18q. Pro pokročilá stadia je typická ztráta chromozomu 4. Odlišné subtypy nevykazují specifické aberace, složitější aberace jsou v mucinózních a endometroidních tumorech nalézané vzácně, v benigních tumorech a nádorech s nízkým maligním potenciálem aberace nalezeny nebyly. V dobře diferencovaných karcinomech se vyskytují jen mírné aberace, zatímco v nediferencovaných jsou nalézány složité komplexní přestavby. Pro všechny ovariální tumory jsou typické amplifikace na chromozomech 3, 8 a 12. Byla nalezena korelace mezi množstvím aberací a stadiem onemocnění a také délkou celkového přežití. Geny účastníci se v karcinogenezi germinálních tumorů a nádorů ze zárodečných pruhů nejsou dosud přesně známy. Mutace p53 jsou u těchto tumorů vzácné. Naopak, u epitheliálních tumorů je mutace p53 běžná. Cytogenetické analýzy ovariálních karcinomů prokázaly přítomnost komplexních karyotypů se širokou škálou numerických a strukturních přestaveb, jako jsou vysoce fragmentované chromozomy, telomerické fúze a komplexní přestavby. Delece jednotlivých chromozomů ukazují na roli tumor-supresorových genů lokalizovaných v těchto chromozomálních úsecích, kte-

ré mají zřejmě významnou roli v patogeneze ovariálního karcinomu. Mezi tyto geny patří RB1, WT1, PTEN, LOT 1 (transkripční faktor), OVCA 1, OVCA 2, CDKN2A (p16), LKB1 (STK11), Dab2/DOC1. Jednou z nejčastějších genetických alterací popsanych u většiny karcinomů je alterace tumor-supresorového genu p53. Zvýšená exprese mutovaného p53 genu je signifikantně vyšší v pokročilých stádiích ovariálního karcinomu (40-60%) ve srovnání s časným stadiem onemocnění (10-20%). Z celé řady získaných poznatků je zřejmé, že protein p53 působí jako „molekulární strážce“, který brání rozšíření geneticky poškozených buněk. Mutace tumor-supresorových genů BRCA1 (17q21) a BRCA2 (13q12-13) jsou zodpovědné přibližně za 90% hereditárních ovariálních karcinomů - asi v 70% BRCA1, ve 20% BRCA2. Zbývající případy se týkají mutací ostatních tzv. mutátorových genů (hMSH2, hMLH1, PMS1, PMS2) zodpovědných za opravu poškozené DNA a jsou vzácné. Studium genetických změn u gynekologických malignit prokázalo, že inaktivace tumor-supresorových genů je zjišťována častěji než aktivace onkogenů. Tato skutečnost může souviset se snadnější identifikací tumor-supresorových genů v souvislosti s jejich podílem na hereditárních syndromech. Mezi geny, které se účastní růstových regulačních pochodů a které byly popsány u ovariálních karcinomů, patří c-erbB3, c-erbB2 (HER-2/neu), K-ras, akt-2, c-myc (60).

Většina z více než 200 genů, jejichž alterace byly nalezeny v různých typech lidských nádorů, významně ovlivňují nádorový růst. Množství genetických alterací, odpovídajících jak aktivaci onkogenů, tak ztrátě funkce supresorových genů, bylo zjištěno také u gynekologických zhoubných nádorů, bez jednoznačného stanovení významu těchto nálezů.

Přesto se dá předpokládat, že existuje celá řada dalších neméně významných genů, s méně penetrantním fenotypem, která nebyla dosud identifikována. Jde především o geny ovlivňující odpověď na stres, geny kontrolující kyslíkový metabolismus a detoxikaci xenobiotik, které mohou hrát roli kofaktorů v nádorovém procesu. Navíc řada biologických alterací zřejmě není detekovatelná na úrovni DNA. Změny vedoucí k rozvoji nádoru mohou vycházet z modifikovaných RNA, z proteinových struktur v korelaci s epigenetickými vlivy. Vedle průkazu exprese jednotlivých genů se tak odkrývá celé pole možnosti studia proteinových struktur (proteomics), jejich dynamiky a interakce s cílem dalšího prohloubení znalostí o vývoji nádorových onemocnění. Tyto poznatky by měly přispět v korelaci s dalšími informacemi o nádoru - molekulárně biologického i klinického charakteru - k vytvoření prediktivního modelu a individualizaci léčebného procesu u nemocných s nádorovým onemocněním.

Práce vznikla za podpory grantu IGA MZ NH/7659-3 a VZ MSM 0021620808.

Literatura

- Hajdúch M., Jarošová M., Trojanec R. et al.: Cytogenetické a molekulárně biologické markery v onkologii solidních nádorů a hematologických malignit. *Klin. Onkol.*, 2004, 17, Suppl., s. 51-56.
- Stewart B.W., Kleihues P. (Eds.): *World Cancer Report (WH O)*. Lyon: IARC Press, 2003, 351 p.
- Greggi S., Macuso S., Pecorelli S.: *Familial and Hereditary Cancer in Women*. Milano: Poletto Editore, 1999, 180 p.
- Jančárková N., Zikán M., Pohreich P. et al.: Detekce a výskyt mutací genu BRCA1 u pacientek s karcinomem prsu a ovaria. *Ces. Gynec.*, 2003, 68, 1, s. 11-16.
- Langston A. A., Ostrander E. A.: Hereditary Ovarian Cancer. *Curr. Opin. Obstet. Gynec.*, 1999, 9, p. 3-7.
- Lynch H. T., Casey M. J., Lynch J. et al.: Genetics and Ovarian Carcinoma. *Sem. Oncol.*, 1998, 25, 3, p. 265-280.
- Žaloudík J., Vyzula R., Dušek L.: Potřebujeme prediktivní onkologii? *Klin. Onkol.*, 1999, 12, 3, s. 110-111.
- Rejthar A., Vojtěšek B.: *Obecná patologie nádorového růstu*. Praha: Grada Publishing, 2002, 206 s.
- Berchuk A.: Biomarkers in the Ovary. *J Cell Biochem*, 1995, Suppl. 23, p. 223-226.
- Bernardini M., Weberpals J., Squire J. A.: The use of cytogenetics in understanding ovarian cancer. *Biomed Pharmacol*, 2004, 1, p. 17-23.
- Huang N. F., Gupta M., Varghese S. et al.: Detection of numerical chromosomal abnormalities in epithelial ovarian neoplasms by fluorescence in situ hybridization (FISH) and are view of the current literature. *App Immunohistochem Mol Morphol*, 2002, 10, 2, p. 187-193.
- Patel A. S., Hawkins A. L., Griffin C. A.: Cytogenetics and Cancer. *Curr Opin Oncol*, 2000, 12, 1, p. 62-67.
- Rao P. H., Harris C. P., Lu X. Y. et al.: Multicolor spectral karyotyping of serous ovarian adenocarcinoma. *Genes Chromosomes Cancer*, 2002, 33, p. 123-132.
- Shelling A. N., Cooke L. E., Ganesan T. S.: The genetic analysis of ovarian cancer. *Br J Cancer*, 1995, 72, 3, p. 521-527.

15. Teixeira N. R.: Combined classical and molecular cytogenetic analysis of cancer. *Eur J Cancer*, 2002, 38, 12, p. 1580-1584.
16. Tonnesen H.: Modern molecular cytogenetic techniques in genetic diagnosis. *Trends Mol Med*, 2002, 8, 6, p. 246-250.
17. Tanke H. J., Wiegant J., van Gijlswijk R. P. et al.: New strategy for multi-color FISH; COBRA: Combined Binary Ratio Labelling. *Eur J Hum Genet*, 1999, 7, p. 2.11.
18. Brink A. A., Wiegant J. C., Suzhai K. et al.: Simultaneous mapping of human papillomavirus integration sites and molecular karyotyping in short-term cultures of cervical carcinomas by using 49-color combined binary ratio labelling FISH. *Cancer Genet Cytogenet*, 2002, 134, 2, p. 145-150.
19. Couturier J., Sastre-Garau X., Schneider-Maunoury S. et al.: Integration of papillomavirus DNA near myc genes in genital carcinomas and its consequences for protooncogene expression. *J Virol*, 1991, 65, p. 4534-4538.
20. Macville M., Schrock E., Padilla-Nash H. et al.: Comprehensive and definitive molecular cytogenetic characterization of HeLa cells by spectral karyotyping. *Cancer Res*, 1999, 59, p. 141-150.
21. Zimonjic D. B., Simpson S., Popescu N. C. et al.: Molecular cytogenetics of human papillomavirus-negative cervical carcinoma cell lines. *Cancer Genet Cytogenet*, 1995, 82, 1, p. 1-8.
22. Atkin N. B.: Cytogenetics of carcinoma of the cervix uteri: a review. *Cancer Genet Cytogenet*, 1997, 95, 1, p. 33-39.
23. Thein A. T. A., Han X., Heyderman E. et al.: Molecular cytogenetic analysis of five newly established cervical cancer cell lines using G-banding and FISH. *Cancer Genet Cytogenet*, 1996, 196, p. 28-36.
24. Mian C., Bancher D., Kohlberger P. et al.: Fluorescence in situ hybridization in cervical smears: detection of numerical aberrations of chromosomes 7, 3, X and relationship to HPV infection. *Gynecol Oncol*, 1999, 75, p. 41-46.
25. Heselmeyer K., Macville M., Schrock E. et al.: Advanced-stage cervical carcinomas are defined by a recurrent pattern of chromosomal aberrations revealing high genetic instability and a consistent gain of chromosome arm 3q. *Genes Chromosomes Cancer*, 1997, 19, p. 233-240.
26. Harris C. P., Lu X. Y., Narayan G. et al.: Comprehensive molecular cytogenetic characterization of cervical cancer cell lines. *Genes Chromosomes Cancer*, 2003, 36, 3, p. 233-241.
27. Heselmeyer-Haddad K., Janz V., Castle P. E. et al.: Detection and genomic amplification of the human telomerase gene (TERC) in cytologic specimens as a genetic test for the diagnosis of cervical dysplasia. *Am J Pathol*, 2003, 163, p. 1405-1416.
28. Heselmeyer-Haddad K., Sommerfeld K., White N. M. et al.: Genomic amplification of the human telomerase gene (TERC) in pap smears predicts the development of cervical cancer. *Am J Pathol*, 2005, 166, 4, p. 1229-1238.
29. Kirchhoff M., Rose H., Petersen B. L. et al.: Comparative genomic hybridization reveals a recurrent pattern of chromosomal aberrations in severe dysplasia/carcinoma in situ of the cervix and in advanced-stage cervical carcinoma. *Genes Chromosomes Cancer*, 1999, 24, p. 144-150.
30. Dellas A., Thorhorst J., Jiang F. et al.: Prognostic value of genomic alterations in invasive cervical squamous cell carcinoma of clinical stage IB detected by comparative genomic hybridization. *Cancer Research*, 1999, 59, p. 3475-3479.
31. Dellas A., Thorhorst J., Gaudenz R. et al.: DNA copy number changes in cervical adenocarcinoma. *Clin Cancer Res*, 2003, 9, p. 2985-2991.
32. Mathewa C., Shera K. A., McDougall J. K. et al.: Genomic changes and HPV type in cervical carcinoma. *Proc. of the Soc. for Experimental Biology and Medicine*, 2000, 223, p. 316-321.
33. Thein A., Trkova M., Fox M. et al.: The application of comparative genomic hybridization to previously karyotyped cervical cancer cell lines. *Cancer Genet Cytogenet*, 2000, 116, p. 59-65.
34. Allen D. G., White D. J., Hutchins A., M. et al.: Progressive genetic aberrations detected by comparative genomic hybridization in squamous cell cervical cancer. *Br J Cancer*, 2000, 83, p. 1659-1663.
35. Hidalgo A., Schewe C., Petersen S. et al.: Human papilloma virus status and chromosomal imbalances in primary cervical carcinomas and tumour cell lines. *Eur J Cancer*, 2000, 36, p. 542-548.
36. Hidalgo A., Monroy A., Arana R. M. et al.: Chromosomal imbalances in four new uterine cervix carcinoma derived cell lines. *BMC Cancer*, 2003, 3:8.
37. Sherwood J. B., Shivapurkar N., Lin W. M. et al.: Chromosome 4 deletions are frequent in invasive cervical cancer and differ between histologic variants. *Gynecol Oncol*, 2000, 79, p. 90-96.
38. Guo Z., Hu X., Afink G. et al.: Comparison of chromosome 3p deletions between cervical precancers synchronous with and without invasive cancer. *Int J Cancer*, 2000, 86, p. 518-523.
39. Yang Y. C., Shyong W. Y., Chang M., S. et al.: Frequent gain of copy number on the long arm of chromosome 3 in human cervical adenocarcinoma. *Cancer Genet Cytogenet*, 2001, 131, p. 48-53.
40. Umayahara K., Numa F., Suehiro Y. et al.: Comparative genomic hybridization detects genetic alterations during early stages of cervical cancer progression. *Genes Chromosomes Cancer*, 2002, 33, p. 98-102.
41. Rao P. H., Arias-Pulido H., Lu X. Y. et al.: Chromosomal amplifications, 3q gain and deletion of 2q33-q37 are the frequent genetic changes in cervical carcinoma. *BMC Cancer*, 2004, 4:5.
42. Mark H. F., Afify A. M., Werness B., A. et al.: Trisomy 8 in stage I and stage III ovarian cancer detected by FISH. *Exp Mol Pathol*, 1999, 66, 1, p. 76-81.
43. Tibiletti M. A., Bernasconi B., Taborelli M. et al.: Genetic and cytogenetic observations among different types of ovarian tumors are compatible with a progression model underlying ovarian tumorigenesis. *Cancer Genet Cytogenet*, 2003, 146, p. 145-153.
44. Iwabuchi H., Sakamoto M., Sakunaga H. et al.: Genetic analysis of benign, low-grade and high-grade ovarian tumors. *Cancer Res*, 1995, 55, p. 6172-6180.
45. Arnold N., Hagele L., Walz L. et al.: Overrepresentation of 3q and 8q material and loss of 18q material are recurrent findings in advanced human ovarian cancer. *Genes Chromosomes Cancer*, 1996, 16, p. 46-54.
46. Sonoda G., Palazzo J., du Manoir S. et al.: Comparative genomic hybridization detects frequent overrepresentation of chromosomal material from 3q26, 8q24 and 20q13 in human ovarian carcinomas. *Genes Chromosomes Cancer*, 1997, 58, p. 3105-3110.
47. Tapper J., Sarantausta L., Vahteristo P. et al.: Genetic changes in inherited and sporadic ovarian carcinomas by comparative genomic hybridization: extensive similarity except for a difference at chromosome 2q24-q32. *Cancer Res*, 1998, 58, p. 2715-2719.
48. Patael-Karasik Y., Danieli M., Gotlieb W. H. et al.: Comparative genomic hybridization in inherited and sporadic ovarian tumors in Israel. *Cancer Genet Cytogenet*, 2000, 121, p. 26-32.
49. Kiechle M., Jacobsen A., Schwarz-Boeger U. et al.: Comparative genomic hybridization detects genetic imbalances in primary ovarian carcinomas as correlated with grade of differentiation. *Cancer*, 2001, 91, p. 534-540.
50. Shridhar V., Lee J., Pandita A. et al.: Genetic analysis of early- versus late-stage ovarian tumors. *Cancer Res*, 2001, 61, p. 5895-5904.
51. Zweemer R. P., Ryan A., Snijders A. M. et al.: Comparative genomic hybridization of microdissected familial ovarian carcinoma: two deleted regions on chromosome 15q not previously identified in sporadic ovarian carcinoma. *Lab Invest*, 2001, 81, p. 1363-1370.
52. Sham J. S., Tang T., C., Fang Y. et al.: Recurrent chromosomal alterations in primary ovarian carcinoma in Chinese women. *Cancer Genet Cytogenet*, 2002, 133, p. 39-44.
53. Bayani J., Brenton J. D., Macgregor P. F. et al.: Parallel analysis of sporadic primary ovarian carcinomas by spectral karyotyping, comparative hybridization and expression microarrays. *Cancer Res*, 2002, 62, p. 3466-3476.
54. Staebler A., Heselmeyer-Haddad K., Bell K. et al.: Microapillary serous carcinoma of the ovary has distinct patterns of chromosomal imbalances by comparative genomic hybridization compared with atypical proliferative serous tumors and serous carcinomas. *Hum Pathol*, 2002, 33, p. 47-52.
55. Umayahara K., Numa F., Inokuma A. et al.: Genetic alterations related to lymph node metastasis and peritoneal dissemination in epithelial ovarian cancer. *Oncol Rep*, 2002, 9, p. 1115-1119.
56. Hauptmann S., Denkert C., Koch I. et al.: Genetic alterations in epithelial ovarian tumors analyzed by comparative genomic hybridization. *Hum Pathol*, 2002, 33, p. 632-641.
57. Hu J., Khanna V., Jones M. M. et al.: Comparative study of primary and recurrent serous carcinomas: comparative genomic hybridization analysis with a potential application for prognosis. *Gynecol Oncol*, 2003, 89, p. 369-375.
58. Kim G. J., Kim J. O., Hong E. K. et al.: Detection of genetic alterations in Korean ovarian carcinomas by degenerate oligonucleotide primed polymerase chain reaction-comparative genomic hybridization. *Cancer Genet Cytogenet*, 2003, 147, p. 23-27.
59. Fishman A., Shalom-Paz E., Feigin M. et al.: Comparing the genetic changes detected in the primary and secondary tumor sites of ovarian cancer using comparative genomic hybridization. *Int J Gynecol Cancer*, 2005, 15, p. 261-266.
60. Jančárková N., Krkavcová M., Janashia M. et al.: Genetické aspekty maligních epitelálních nádorů ovaria. *Čes. Gynék.*, 2005, 70, 4, s. 299-306.

Došlo: 25. 11. 2005
Přijato: 12. 12. 2005

MEDULLOBLASTOM (PNET) U DĚTÍ - SOUČASNÉ MOŽNOSTI DIAGNOSTIKY A LÉČBY

MEDULLOBLASTOMA (PNET) IN CHILDREN - PRESENT MANAGEMENT

PAVELKA Z., ZITTERBART K.

KLINIKA DĚTSKÉ ONKOLOGIE LF MU A FN BRNO

Souhrn: Medulloblastom představuje nejčastější maligní nádor centrálního nervového systému dětského věku. Je charakterizován unikátní citlivostí k chemoterapii a radioterapii, avšak úspěšná chirurgická resekce zůstává nadále podstatnou součástí léčby. Významný pokrok v léčbě byl v minulém období dosažen díky zlepšení v neurochirurgických přístupech, optimalizaci dávek i technik radioterapie a konečně díky zavedení kombinované adjuvantní chemoterapie. V současnosti je medulloblastom rozdělován do kategorie vysokého a standardního rizika na základě klinických a rentgenologických ukazatelů. Rozvíjející se éra molekulární biologie přináší nové možnosti identifikace prognostických faktorů a následné stratifikované léčby. Léčba medulloblastomu standardního rizika dosáhla významného zlepšení v ukazatelích přežití, středem zájmu je redukce intenzity léčby (zejména dávek radioterapie) a tím pozdních následků. U nemoci vysokého rizika (zejména malých dětí) nelze považovat léčebné možnosti i přes zavedení vysokodávkované chemoterapie za uspokojivé. V centru zájmu mnoha současných studií jsou definované molekulární cílové struktury a nové preparáty se schopností selektivního zásahu příslušných signálních drah (tzv. molekulárně cílená terapie).

Klíčová slova: medulloblastom, chemoterapie, prognostické faktory, riziková kategorie, molekulárně cílená léčba

Summary: Medulloblastoma represents the most common malignant brain tumor of childhood. This tumor is uniquely sensitive to chemotherapy and radiotherapy, but successful surgical removal remains an important part of therapy. A great progress in the treatment of medulloblastoma has been made in the last decades thanks to improved neurosurgical techniques, radiotherapy and optimized adjuvant chemotherapy. Medulloblastoma is currently stratified into high and standard (average) risk categories depending on clinical and radiological factors. The developing era of molecular biology is bringing new possibilities of prognostic factors identification and risk-adapted therapy. The treatment of average-risk medulloblastoma has achieved a substantial improvement, allowing focusing of efforts on the reduction of adverse treatment effects (especially radiotherapy). Children with high-risk disease (mainly infants) have still an unsatisfactory prognosis, despite the introduction of high-dose chemotherapy to the therapeutic options. Many clinical trials focus on newly defined molecular targets and specific drugs with capability to hit these adequate signal pathways (so-called molecular targeted therapy).

Key words: medulloblastoma, chemotherapy, prognostic factors, risk category, molecular targeted therapy

Úvod

Nádory centrálního nervového systému (CNS) tvoří u dětí 20-30 % všech nádorových onemocnění s incidencí 3,2 nových případů na 100 000 dětí s mírnou převahou chlapců (1,1-1,2:1). Embryonální nádory (EN) jsou pak u dětí nejčastěji se vyskytující skupinou maligních nádorů CNS. Většinou se diagnostikují před 15. rokem, s vrcholem mezi 3. a 5. rokem věku. V kojeneckém období je incidence vyšší, tvoří 20-30 % všech nádorů CNS ⁽¹⁾ (tabulka 1).

Histopatologická nomenklatura nádorů spadajících do této kategorie nebyla vždy jednotná. Současná WHO klasifikace rozlišuje pět hlavních morfologických diagnóz v rámci EN CNS: medulloblastom, ependyoblastom, supratentoriální primitivní neuroektodermový nádor (*supratentorial primitive neuroectodermal tumour*, sPNET), medulloepitheliom a atypický teratoid/rhabdoidní nádor (*atypical teratoid/rhabdoid tumour*, AT/RT) ⁽²⁾.

Tabulka 1: základní charakteristiky hlavních typů CNS tumorů u dětí

TYP	VĚKOVÁ PREDILEKCE	LOKALIZACE	% CNS tumorů u dětí
Medulloblastom	3-5 let, 10-15 let	mozeček	20-25
Low grade gliomy	malé děti, adolescence	mozeček, hemisféry kmen, hypothalamus optické dráhy	30-60
High grade gliomy	celé dětství, adolescence	hemisféry, kmen	6-12
Ependyom	malé děti, adolescence	laterální komory + třetí komora, čtvrtá komora	2-5 4-8
Kraniofaryngeom	adolescence	supraselárně	6-9

Přežití pacientů s EN CNS se díky pokrokům v diagnostice, novým chirurgickým, radioterapeutickým technikám i chemoterapii v minulých letech výrazně zlepšilo. Nadále však zůstává problematická skupina dětí s EN vysokého rizika,

respektive kojenců, kde léčebné výsledky nemůžeme považovat za uspokojivé. Pokud tyto děti přežívají, pak zpravidla za cenu významných pozdních následků zejména v oblasti neurokognitivních funkcí.

Epidemiologie

Medulloblastom (MB) je nejčastější a klinicky nejvýznamnější jednotkou mezi EN CNS, tvoří ~70 % všech případů. „Typický“ medulloblastom je lokalizovaný v zadní jámě/mozečku, kde tvoří 40% všech mozečkových nádorů. Incidence je udávána mezi 0,2-0,6/100 000 dětí, medián věku při diagnóze je 9 let (0-88 let) se dvěma vrcholy mezi 2 - 4 a 6 - 8 roky věku ^(1,2). Bývá popisována lehká převaha výskytu u chlapců (1,15-2,0:1). Zatímco incidence mozečkových MB mírně klesá, stoupá naopak u **supratentoriálních PNETů**. MB dospělých je vzácný, tvoří pouze 1% nádorů CNS ^(3, 4). MB je převážně sporadické onemocnění, jsou však popsány familiární případy výskytu u sourozenců či dvojčat. MB se může vyskytnout také jako součást některých genetických syndromů nádorových onemocnění. Děti se **syndromem Li-Fraumeni** mají geneticky determinovanou dispozici k opakovanému či mnohotnému vývoji různých nádorů (včetně nádorů CNS) danou zárodečnou mutací p53 genu na lokusu 17p13. Přibližně 1-2% MB se objevuje v rámci **Gorlinova syndromu** (syndrom bazocelulárního névu, *naevoid basal cell carcinoma syndrom*), který je spojený s mutací genu PTCH na lokusu 9q22. Maligní intrakraniální **neuroblastický tumor** (dle dřívějšího názvosloví **pinealoblastom**) může vyrůstat samostatně nebo u 5-10% dětí s bilaterálním retinoblastomem. Různé EN CNS mohou být asociovány i s rhabdoidním nádorem ledviny ⁽²⁾.

Klinická charakteristika MB

MB je biologicky vysoce agresivní onemocnění s tendencí k šíření v CNS a tvorbou leptomeningeálních metastáz, řídce se vyskytují i případy s extraneurálním postižením (skelet, kostní dřev, mízní uzliny, játra, plíce), ale zpravidla v konečné fázi progresu nemoci. Diseminace v CNS v době diagnózy je přítomna v 15 - 43% případů a představuje negativní prognostický znak ⁽⁵⁾. Nejčastějším místem relapsu onemocnění je zadní jáma, u dětí k němu dochází do 2 let od diagnózy v 75% případů, u dospělých je až 29% případů rekurencí pozdních (5 a více let od diagnózy) ⁽⁶⁾ (obrázek 1).



Obr. 1: metastatický medulloblastom mozečku, obraz na magnetické rezonanci mozku

MB je lokalizovaný infratentoriálně, vychází ze střední části mozečku (vermis) a vrůstá do 4. mozkové komory, kterou posléze komprimuje nebo vyplňuje. Laterálně lokalizovaný MB je v pediatrické populaci neobvyklý (méně než 10%), kdežto u dospělých častější (až v 50% případů). Lokálně se tumor dále může šířit do likvorových cest (propagace do foramen Magen-

di nebo foramen Luschke, cestou Sylviova akveduktu dále do 3. komory), nebo prorůstáním do dalších struktur mozku. Laterální tumory se propagují obvykle do koutů mostomozečkového. Tvorba leptomeningeálních metastáz je pro MB typická a je nezávislá na velikosti primárního tumoru ⁽⁷⁾.

Klinické symptomy jsou podmíněné obstrukcí likvorových cest s následným vznikem vnitřního hydrocefalu, který vede k **syndromu intrakraniální hypertenze (SIKH)**: ranní bolest hlavy, zvracení, poruchy zraku (obrázek 2). Plně vyjádřený SIKH je spíše pozdním příznakem, odpovídá náhlé dekompenzaci procesu, které často předchází různě dlouhá fáze projevů nespecifických. U kojenců a malých dětí však chybí tyto klasické projevy a setkáváme se s příznaky vyplývajících ze schopnosti lebky kompenzovat přetlak rozestupem švů.



Obr. 2: obstrukční hydrocefalus podmíněný nádorem zadní jámy lební v CT obraze

Diagnostika

Diagnostiku nádorů CNS zpřesnily pokroky a lepší dostupnost zobrazovacích vyšetření, stejně jako rychlý rozvoj laboratorních metod.

MB se na počítačové tomografii mozku (CT) zobrazuje zpravidla jako ohraničená mozečková masa, kalcifikace bývají přítomny v 15-20% případů ⁽⁸⁾. Při vyšetření magnetickou rezonancí (MR) se MB zobrazuje jako léze s kontrastním enhancementem gadolinia a hypointenzním signálem (T1 vážené obrazy), přítomny mohou být též cystické formace, ložiska nekrózy a hemoragie. Solidní složka nádoru má signál střední intenzity mezi bílou a šedou hmotou (T2 vážený obraz); v tzv. FLAIR zobrazení je s šedou hmotou isointenzní. Tyto charakteristiky jsou rozdílné proti jiným nádorům CNS, které jsou častěji v T2 i FLAIR zobrazení proti šedé hmotě hyperintenzní. Metastázy jsou zobrazovány jako enhancující uzlíky nebo polevová ložiska na leptomeningách (v T1 váženém obraze), obtížněji jsou prokazována ložiska neenhancující (T2, FLAIR zobrazení). Celkově vzato, MR má v zobrazovací diagnostice medulloblastomu dominantní úlohu proti CT. Standardně je požadováno vyšetření do 72 hodin po operačním výkonu k posouzení velikosti rezidu, což má prognostický význam (viz dále v textu), a zobrazení celého páteřního kanálu k vyloučení klinicky němých metastáz ⁽⁹⁾. Vyšetření mozkomíšního moku z lumbální punkce (kvalitativní i kvantitativní cytologie) je nezbytné pro vyloučení přítomnosti nádorových buněk v likvoru; mělo by být provedeno v odstupu nejméně dvou týdnů od operace (stejně jako MRI míchy) pro možnost falešně pozitivního výsledku. Vyšetření likvoru z ventrikulárního přístupu (zevní komorová drenáž či peroperační odběr) nemá dostatečnou výpovědní hodnotu ⁽¹⁰⁾.

Rozsah onemocnění je většinou hodnocen dle **Changovy klasifikace** nádorů zadní jámy lební zavedené již v roce 1969 a nyní užívané v pozměněné podobě ^(11, 12). Tento čistě popisný (morfologický) systém je vzhledem k omezenému pro-

gnostickému významu některými autory považován za překonaný, protože nereflktuje žádný z molekulárně biologických prognostických ukazatelů⁽¹³⁾. Iničiální velikost nádoru ani invaze do mozkového kmene nejsou již dle současných znalostí považovány za prognosticky nepříznivý znak. Rozlišování způsobu leptomeningeálního rozsevu rovněž nemá prognostický, a většinou ani léčebný dopad^(5, 13).

Histopatologické varianty

Je rozeznáváno pět základních histopatologických typů MB dle WHO. **Klasický** typ je charakterizován přítomností malých kulatých modravých buněk s hyperchromním jádrem, malým množstvím cytoplasmy. Buňky mohou být uspořádány v rozety, přítomny jsou zpravidla četné mitózy, pouze příležitostně vykazují známky neurocytické diferenciace. Imunohistochemicky jsou centra rozet pozitivní na markery neuronální diferenciace synaptofyzin a NSE⁽³⁾.

Desmoplastický typ obsahuje noduly nádorových buněk s vystupňovanou neurocytickou diferenciací s přítomností retikulínu, které jsou obklopeny kolagenní tkání (bez přítomnosti retikulínu). Imunohistochemický průkaz synaptofyzinu a gliálního fibrilárního acidického proteinu (GFAP) odpovídá okřskům neuronální respektive astrocytické diferenciace. Tato varianta je mnohem častější u adolescentů a dospělých (až 50 % všech MB) než u dětí (15 %). Chová se méně agresivně a prognóza je příznivější v porovnání s klasickým MB a především následujícím typem⁽¹⁴⁾.

Velkobuněčný (anaplastický) typ je vzácný, charakteristickým rysem jsou velké buňky s prominujícími jádérky a abundantní cytoplasmou. Pro velký buněčný obrat svědčí vysoký mitotický index, vystupňovaná apoptóza, časté nekrózy. Byla prokázána vazba tohoto typu MB s amplifikací onkogenu MYCC a špatnou prognózou⁽¹⁵⁾. Histopatologické **zhodnocení rozsahu a stupně anaplázie**, a to i v kategorii klasické varianty MB, představuje relativně nově definovaný biologický prognostický znak⁽¹⁶⁾.

Vzácně se vyskytujícími variantami MB jsou **melanocytický MB** a **medulloblastom**⁽²⁾.

Molekulární biologie MB

V laboratorní diagnostice je patrný trend zaměřený na průkaz nenáhodných cytogenetických a molekulárně biologických abnormit s vlastnostmi **specifických biomarkerů** s možným **prognostickým významem**. V současné době probíhající multicentrické studie testují vybrané biomarkery prospektivně. Cílem je identifikovat skupiny pacientů s různým rizikem nepříznivého průběhu onemocnění a tyto pacienty stratifikovaně (různě intenzivně) léčit⁽¹⁷⁾.

V poslední době se pozornost upírá na tzv. rodiny receptorových tyrozin kináz (RTK), které představují integrální součásti signálních drah regulujících buněčnou smrt, proliferaci, diferenciaci, resp. buněčný cyklus jako takový. Mezi RTK s prokázanou vazbou k MB patří receptor pro epidermální růstový faktor (**EGFR**), receptor pro destičkami produkováný růstový faktor (**PDGFR**) a receptor pro nervový růstový faktor (**NGFR**). RTK představují potenciální diagnostické a prognostické markery a také cíle pro tzv. terapii na molekulární úrovni⁽¹⁸⁾.

Receptor pro **neurotrophin-3**, resp. jeho tyrozin-kináza (**TRKC**, rodina NGFR) se účastní regulace proliferace, diferenciace a buněčné smrti granulárních buněk mozečku. Vysoká exprese TRKC provází lepší prognózu MB, aktivace TRKC in vitro indukuje apoptózu v buňkách medulloblastomových linií⁽¹⁹⁾.

Negativním prognostickým znakem je zvýšená exprese receptoru **erbB2 (Her-2/Neu)**, který patří do rodiny EGFR. Pacienti s expresí Her-2/Neu u více jak 50 % nádorových buněk mají signifikantně horší prognózu s pouze 10 % přežitím v 10 letech od diagnózy⁽²⁰⁾.

Genový produkt **MYCC** onkogenu se účastní regulace buněčné proliferace. Amplifikace tohoto genu a/nebo zvýšená exprese

jeho mRNA je negativním prognostickým znakem, amplifikovaný MYCC bývá častěji prokazován u agresivní velkobuněčné (anaplastické) varianty MB. Amplifikace MYCC nebo MYCN se vyskytuje pouze u 5-10 % medulloblastomů, zatímco vysoká exprese MYCC (mRNA/protein) bývá mnohem častější a nemusí být v korelaci s počtem kopií genu^(21, 22). Kombinace vysoké exprese TRKC a nízké exprese MYCC mRNA naopak prokazatelně zlepšuje přežití^(19, 22).

Nedávno byla in vitro prokázána schopnost **retinoidů** (např. *all-trans* retinová kyselina, ATRA) indukovat apoptózu medulloblastomových buněčných linií. Popsaný efekt je mediován látkou označenou jako **BMP-2** a byl potvrzen též na zvířecích modelech⁽²³⁾. Otevírá se tak hypotetická možnost bioterapie minimální reziduální nemoci MB analogicky jako u neuroblastomu.

Nejčastější cytogenetickou abnormitou prokazatelnou u MB je ztráta genetického materiálu na krátkém raménku 17. chromosomu (projevující se jako **del 17p** nebo **isochromosom 17q**), zjišťována bývá u 35-50 % medulloblastomů. Mezi další frekventní cytogenetické změny u MB patří ztráty na chromosomech 16q, 8p, 11q a zisky na 7p, 7q, 1q prokazované např. metodou CGH až u 60 % případů⁽²⁴⁾.

Stratifikace pacientů

Za pacienta skupiny **standardního (průměrného) rizika (SR)** je tradičně považováno dítě starší tří let věku, bez metastáz, s nálezem reziduálního nádoru <1,5 cm² na pooperačním MRI. Pacient nesplňující tato kritéria spadá do prognosticky nepříznivé skupiny **vysokého rizika (HR)**. Celkově umožňuje kombinovaná léčba dosáhnout u pacientů standardního rizika OS₅ ~70-80 %, u vysokého rizika pouze asi 25-40 %⁽²⁵⁾.

Děti mladší tří let mají výrazně horší prognózu. Vysvětlením může být odlišná nádorová biologie, či asociace se známými rizikovými faktory. Malé děti mají častěji větší reziduální tumor po operaci, metastatickou chorobu. Nezralost CNS limituje dávku radioterapie (nebo její užití vůbec)⁽²⁶⁾.

Podle již klasické studie americké Children's Cancer Group (CCG) s označením 921 koreluje **rozsah resekce** u pacientů s lokalizovanou chorobou (M0) pozitivně s ukazateli přežití⁽¹³⁾. **Velikost reziduálního tumoru** však neovlivňuje prognózu dětí s diseminovanou nemocí při diagnóze (M+). Prognostický význam rozsahu resekce je v současné době předmětem debat, reziduum nad <1,5 cm² přesto zůstává faktorem definujícím vysoké riziko ve všech současných léčebných protokolech⁽²⁷⁾.

Nejvýznamnějším klinickým prognostickým faktorem zůstává přítomnost či nepřítomnost metastáz v době diagnózy (**M stádium**). Pacienti s M+ nemocí vykazovali v již zmíněné studii CCG 921 výrazně horší přežití bez známek progresu v 5-ti letech proti skupině bez metastáz. Výjimku představuje stádium M1 (pozitivní cytologický nález nádorových buněk v moku), u této skupiny nebyl negativní vliv na léčebné selhání jednoznačně statisticky potvrzen⁽⁵⁾.

Nádorová biologie medulloblastomu vnáší do problematiky stratifikace rizika nové impulsy. Léčebná odpověď pacientů se zdánlivě „stejným“ onemocněním totiž může být zcela odlišná, u 30 % pacientů standardního rizika dochází k recidivě. Pomeroy publikoval data souboru pacientů s MB rozdělených do rizikových kategorií na základě prediktivního modelu opírajícího se o genový profil osmi vybraných genů⁽²⁸⁾. V této souvislosti jsou vedeny diskuse o novém definování tří rizikových kategorií (vysoké, střední, standardní riziko)⁽²⁹⁾.

Chirurgie

Ačkoliv první historické kooperativní studie evropské **Société Internationale d'Oncologie Pédiatrique (SIOP)** i severoamerické **Children's Cancer Group (CCG)** z 80. let neprokázaly jednoznačné ovlivnění ukazatelů přežití rozsahem resekce, je dnes základním cílem radikálního výkonu u M-cho-

roby maximální možná resekce při minimální pooperační morbiditě^(30, 31). Studie CCG s označením 921 již jednoznačně potvrdila redukci celkového přežití u dětí s MB a reziduem >1,5 cm² o 20%. Stejná studie prokázala přežití 40 % u dětí s totálně resekovaným tumorem proti 13 % u přítomného pooperačního rezidia⁽⁵⁾. Tato výhoda však nebyla potvrzena u supratentoriálního PNETu⁽³²⁾.

Mezi hlavní komplikace v pooperačním období patří postižení funkce hlavových nervů, mozkového kmene, aseptická meningitida, cerebelární mutismus. Posledně jmenovaná komplikace (také tzv. **syndrom zadní jámy**) postihuje asi 10% dětí po operacích zadní jámy, projevuje se kombinací pseudobulbárních příznaků, postižením afektivity, poruchou expresivní složky řeči⁽³³⁾.

Radioterapie

Radioterapie (RT) představuje velmi účinný způsob kontroly onemocnění. Znalost tendence embryonálních nádorů k šíření v CNS a trisní léčebné výsledky fokální radioterapie vedly k poznání, že nezbytnou součástí léčby je **profylaktické ozáření celé kraniospinální osy** (CSI) s dosycením na lůžko tumoru (zadní jámu) respektive na oblast makroskopických metastáz do 50-55 Gy. Zahájit radioterapii je nutné do 8 týdnů od operace. Tento přístup je standardem u dětí nad 3 roky věku, rozdíl je v profylaktické dávce aplikované na kraniospinální osu (zpravidla 23 Gy u SR choroby proti 36 Gy u HR)⁽³⁴⁾. Ozáření nižší dávkou bylo umožněno zavedením adjuvantní chemoterapie, která by měla následovat po radioterapii a zajišťuje dosažení stejných (lepších) léčebných výsledků, jako při užití samotné RT⁽³⁵⁾. Podání RT u dětí je však spjato s významnou pozdní morbiditou, a to především u dětí pod 3 roky (respektive pod 8 let věku)⁽³⁶⁾. U dětí do 3 let věku není radioterapie celé osy standardní součástí schémat v první linii léčby, léčebného efektu je zpravidla dosaženo vysokou dávkovou intenzitou užití chemoterapie. RT je odložena na období po chemoterapii (vyšší věk dítěte), zpravidla se jedná o fokální ozáření postižené oblasti, celá osa není ozářována. Recentní studie americké **Children's Oncology Group** (COG) pro SR medulloblastom srovnává další redukci dávky na kraniospinální osu na 18 Gy u dětí mezi 3-8 lety se standardním ozářením dávkou 23 Gy⁽³⁷⁾. Otázkou zůstává, zda nebude očekávaná redukce neurotoxicity vykoupena větším procentem léčebných selhání.

Některé moderní radioterapeutické techniky si podobně kladou za cíl zlepšení léčebných výsledků. Francouzský M-SFOP 98 protokol léčil 48 dětí se SR-MB **hyperfrakcionovanou radioterapií** (36 Gy ve 36 frakcích) kraniospinální osy s následným dosycením konformální technikou pouze na lůžko tumoru (celková dávka 68 Gy v 68 frakcích). Nebyla podávána žádná adjuvantní chemoterapie. S mediánem sledování 45,7 měsíců byly dosažené hodnoty ve třech letech od diagnózy 89% (OS) a 81% (PFS). Tento postup nebyl asociován s rizikem časného relapsu⁽³⁸⁾. Tzv. „**intensity - modulated**“ RT (IMRT, radioterapie modulovaným svazkem záření) je moderní **konformální** technika zajišťující vysoce cílenou, přesně zaměřenou aplikaci dávky s redukcí expozice normální tkáně. Omezuje dávku podanou na kochleární aparát a tím riziko poškození sluchu při zachování adekvátní dávky na cílový objem⁽³⁹⁾.

Chemoterapie

Výčet cytostatik účinných u EN CNS je relativně omezený, jedná se zejména o některá alkylační činidla a platinové deriváty^(26, 40). Jedním z prvních počínů demonstrujících benefit adjuvantní chemoterapie u nově diagnostikovaných HR pacientů byla CCG studie s konkomitantním vinkristinem při RT následovaná chemoterapií kombinací vinkristinu, CCNU a prednisonu, jejíž výsledky byly publikovány v roce 1990. Podobná SIOP studie se lišila jen vynecháním prednisonu. Obě studie prokázaly signifikantní zlepšení ukazatelů přežití pod podmíněné zařazením chemoterapie po radioterapii^(30, 31).

Užití chemoterapie u dětí nad 3 roky (zejména u SR nemoci v 1. linii terapie) je do určité míry nadále kontroverzní. Nicméně, většina pacientů s MB je v současnosti chemoterapií skutečně léčena. Za racionální je považováno její podání s cílem: vyhnout se (oddálit) RT u malých dětí pod 3 roky, u pacientů SR jako součást protokolů s redukcí dávky CSI a omezením neurotoxicity, u HR pacientů ve snaze dále pozitivně ovlivnit křivky přežití, u pacientů v 1. relapsu po předchozí konvenční terapii^(30, 31). V posledních dvou případech je recentně podávána CHT často ve formě submyeloablativních, či přímo myeloablativních režimů (zpravidla sekvenčních) s podporou autologními kmenovými buňkami krvetvorby^(40, 41, 42). Poměrně jasno se zdá být pokud se týká časování chemoterapie vzhledem k ostatním léčebným modalitám. CHT by měla být podávána adjuvantně po předchozí radioterapii⁽⁴³⁾. Uvedené se týká dětí, u dospělých s MB nebyl léčebný benefit pramenící z CHT proti samotné radioterapii jasně prokázán, navíc tito pacienti zpravidla špatně tolerují pediatrické režimy⁽⁴⁴⁾.

SR medulloblastom

Prvními randomizovanými studiemi u MB byly koncem 70. let evropská SIOP 1 a severoamerická CCG-942. Obě měly podobný design, součástí byla standardní radioterapie a srovnávána byla ramena s nebo bez přidání chemoterapie (kombinace vincristin, CCNU a nebo navíc prednison v CCG studii). SIOP 1 studie prokázala signifikantní benefit z přidání chemoterapie pro děti s postižením mozkového kmene a parciální resekci⁽³⁰⁾. Podobně CCG-942 potvrdila tento závěr a identifikovala vysoce rizikovou skupinu dětí s velkým reziduem a/nebo metastatickou chorobou, která profitovala z přidání chemoterapie⁽³¹⁾.

Následná SIOP 2 již rozdělovala pacienty do SR a HR kategorie na základě výše definovaných klinických faktorů. Jejím cílem bylo ověřit efektivitu předřazení chemoterapie před radioterapií a rozdílné dávky RT pro pacienty standardního rizika. Podskupina dětí léčená předradiční chemoterapií a nízkou dávkou CSI vykazovala špatné výsledky. Autoři došli k závěru, že chemoterapie nepřinesla žádnou výhodu vzhledem k přežití, spekulovali o možném vlivu nevhodné kombinace a dávek užitých cytostatik⁽⁴⁵⁾. PNET III z devadesátých let srovnávala CSI samotnou s CSI navazující na předchozí chemoterapii. Tato studie díky signifikantnímu zlepšení EFS favorizovala pro další užití rameno s chemoterapií. Některé nedostatky v designu studie, stejně jako poměrně malý nábor pacientů snižují ovšem prognostickou sílu této studie⁽⁴³⁾.

Francouzská skupina SFOP publikovala výsledky studie s označením M7 obdobného designu (chemoterapie následovaná RT s CSI dávkou 27 Gy); EFS v 7 letech u dětí s nemetastatickým SR MB byl 72%⁽⁴⁶⁾.

Americká CCG ověřila koncept s dávkou CSI 23,4 Gy, boosterem na zadní jámu do 54 Gy a následnou adjuvantní CHT ve složení VCR, CCNU a CDDP. Dosažené výsledky byly následující: PFS₃ 86% a PFS₅ 79%⁽³⁵⁾. Navazující studie CCG A9961 kombinuje stejnou radioterapii s vinkristinem a dále randomizuje mezi identickou chemoterapií jako v předchozí studii a ramenem s VCR, CCNU a cyklofosfamidem⁽⁴⁷⁾. Definitivní výsledky dosud nejsou k dispozici.

Shrneme-li uvedené, za **racionální postup v léčbě SR medulloblastomu** lze považovat sled primární operace, následně RT kombinující profylaktické ozáření kraniospinální osy redukovanou dávkou s dosycením na zadní jámu a adjuvantní chemoterapii obsahující kombinaci s cisplatinou.

Obava z pozdních následků RT u dětí pod 8 let vedla k formulaci designu v současnosti probíhající COG studie, kde je randomizována standardní dávka 23 Gy na osu versus 18 Gy a dále druhá randomizace mezi dosycovací dávkou na zadní jámu a pouze na lůžko tumoru. Všichni pacienti obdrží následnou chemoterapii alternujícími cykly založenými na kombinaci obsahující cisplatinu a nebo cyklofosfamid^(47, 48). Výsledky jsou s napětím očekávány.

HR medulloblastom

Historické studie výše uvedené definovaly skupinu pacientů vysokého rizika (metastatická nemoc, reziduum nad 1,5 cm², věk pod 3 roky). Další CCG studie u HR pacientů navazující na CCG-942 srovnávala model „8 léků v jeden den“ s režimem obsahujícím CCNU, vincristin, prednison (CVP). První rameno mělo RT zařazeno po 2 cyklech chemoterapie, druhé rameno naopak. Studie jednoznačně prokázala signifikantně lepší EFS i OS v rameni s chemoterapií CVP zařazenou po radioterapii⁽⁵⁾. Tento výsledek lze dát do souvislosti s typem chemoterapie a pozdním podáním radioterapie. Studie dále potvrdila negativní prognostický dopad jen parciální resekce a diseminace nemoci při diagnóze. Jiná randomizovaná studie provedená německou společností pro dětskou hematologii a onkologii (GPOH) přinesla stejné zjištění, tedy lepší výsledky pro radioterapii předřazenou podání chemoterapie⁽⁴⁵⁾.

Většina současných protokolů pro HR nemoc je založena na následujícím **řazení léčebných modalit**: CSI standardní dávkou (36 Gy) co nejdříve po resekci primárního tumoru, zpravidla s konkomitantní radiosensitizující chemoterapií, poté chemoterapie režimem na bázi platiny.

Některé novější studie ověřují efektivitu chemoterapie s vysokou dávkovou intenzitou po radioterapii včetně chemoterapie myeloablativní s podporou kmenovými buňkami krvetvorby. Velmi dobré předběžné výsledky (ovšem s prozatím krátkým intervalem sledování) publikovala americká skupina ze St. Jude Children's Research Hospital, která se svojí studií SJMB 96 dosahuje dvouletý interval bez progresu (PFS₂) 73,7 +/- 10,5%. Protokol tvoří sled: topotecan s následnou separací autologních kmenových buněk, radioterapie s dávkou na osu 36 Gy a poté 4 cykly submyeloablativní chemoterapie kombinací vincristin, cyklofosfamid a cisplatina s podporou kmenovými buňkami⁽⁴²⁾. Slibné výsledky bude nutné potvrdit v horizontu delšího sledování. Jiná studie s podobnou filosofií COG 99702 obsahuje opět konkomitantní vincristin spolu s radioterapií, následují 3 cykly vysoce dávkované chemoterapie (dvakrát karboplatina + thiotepa, jedenkrát vincristin, carboplatina a cyklofosfamid)⁽⁴⁷⁾.

Ačkoliv předběžné publikované výsledky některých výše uvedených studií poněkud poopravují špatná historická čísla, je celkové přežití pacientů zejména s metastatickou chorobou nadále neuspokojivé a stěží dosahuje 40%. V některých studiích je proto u dětí s makroskopickými metastázami (M2, M3 stádium dle Changa) eskalována dávka CSI na 40 Gy. Předběžné výsledky vykazují jisté zlepšení přežití, avšak limitujícím faktorem může být významná neurotoxicita vysoké dávky záření⁽⁴⁷⁻⁴⁹⁾. Další pracoviště zařazují souběžně s radioterapií podání metronomicky dávkovaného temozolomidu, cytostatika se slibným léčebným potenciálem u nádorů CNS obecně a omezenou toxicitou⁽⁵⁰⁾. Jinou možností představuje posílení terapeutického potenciálu cytostatik jejich současným intratékálním podáním, nadějnými kandidáty této cesty aplikace jsou například topotecan či mafosfamid⁽⁵¹⁾.

MB u dětí pod 3 roky věku

V kapitole o radioterapii byla zdůrazněna její významná neurotoxicita, pokud je aplikována na nezralý dětský mozek. Tím jsou převážně dány limity přístupu u dětí s MB pod 3 a zejména pod 1 rok věku na straně jedné a také špatné léčebné výsledky v této věkové kategorii na straně druhé. Dalším důležitým faktorem je biologická odlišnost MB a častější výskyt metastáz v době diagnózy proti starším dětem⁽²⁶⁾.

Různá schémata chemoterapie byla podávána po operaci s cílem zcela se vyhnout radioterapii nebo ji alespoň oddálit na dobu po dovršení 3. roku věku. Výsledky těchto protokolů nelze považovat za uspokojivé, křivky celkového přežití se zpravidla pohybují maximálně mezi 25 až 45%, a to spíše jenom pro děti s kompletně resekováným nemetastatickým tumorem^(26,37). V rámci POG studie byly malé děti léčeny po operaci kombinací cyklofosfamidu/vincristinu a cisplatiny/eto-

posidu po dobu 1 roku (dětí ve věku 24-36 měsíců) nebo 2 let (dětí pod 24 měsíců), poté následovala diferencovaně radioterapie. Kompletní (CR) nebo částečné odpovědi (PR) bylo dosaženo u 39% dětí. PFS v době ukončení chemoterapie činil 40%⁽⁵²⁾. CCG v jedné studii užila komplikovaný chemoterapeutický režim (tzv. režim 8 léků v jednom dni) v období po operaci. Objektivní odpověď po 2 cyklech chemoterapie byla zaznamenána u 28% dětí, PFS₃ pro skupinu s MB činil 22 +/- 6%. Metastatická choroba představovala faktor s nejvýznamnějším dopadem na prognózu⁽²⁶⁾.

Celkově lze říci, že u malých dětí s MB je převládající léčebná filozofie založena na **myeloablativní chemoterapii** (MAT). Mezi prokázané faktory s pozitivním vlivem na přežití u dětí s nemetastatickou nemocí (M0) v této věkové kategorii patří mimo již uvedenou MAT dále intratékálně podávaný MTX, lokální RT a mezinárodní spolupráce při studiích. Možným kladným prognostickým faktorem je kompletní resekce tumoru (GTR). V současnosti je **standardním přístupem** (lépe řečeno **nejživanějším**) u malých dětí podání chemoterapie v indukci a následné konsolidaci, zpravidla ve vysokých dávkách s podporou autologními krvetvornými buňkami. Po skončení chemoterapie je zvažováno užití fokální konformální radioterapie individuálně na základě věku, klinického stavu, lokalizace, rozsahu tumoru a jeho odpovědi na terapii.

Z velkého množství studií založených na principu vysoké dávkové intenzity chemoterapie lze uvést několik vybraných. Francouzská SFOP léčila děti pod 3 roky s relapsem MB bez předchozí radioterapie myeloablativním režimem busulfan/thiotepa s následnou autologní podporou. Děti s lokální chorobou poté obdržely konformální radioterapii na zadní jámu. EFS činil 50% s mediánem sledování 31 měsíců⁽⁵³⁾. Podobně tzv. „Head start“ protokol byl založen na sledu indukční chemoterapie v 5 cyklech, následné konsolidace myeloablativní chemoterapií, a poté konformální RT na případný reziduální tumor. Hodnoty tříletého OS a EFS činily 40% respektive 25%⁽⁴⁰⁾. Současná COG studie vychází z této zkušenosti (indukce ve 3 cyklech, následně třikrát konsolidace vysoce dávkovanou karboplatinou s etoposidem)^(47,54).

Výsledky studie kombinující systémovou chemoterapii s intraventrikulární aplikací cytostatika publikovali němečtí autoři. Léčili 43 dětí pod 3 roky věku chemoterapií (cyklofosfamid, vinkristin, methotrexát, karboplatina, etoposid v různých blocích) a **intraventrikulárním** podáním malých dávek **methotrexátu** bez užití následné radioterapie. Výpovědní hodnotu studie ovšem snižuje relativně malý a heterogenní soubor pacientů, celkové výsledky ve skupině s makroskopickou diseminací v době diagnózy nejsou odlišné od historických čísel. Slibné byly výsledky pouze ve skupině dětí bez reziduálního tumoru a bez evidence makroskopických metastáz; dosažené hodnoty PFS₅ a OS₅ činily 68 +/- 8% respektive 77 +/- 5% a v průběhu jejich chemoterapie nebyla zaznamenána žádná progresse. Desmoplastický podtyp (pozitivní vliv na prognózu), metastatická nemoc a věk pod 2 roky (negativní vliv) byly shledány nezávislými prognostickými faktory⁽⁵⁵⁾.

Léčba relapsu MB

Přes veškerou léčebnou snahu dochází k návratu nemoci u 30-50% pacientů. Recidiva může být klasifikována jako lokální v zadní jámě, vzdálená mimo primární ložisko (distantní) nebo kombinovaná. Relaps nemoci mimo CNS je extrémně vzácný, ale možný.

Léčebné možnosti jsou značně omezené. Pokud byla již podána předchozí radioterapie kraniospinální osy, je dosahováno 5-ti leté přežití v méně než 10% případů. U dětí primárně léčených radioterapií a pouze konvenční chemoterapií lze (zpravidla s přechodným úspěchem) použít postup založený na vysoce dávkované chemoterapii. Z tohoto přístupu však profitují teoreticky pouze pacienti s izolovaným lokálním relapsem, ověřenou chemosenzitivitou a minimální reziduální nemocí v době MAT. Navzdory počáteční objektivní odpově-

di dochází zpravidla k další rekurenci/progresi a dlouhodobé výsledky jsou tristní⁽⁵⁶⁾. Dalším problémem je poměrně vysoká mortalita na toxicitu terapie u těchto silně předléčených pacientů. Pilotní studie CCG založená na vysoce dávkované karboplatině a thiotepě demonstrovala pozitivní odpovědi na léčbu u jedné třetiny pacientů, ale také vysokou peritranplantacní mortalitu (16%). Nejlepší přežití dosáhli pacienti s nejmenším rozsahem reziduální nemoci v době podání vysoce dávkované chemoterapie, s EFS₃ kolem 34%⁽⁵⁷⁾.

Pozdní následky konvenční terapie

Hlavní léčebnou modalitou zodpovědnou za vznik pozdních následků je radioterapie mozku. **Kognitivní deficity** způsobené RT vznikají opožděně, zhoršují se v dalších 5 letech od vzniku co do závažnosti. Tíže poškození závisí na radiční dávce, objemu a stupni vývoje CNS. Nejohroženější skupinou jsou děti věkové kategorie pod tři a zejména pod jeden rok⁽³⁶⁾.

V jedné z prvních studií COG zaměřených na pozdní následky bylo sledováno celkem 32 dětí s CNS nádory. Děti ve skupině bez RT neutrpěly žádný prokazatelný pokles ve sledovaných parametrech. U ozářených dětí došlo k poklesu střední hodnoty celkového inteligenčního kvocientu (IQ) z výchozích 105 na 91 bodů a pokles byl v inverzní korelaci s věkem. Tento závěr se stal rozhodujícím pro snahu redukovat dávky radioterapie u selektovaných pacientů standardního rizika a malých dětí^(36, 37). Další studie sledovala longitudinálně IQ dětí ozářených dávkou 36 Gy versus redukovanou dávkou 23, 4 Gy na kraniospinální osu. I ve druhé skupině byl prokázán významný pokles ukazatelů inteligence ve srovnání s výchozím stavem. Významnější riziko ohrožovalo děvčátka, děti pod 7 roků věku a pacienti s vyšší vstupní hodnotou IQ^(58, 59). Proto strategie s redukcí dávky pokračovala (pokračuje) v dalších studiích. Například v jedné pilotní studii pro malé děti pod 5 let bez metastatické nemoci je dávka CSI snížena na 18 Gy. Předběžné výsledky stran přežití se jeví prozatím standardní, autoři dále předpokládají redukci pozdních následků v oblasti neurokognitivních funkcí^(47, 52). Obojí je ovšem třeba potvrdit v horizontu delšího sledování.

Porucha růstu je nejčastějším **endokrinním problémem** po radioterapii. Bohužel, k signifikantní retardaci růstu vede u části pacientů i ozáření redukovanou dávkou 18 Gy⁽³⁶⁾. Stran substituční léčby deriváty růstového hormonu existuje nadále kontroverze, důvodem je obava z indukce relapsu původního tumoru, eventuálně zvýšené riziko vzniku sekundární malignity⁽⁶⁰⁾. Zvýšené riziko nebylo jednoznačně prokázáno, avšak za bezpečné se přesto považuje zahájení substituční terapie dva roky od ukončení léčby základního onemocnění při trvající remisi⁽⁶¹⁾. Dalším možným následkem RT je **hypothyreóza** podmíněná ozářením štítné žlázy (periferní typ) nebo hypotalamu (centrální typ). Mezi méně časté následky patří **předčasná** nebo **opožděná puberta**, **adrenokortikální dysfunkce**⁽³⁶⁾. Rutinní endokrinologické sledování je nezbytnou integrální součástí péče o děti po léčbě nádorů CNS.

Nejčastějšími **sekundárními tumory** po radioterapii CNS jsou meningeomy a gliomy vysokého stupně malignity. Po léčbě antracykliny, alkylancií či inhibitory topoizomeráz byl popsán zvýšený výskyt akutní myeloidní leukémie. Rozsáhlá epidemiologická studie dokumentovala 5,4 krát násobný výskyt sekundárních malignit u dětí po léčbě MB proti normální populaci⁽⁶²⁾.

Percepční nedoslýchavost je důsledkem ozáření vnitřního ucha. Významnou ototoxicitu vykazují deriváty platiny (zejména cisplatinu) při prolongované expozici. V prvním případě lze redukovat dávku záření na sluchové ústrojí užitím konformální nebo lépe „intensity modulated“ RT^(38, 39).

Budoucí perspektivy, terapie na molekulární úrovni

V posledních letech je vyvíjena řada protinádorových látek s účinkem proti specifickým proteinům v signálních drahách

nádorových buněk. Otevírá se tak prostor pro tzv. **terapii na molekulární úrovni**, vedenou **inhibitory o malých molekulách**⁽⁶³⁾.

Blízká biologická příbuznost medulloblastomu s neuroblastomem podpořená průkazem in vitro (indukce apoptózy buněk MB) přivedla k myšlence terapie minimální reziduální nemoci po předchozí cytotoxické terapii analogickým způsobem neuroblastomu, tedy dlouhodobým podáváním **retinoidů**⁽²³⁾. **Cyclopamin** je teratogen schopný inhibovat signální dráhu medulloblastomových buněk označenou jako SHH, důsledkem je zástava buněčného cyklu a tumoricidní efekt⁽⁶³⁾. Účinnost látky byla ověřena v preklinickém testování.

Významnou skupinou jsou **blokátory tyrozin kináz receptoru pro epidermální růstový faktor (EGFR)**. Overexprese tohoto receptoru, respektive zvýšená stimulace příslušné signální dráhy je spojena s horší prognózou u řady nádorů včetně CNS. K nejvíce studovaným látkám v této souvislosti patří například **erlotinib (Tarceva)** a **gefitinib (Iressa)**^(18, 20). Studie fáze I/II s těmito a podobnými léky u dětí s nádory CNS započaly pod patronací COG a Pediatric Brain Tumor Consortium⁽⁵⁴⁾. Zatímco kompletní data o klinické účinnosti dosud chybějí, snesitelná toxicita preparátů již byla ověřena. Pro praktické užití se jeví nejvhodnější současná blokáda několika signálních drah a/nebo kombinované podání s klasickou chemoterapií slibující posílení léčebného efektu bez eskalace toxicity.

Blokáda angiogeneze

Další nadějnou cestu představuje **blokáda nádorové angiogeneze**. Do současné doby bylo identifikováno více než 25 cytokinů, jejich receptorů a dalších působků účastnících se tzv. angiogenní kaskády. V případě nádorů CNS hrají významnou roli zejména **vaskulární endoteliální růstový faktor (VEGF)**, **bazický fibroblastový růstový faktor (bFGF)**^(63, 64).

Naše dosavadní zkušenosti se opírají zejména o preklinické testování. **Protilátka DC101** blokuje receptor 2 pro VEGF, podobně jako molekula s označením **SU5416**. Jinou strategií namířenou proti VEGF představují různé „anti-sense“ molekuly, či genová terapie⁽⁶³⁾. Synteticky byl připraven **analog endostatinu** (fyziologický antagonist angiogeneze), protinádorový efekt byl popsán in vitro i na zvířecích modelech⁽⁶⁵⁾. Antiangiogenní potenciál mají také tzv. inhibitory receptorových tyrozin kináz zmíněné výše v textu, například **imatinib (STI-571, Gleevec)** blokuje PDGF receptor, či látka **ZD1839 (Iressa)**, inhibitor receptoru epidermálního růstového faktoru (EGFR)⁽⁶³⁾.

Thalidomide, historicky nechvalně známý teratogen, byl v poslední době rehabilitován pro svoji schopnost inhibovat VEGF a bFGF, což bylo potvrzeno u studií s gliomy vysokého stupně malignity⁽⁶⁴⁾, potenciál ve vztahu k EN CNS je předmětem budoucího výzkumu.

Inhibice angiogeneze byla též prokázána u některých **cytostatik**, jsou-li tato podávána v nižším a dlouhodobém chronickém dávkování (tzv. **metronomické**), než je obvyklé při konvenční chemoterapii. **Temozolomid** vykazuje slibnou efektivitu pokud je podáván v nízkých dávkách denně a dlouhodobě (zejména společně s radioterapií) u pacientů s nově diagnostikovaným medulloblastomem^(50, 64).

Klinické užití antinogenní chemoterapie ještě musí být plně ověřeno. Je možné se zmínit například o dvou studiích iniciovaných americkým Dana-Farber Cancer Institute, z nichž jedna je pediatrická. Jde o podávání kombinace thalidomidu (inhibuje VEGF a bFGF), celecoxibu (inhibuje COX-2), perorálního etoposidu (inhibuje topoizomerázu II) a cyklofosfamidu (alkylace DNA). Pediatrická studie u dětí s nádory CNS byla zkompleťována se slibnými výsledky a v současnosti je na jejím základě připravován design kooperativní multicentrické studie pod záštitou COG^(47, 54).

Závěrem

Minulá desetiletí přinesla nesporné úspěchy v léčbě dětí s medulloblastomem, který se změnil z nemoci prakticky neléčitelné na nemoc v řadě případů kurabilní. Velkým

posunem bylo zavedení multimodální chemoterapie, což umožnilo redukci radioterapie (a tím i pozdních následků) a také zlepšení ukazatelů přežití. Další významný posun k lepšímu však při použití konvenční onkologické terapie není možný, tento přístup již zřejmě dosáhl svého terapeutického maxima.

Poznání nádorové biologie na molekulární úrovni představuje slibný směr do budoucnosti. Cílem je schopnost identifikovat

radu rizikových znaků a tím rizikového pacienta jako takového. Snad je před námi cesta k léčbě na molekulární úrovni, která by (v kombinaci s konvenčním přístupem) mohla představovat skutečně multimodální terapii s redukovanou toxicitou a zásadně lepšími výsledky.

Práce byla částečně podpořena grantem IGA MZ ČR, NR 9125-4

Literatura

1. Stiller CA, Nectoux J. International incidence of childhood brain and spinal tumours. *Int J Epidemiol* 1994, 23, 458-464.
2. Kleihues P, Cavenee WK. Pathology and genetics of tumours of the nervous system. Chapter 8, Embryonal tumours. Lyon, IARC Press 2000, 123-148.
3. Linet MS, Ries SA, Smith MA, Tarone RE, Devesa SS. Cancer surveillance series, recent trends in childhood cancer incidence and mortality in the United States. *J Natl Cancer Inst* 1999, 91, 1051-1058.
4. Thorne RN, Pearson AD, Nicoll JA, et al. Decline in incidence of medulloblastoma in children. *Cancer* 1994, 74 3240-3244.
5. Zeltzer PM, Boyett JM, Finlay JL, et al. Metastasis stage, adjuvant treatment, and residual tumor are prognostic factors for medulloblastoma in children, conclusions from the Children's Cancer Group randomized phase III study. *J Clin Oncol* 1999, 17, 832-845.
6. Chan AW, Tarbell NJ, Black PM, et al. Adult medulloblastoma. Prognostic factors and patterns of relapse. *Neurosurgery* 2000, 47, 623-631.
7. Strother DR, Pollack IF, Fisher PG, et al. Tumors of the central nervous system. In: Pizzo PA, Poplack DG (eds). Principles and practice of pediatric oncology (ed 4). Philadelphia, PA, Lippincott Williams and Wilkins 2002, 751-824.
8. Segall MD, Batnitsky S, Zee CS, et al. Computed tomography in the diagnosis of intracranial neoplasm in children. *Cancer* 1985, 56, 1748.
9. Cohen BH, Bury E, Packer RJ, et al. Gadolinium-DTPA enhanced magnetic resonance imaging in childhood brain tumors. *Neurology* 1989, 39, 1178.
10. Fouladi M, Gajjar A, Boyett JM, et al. Comparison of CSF cytology and spinal magnetic resonance imaging in the detection of leptomeningeal disease in pediatric medulloblastoma or primitive neuroectodermal tumor. *J Clin Oncol* 1999, 17, 3234-3237.
11. Chang CH, Housepian EM, Herbert C Jr. An operative staging system and megavoltage radiotherapeutic technique for cerebellar medulloblastomas. *Radiology* 1969, 93, 1351-1359.
12. Laurent JP, Chang CH, Cohen ME. A classification system for primitive neuroectodermal tumors (medulloblastoma) of the posterior fossa. *Cancer* 1985, 56, 1807-1809.
13. Bouffet E, Gentet JC, Doz F, et al. Metastatic medulloblastoma: The experience of the French Cooperative M7 Group. *Eur J Cancer* 1994, 10, 1478-1483.
14. Pietsch T, Waha A, Koch A, et al. Medulloblastomas of the desmoplastic variant carry mutations of the human homologue of drosophila patched. *Cancer Res* 1997, 57, 2085-2088.
15. Brown HG, Kepner JL, Perlman EJ, et al. „Large cell/anaplastic“ medulloblastomas: A pediatric oncology group study. *J Neuropathol Exp Neurol* 2000, 59, 857-865.
16. Eberhart CG, Kepner JL, Goldthwaite PT, et al. Histopathologic grading of medulloblastomas: A Pediatric Oncology Group study. *Cancer* 2002, 94, 552-560.
17. Pomeroy SL, Tamayo P, Gaasenbeek M, et al. Prediction of central nervous system embryonal tumor outcome based on gene expression. *Nature* 2002, 415, 436-442.
18. Gilbertson RJ, Pearson AD, Perry RH, et al. Prognostic significance of the c-erbB-2 oncogene product in childhood medulloblastoma. *Br J Cancer* 1995, 71, 473-477.
19. Grotzer MA, Janss AJ, Fung K, et al. TrkC expression predicts good clinical outcome in primitive neuroectodermal brain tumors. *J Clin Oncol* 2000, 18, 1027-1035.
20. Gilbertson RJ, Perry RH, Kelly PJ, et al. Prognostic significance of her2 and her4 coexpression in childhood medulloblastoma. *Cancer Res* 1997, 57, 3272-3280.
21. Herms J, Neidt I, Luscher B, et al. C-myc expression in medulloblastoma and its prognostic value. *Int J Cancer* 2000, 89, 395-845.
22. Grotzer MA, Hogarty MD, Janss AJ, et al. Myc messenger RNA expression predicts survival outcome in childhood primitive neuroectodermal tumor/medulloblastoma. *Clin Cancer Res* 2001, 7, 2425-2433.
23. Liu J, Guo L, Luo Y, et al. All trans-retinoic acid suppress *in vitro* growth and down-regulates *Lif* gene expression as well as telomerase activity of human medulloblastoma cells. *Anticancer Res* 2000, 20, 2659-2664.
24. Biegel JA. Cytogenetics and molecular genetics of childhood brain tumors. *Neurooncology* 1999, 1, 139-151.
25. Packer RJ, Rood BR, MacDonald TJ. Medulloblastoma: Present concepts of stratification into risk groups. *Pediatr Neurosurg* 2003, 39, 60-67.
26. Geyer JR, Zeltzer PM, Boyett JM, et al. Survival of infants with primitive neuroectodermal tumors or malignant ependymomas of the CNS treated with eight drugs in 1 day: A report from the Children's Cancer Group. *J Clin Oncol* 1994, 12, 1607-1615.
27. Albright AL, Wisoff JH, Zeltzer PM et al. Effects of medulloblastoma resections on outcome in children: A report from the Children's Cancer Group. *Neurosurgery* 1996, 38, 265-271.
28. Pomeroy SL, Sturla LM. Molecular biology of medulloblastoma therapy. *Pediatr Neurosurg* 2003, 39, 299-304.
29. Fisher PG, Burger PC, Eberhart CG. Biologic risk stratification of medulloblastoma: The real time is now. *J Clin Oncol* 2004, 22, 971-974.
30. Tait DM, Thorton-Jones H, Bloom HJ, et al. Adjuvant chemotherapy for medulloblastoma, the first multi-centre control trial of the International Society of Paediatric Oncology (SIOP I). *Eur J Cancer* 1990, 26, 464-469.
31. Evans AE, Jenkin RDT, Spoto R et al. The treatment of medulloblastoma. Results of prospective randomized trial of radiation therapy with and without CCNU, vincristine, and prednisone. *J Neurosurg* 1990, 72, 572-582.
32. Albright AL, Wisoff JH, Zeltzer PM et al. Prognostic factors in children with supratentorial (nonpineal) primitive neuroectodermal tumors. A neurosurgical perspective from the Children's Cancer Group. *Pediatr Neurosurg* 1995, 22, 1-7.
33. Pollack IF, Polinko P, Albright AL, et al. Mutism and pseudobulbar symptoms after resection of posterior fossa tumors in children: Incidence and pathophysiology. *Neurosurgery* 1995, 37, 885-893.
34. Thomas PR, Deutsch M, Kepner JL, et al. Low-stage medulloblastoma: Final analysis of trial comparing standard-dose with reduced-dose neuraxis irradiation. *J Clin Oncol* 2000, 18, 3004-3011.
35. Packer RJ, Sutton LN, Elterman R, et al. Outcome for children with medulloblastoma treated with radiation and cisplatin, CCNU, vincristine chemotherapy. *J Neurosurg* 1994, 81, 690-698.
36. Packer RJ, Meadows AT, Rorke LB, et al. Long-term sequelae of cancer treatment on the central nervous system in childhood. *Med Pediatr Oncol* 1987, 15, 241-253.
37. Packer RJ, Goldwein J, Nicholson HS, et al. Treatment of children with medulloblastomas with reduced-dose craniospinal radiation therapy and adjuvant chemotherapy. A Children's Cancer Group study. *J Clin Oncol* 1999, 17, 2127-2136.
38. Carrie C, Muracciole X, Gomez F, et al. Conformal radiotherapy, reduced boost volume, hyperfractionated radiotherapy, and online quality control in standard-risk medulloblastoma without chemotherapy: Results of the French M-SFOP 98 protocol. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2005, 63, 711-716.
39. Huang E, Teh BS, Strother DR, et al. Intensity-modulated radiation therapy for pediatric medulloblastoma: Early report on the reduction of ototoxicity. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2002, 52, 599-605.
40. Mason WP, Grovas A, Halpern S, et al. Intensive chemotherapy and bone marrow rescue for young children with newly diagnosed malignant brain tumors. *J Clin Oncol* 1998, 16, 210-221.
41. Štěrbá J, Dembická D, Kořístěk Z, Šlampa P. Vysoko dávkovaná chemoterapie s podporou hemopoetických kmenových buněk v léčbě vysoce rizikových maligních nádorů centrálního nervového systému u dětí. *Čs pediatrie* 2000, 55, 28-32.
42. Strother D, Ashley D, Kellie SJ, et al. Feasibility of four consecutive high-dose chemotherapy cycles with stem-cell rescue for patients with newly diagnosed medulloblastoma or supratentorial primitive neuroectodermal tumor after craniospinal radiotherapy: Results of a collaborative study. *J Clin Oncol* 2001, 19, 2696-2704.
43. Taylor RE, Bailey CC, Robinson K, et al. Results of a randomized study of preradiation chemotherapy versus radiotherapy alone for non-metastatic medulloblastoma: The International Society of Paediatric Oncology/United Kingdom Children's Cancer Study Group PNET-3 study. *J Clin Oncol* 2003, 21, 1581-91.
44. Kunschner LJ, Kuttesch J, Hess K, et al. Survival and recurrence factors in adult medulloblastoma: The M.D. Anderson cancer center experience from 1978 to 1998. *Neurooncology* 2001, 3, 167-173.
45. Bailey CC, Gnekow A, Welke S, et al. Prospective randomised trial of chemotherapy given before radiotherapy in childhood medulloblastoma. International Society of Paediatric Oncology (SIOP) and the (German) Society of Paediatric Oncology (GPO), SIOP II. *Med Pediatr Oncol* 1995, 25, 166-178.

46. Gentet JC, Bouffet E, Dotz F, et al. Preirradiation chemotherapy including „eight drugs in 1 day“ regimen and high dose methotrexate in childhood medulloblastoma: Results of the M7 French Cooperative Study. *J Neurosurg* 1995, 82, 608-614.
47. <http://www.childrenoncologygroup.com>
48. <http://www.curesearch.org/parents/families/protocols>
49. Tarbell NJ, Friedman H, Kepner J, et al. Outcome for children with high stage medulloblastoma. Results of the Pediatric Oncology Group 9031. Proceedings of the 42nd Annual ASTRO Meeting. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2000, 48, 179.
50. Štěrba J, Pavelka Z, Šlampa P. Metronomic temozolomide together with radiotherapy is well tolerated treatment with promising efficacy in children with high-risk brain tumors. *Neoplasia* 2002, 49, 117-120.
51. Rood BR, MacDonald TJ, Packer RJ. Current treatment of medulloblastoma: Recent advances and future challenges. *Semin Oncol* 2004, 31, 666-675.
52. Duffner PK, Horowitz ME, Krischer JP, et al. Postoperative chemotherapy and delayed radiation in children less than three years of age with malignant brain tumors. *N Engl J Med* 1993, 328, 1725-1731.
53. Kalifa C, Raquin MA, Bouffet E, et al. Chemotherapy without irradiation (RT) in medulloblastoma patients younger than three. *Child's Nerv System*. 1998, 14, 472.
54. <http://www.pbtc.org>
55. Rutkowski S, Bode U, Deinlein F, et al. Treatment of early childhood medulloblastoma by postoperative chemotherapy alone. *N Engl J Med* 2005, 352, 978-986.
56. Dunkel IJ, Boyett JM, et al. High-dose carboplatin, thiopeta, and etoposide with autologous stem-cell rescue for patients with recurrent medulloblastoma. *Children's Cancer Group. J Clin Oncol* 1998, 16, 222-228.
57. Finlay JL, Goldman S, Wong MC, et al. Pilot study of high-dose thiopeta and etoposide with autologous bone marrow rescue in children and young adults with recurrent CNS tumors. The Children's Cancer Group. *J Clin Oncol* 1996, 14, 2495-2503.
58. Packer RJ, Sutton LN, et al. A prospective study of cognitive function in children receiving whole-brain radiotherapy and chemotherapy: 2-years results. *J Neurosurg* 1989, 70, 707-713.
59. Ris MD, Packer RJ, Goldwein J, et al. Intellectual outcome after reduced-dose radiation therapy plus adjuvant chemotherapy for medulloblastoma: A Children's Cancer Group study. *J Clin Oncol* 2001, 19, 3470-3476.
60. Sklar CA, Mertens AC, Mitby P, Occhiogrosso G, et al. Risk of disease recurrence and second neoplasms in survivors of childhood cancer treated with growth hormone: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002, 87, 3136-3141.
61. Packer RJ, Boyett JM, Janss AJ, et al. Growth hormone replacement therapy in children with medulloblastoma: Use and effect on tumor control. *J Clin Oncol* 2001, 19, 480-487.
62. Goldstein AM, Yuen J, Tucker MA. Second cancers after medulloblastoma: Population-based results from the United States and Sweden. *Cancer Causes Control* 1997, 8, 865-871.
63. Fisher MJ. Anti-angiogenic agents for the treatment of brain tumors. *Neuroimaging Clin N Am*. 2002, 12, 477-499.
64. Gilbertson RJ. Medulloblastoma: signalling a change in treatment. *Lancet Oncol* 2004, 5, 209-218.
65. Eder JP, et al. Phase I clinical trial of recombinant human endostatin administered as a short intravenous infusion repeated daily. *J Clin Oncol*, 2002, 20, 3772-3784.
66. Bello, et al. Low-dose chemotherapy combined with an antiangiogenic drug reduces human glioma growth in vivo. *Cancer Res*, 2001, 61, 7501-7506.

Došlo: 4. 11. 2005
Přijato: 25. 1. 2006

recenze

D. Ondruš a kol.: Nádory testis, diagnostika a léčba, Martin, Osveta 2004, 301 s., ISBN 80-8063-152-2.

Nádory testis nepatří k příliš frekventním nádorům, ale jejich incidence stoupá a věkový vrchol jejich výskytu se nachází kolem 25 let (nádory neseminomového typu) a kolem 35 let (seminomy). Vzhledem k tomu, že jejich prognóza se za posledních 25 let diametrálně změnila, jejich mortalita dramaticky poklesla, ale přesto se začasť setkáváme s případy pokročilými, musíme tyto nádory považovat nejen za medicínsky, ale i společensky velmi závažné. Vyskytují se totiž v produktivním věku, kdy muži ukončili svou kvalifikaci a začínají pracovně, společensky i rodinně žít.

Z tohoto hlediska je předkládaná monografie nesporným přínosem na trhu onkologické literatury.

Monografie je rozčleněna do 17 kapitol. Epidemiologická kapitola informuje o rasové geografické a věkové incidenci a mortalitě a srovnává situaci ve Slovenské republice se situací v jiných zemích. Trend na Slovensku je podobný - zvyšující se incidence a stabilizace mortality, což svědčí v podstatě o léčebných úspěších.

V další kapitole jsou probrány etiologické a rizikové faktory, přičemž jsou vysvětleny vztahy ke kryptorchismu, urogenitálním malformacím, traumatu, virovým infekcím, inguinální hernii, hormonálním faktorům a faktorům zevního prostředí, faktorům profesním a sexuální.

Kapitola zabývající se molekulární biologii a genetikou vysvětluje vztah k dědičným dispozicím, probírá molekulárně-biologickou etiopatogenezu včetně markerů konvenční cytogenetiky a molekulární cytogenetiky. Jakkoliv jsou zatím molekulárně genetické poznatky (oproti jiným nádorům) u germinálních testikulárních nádorů v začátcích, jsou pro nás důležité a ukazují cesty dalšího bádání. V kapitole jsou obsaženy i zásady genetického poradenství a popsány genetické laboratorní metody. V kapitole „Patologie“ je velmi detailně a přitom naprosto srozumitelně a věcně popsána histogeneze těchto nádorů a jejich patologicko-anatomická klasifikace. Podkapitola je věnována intratubulární neoplázii, kde je vysvětlen její význam i současné

názory na ITN. V kapitolách pojednávajících o klinických příznacích, diagnostice primárního nádoru, nádorových markerech a diagnostice rozsahu choroby, je dán podrobný a přehledný návod ke standardnímu vyšetření před a po diagnóze. Vysvětleny jsou nejčastější příznaky, se kterými nemocný přichází k lékaři prvního kontaktu. Je zde jasně vysvětlena indikace těch kterých vyšetření včetně CT, MR i PT. Podrobný a zasvěcený výklad je věnován otázce nádorových markerů. Kapitola pojednávající o TNM klasifikaci vlastně vychází z uvedených poznatků.

Kapitoly věnující se léčbě jsou rozděleny na chirurgické přístupy, ve kterých kromě zásahů v retroperitoneu nechybí ani zasvěcený výklad o metastasectomii v jiných lokalizacích, zejména v lokalizaci plicní. Léčba je dále detailně rozložena podle typu nádoru (seminomy x neseminomy) a uvnitř každého typu podle klinických stadií. Autoři prokazují, že jsou nejen znalí nejnovějších chemických a radiačních postupů, ale že tyto postupy léta praktikují a mají s nimi intimní zkušenosti.

Poslední dvě kapitoly jsou věnované sexuálnímu poruchám, možnostem jejich předcházení a jejich léčby a dále možnostem prevence a vtypování rizikových skupin. Obojí je důležité jednak pro včasnou diagnostiku a dále pro psychosociální rehabilitaci po léčbě.

Kniha má 301 stran, za každou kapitolou je výčet světové nejnovější literatury, monografie je doplněna fotodokumentací, kresbami a grafy, které činí monografii ještě atraktivnější.

V kolektivu autorů se velmi šťastně sešel sehraný diagnosticko-léčebný tým s mnohaletou zkušeností a vynikající znalostí probírané problematiky. Každý z autorů je nepominutelnou odbornou autoritou. Je velice záslužným počínek, že Prof. MUDr. Dalibor Ondruš, DrSc. tyto autority dovedl směřovat k sepsání tak přínosného a svěžího díla.

Knihu lze doporučit nejen onkologům, urologům, radioterapeutům, patologům, ale i praktickým lékařům a konečně i pokročilejším studentům medicíny.

Doc. MUDr. Jitka Abrahámová, DrSc.
přednosta Onkologického odd. FTN, Praha
V Praze dne 12.2.2006

ANALÝZA OBSAHU METALOTHIONEINU U PACIENTŮ SE ZHOUBNÝM NÁDOREM PRSU, TLUSTÉHO STŘEVA A NEBO MALIGNÍM MELANOMEM

DETERMINATION OF METALLOTHIONEIN CONTENT IN PATIENTS WITH BREAST CANCER, COLON CANCER, AND MALIGNANT MELANOMA

PETRLOVÁ J.¹, BLAŠTÍK O.¹, PRŮŠA R.², KUKAČKA J.², MIKELOVÁ R.¹, STIBOROVÁ M.³, VOJTĚŠEK B.⁴, ADAM V.¹, ZÍTKA O.⁶, ECKSCHLAGER T.⁷, KIZEK R.¹

¹ÚSTAV CHEMIE A BIOCHEMIE, LABORATOŘ MOLEKULÁRNÍ BIOCHEMIE

A BIOELEKTROCHEMIE, MENDELOVA ZEMĚDĚLSKÁ A LESNICKÁ UNIVERZITA, BRNO

²ÚSTAV KLINICKÉ BIOCHEMIE A PATOBIOCHEMIE, 2. LÉKAŘSKÁ FAKULTA UK V PRAZE,

³KATEDRA BIOCHEMIE, PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA UK V PRAZE,

⁴ZÁKLADNÁ EXPERIMENTÁLNÍ ONKOLOGIE, MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV BRNO

⁵KATEDRA ANALYTICKÉ CHEMIE PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA MU BRNO

⁶KATEDRA BIOCHEMIE, PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA MU BRNO

⁷KLINIKA DĚTSKÉ HEMATOLOGIE A ONKOLOGIE, 2. LÉKAŘSKÁ FAKULTA UK PRAHA

Souhrn: Nádorová onemocnění představují velmi závažná onemocnění postihující každého třetího až pátého člověka v populaci. Nedávno bylo zjištěno, že hladiny metalothioneinu (MT) je možné využít jako markeru průběhu nádorových onemocnění. Je známo, že MT je nízkomolekulární intracelulární protein, jehož primární funkcí je udržení homeostázy těžkých kovů v živých organismech. **Metody:** Pro analýzu MT jsme použili (vlastní) námi navržený elektroanalytický postup využívající adsorptivní přenosovou techniku. Elektroanalýza probíhala na přístroji AUTOLAB ve spojení s VA-Stand 663 (Metrohm, Switzerland) v klasickém tříelektroodovém uspořádání v roztoku základního elektrolytu 1 mol.dm⁻³ amonného pufru a 1 mmol.dm⁻³ Co(NH₃)₆Cl₃. Základní biochemické vyšetření séra bylo provedeno na automatickém analyzátoru Advia 1650 a Centaur. Vzorky krevních sér byly získány od 28 pacientů se zhoubnými nádory prsu, tlustého střeva a nebo melanomem v průběhu roku 2005 na klinikách FN Motol. Před vlastní elektroanalýzou byl každý vzorek tepelně denaturován 15 min. při 99 °C a centrifugován při 4 °C, 15 000 g po dobu 30 min. **Výsledky:** Zjistili jsme, že v krevním séru pacientů s nádory prsu byl průměrný obsah MT 1,6 μmol.dm⁻³, přičemž u 9 pacientů překročila hladina MT 1 μM (64 %) a u tří byla hladina MT vyšší než 2 μmol.dm⁻³ (21 %). U pacientů se zhoubným nádorem tlustého střeva byla průměrná hladina MT 3,2 μmol.dm⁻³, tedy 2krát vyšší než u nádoru prsu. Obsah MT vyšší než 1 μmol.dm⁻³ byl pozorován u 8 pacientů (88 %) a u 3 byla hladina MT vyšší než 2 μmol.dm⁻³ (33 %). V případě pacientů s melanomem byla průměrná hladina MT 1,97 μmol.dm⁻³. Vyšší hladina MT byla pozorována u všech pacientů s vyššími hodnotami jaterních enzymů. Velmi zajímavá shoda byla také pozorována mezi hodnotou nádorového markeru CA 15-3 a hladinou MT. **Závěr:** Elektroanalytických technik je možné využít pro analýzu sérových hladin MT u pacientů se zhoubnými nádory. Hladina MT výrazně vzrůstá u většiny pacientů se zhoubnými nádory.

Klíčová slova: metalothionein, MT, diagnostika, melanom, zhoubný nádor prsu, zhoubný nádor tlustého střeva, Brdičkova reakce.

Introduction: Malignant tumours represent a grave illness affecting three out of every ten people in the world. Recently, it has been published that metallothionein (MT), an intracellular high molecular and cysteine-rich protein, which is able to detoxify heavy metals, could serve as a marker of tumour diseases. **Methods:** An adsorptive transfer stripping technique (AdTS) in connection with differential pulse voltammetry was used for the determination of metallothionein. Electrochemical measurements were performed with AUTOLAB Analyser (EcoChemie, Netherlands) connected to VA-Stand 663 (Metrohm, Switzerland), using a standard cell with three electrodes. The Brdicka supporting electrolyte containing 1 mM Co(NH₃)₆Cl₃ and 1 M ammonia buffer (NH₃(aq) + NH₄Cl, pH = 9.6) was used. Basic biochemical analyses were performed with Advia 1650 and Centaur. Human blood serum samples were obtained from 27 patients with breast cancer and malignant melanoma in 2005 at the Department of Clinical Biochemistry and Pathobiochemistry, 2nd Faculty of Medicine Charles University, Czech Republic. Each sample was prepared by heat treatment. Briefly, the sample was kept at 99 °C for 15 min., and then cooled to 4 °C. The denatured homogenates were centrifuged at 4 °C, 15 000 g for 30 min. **Results:** We found out that the metallothionein content in human blood serum of patients with breast cancer reached an average of 1.6 μM. Moreover, the MT content in nine of the patients was higher than 1 μM (64%) and in three of them higher than 2 μM (21%). The average MT content in human blood serum of patients with colon cancer

was 3.2 μM , thus 2 times higher than in breast cancer patients. Eight patients (88 %) with malignant melanoma had more than 1 μM of MT and 3 of them (33 %) more than 2 μM of MT. As for patients with malignant melanoma, their average content of MT was 1.97 $\mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$. Higher level of MT was determined in all patients with higher content of liver enzymes. Moreover, we observed that CA 15-3 tumour marker levels corresponds well with the MT content. **Conclusion:** It is evident that it is possible to use the electroanalytical techniques for determination of MT in blood serum samples of patients with tumour diseases. We found out that MT content markedly increases in all studied blood serum samples of the patients with breast cancer, colon cancer, and malignant melanoma.

Keywords: metallothionein, MT, diagnostics, melanoma, breast cancer, colon cancer, Brdicka reaction.

Úvod

Každým rokem je ve světě diagnostikováno asi 11 milionů případů onemocnění maligním nádorem a 6,7 milionu lidí na tuto nemoc umírá. Ze všech úmrtí ve světě připadá 12 % na zhoubné nádory. Nejvíce diagnostikovanými jsou karcinomy plic, prsu, střev, žaludku, prostaty, děložního čípku a jícnu, a letální, z nich jsou nejčastější karcinomy plic, žaludku a jater. Podle údajů, které vypracoval Národní onkologický registr, žije v České republice s maligním nádorem 302 000 osob. Ze statistik je zřejmé, že ve světě průměrně na 100 000 obyvatel připadá asi 360 případů maligních nádorů, ale v ČR je to 560 případů. V ČR byl v roce 2000 celkový počet hlášených onemocnění zhoubnými novotvarami u mužů 27 847 a u žen 26 546. Ve stejném roce zemřelo na toto onemocnění 15 878 mužů a 12 661 žen. Podle údajů z roku 2002 drží Česká republika evropské prvenství v počtu nemocných maligními nádory konečnicku a ledvin. Mezi nejčastější nádorová onemocnění však v ČR, obdobně jako jinde v Evropě, patří zhoubné nádory kůže, prsu a plic. V ČR postihne karcinom prsu ročně více než 4 500 žen, během života touto chorobou onemocní každá desátá česká žena a ročně na ni zemře přibližně 2 500 žen. Z těchto důvodů vyhlásilo Ministerstvo zdravotnictví ČR a Česká onkologická společnost program zaměřený na pokles výskytu zhoubných onemocnění v české populaci. Značná pozornost by měla být věnována především (ve smyslu Národního onkologického programu ČR) : i) primární prevenci a výchově k udržení zdraví; ii) „screeningovým“ programům využívajícím nových moderních technologií; iii) zlepšení časné diagnostiky mezi něž náleží i nové potencionální markery; iv) vytvoření sítě specializovaných pracovišť; v) podpora výzkumných projektů.

Nedávno Theocharis a spolupracovníci publikovali, že množství metallothioneinu (MT) se mění u řady zhoubných nádorů (nádory prsu, kůže a pankreatu a další). Metallothioneiny (MT) patří do skupiny intracelulárních, nízkomolekulárních na cystein velmi bohatých proteinů (obsah Cys až 30 % v molekule proteinu) o molekulové hmotnosti od 6 - 10 kDa. Je pravděpodobné, že změny v expresi MT mohou být prognostickým markerem u celé řady zhoubných nádorových onemocnění. Z tohoto důvodu je potřebné studovat změny MT u pacientů se zhoubnými nádory pomocí jednoduchých a rychlých analytických postupů. Cílem této práce bylo studovat sérovou hladinu metallothioneinu u pacientů se zhoubnými nádory prsu, tlustého střeva a kůže pomocí elektroanalytických technik.

Materiál a metody

Klinický materiál

V průběhu prvního pololetí roku 2005 byly získána séra od pacientů léčených pro zhoubný nádor prsu, tlustého střeva a melanom na různých odděleních FN Motol (Radioterapeutické oddělení dospělí, Kožní oddělení a III. chirurgická klinika 1. LF UK). Pokud to bylo možné byly sledovány základní biochemické ukazatele (ALP, AST, ALT, GMT a nádorový marker CA 15-3). Krevní séra byla ihned zmrazena na -20 °C do

doby jejich dalšího zpracování. Celkem bylo analyzováno 28 sér pacientů; z toho pro zhoubný nádor tlustého střeva $n = 9$ s průměrným věkem 56,4 roku; melanom $n = 4$ s průměrným věkem 59,5 roku; a pro nádor prsu $n = 15$ s průměrným věkem 51,5 roku.

Biochemická analýza

Hladiny vybraných jaterních enzymů ALP (S-alkalická fosfatasa), AST (S-aspartátamino-transferasa), ALT (S-alaninamino-transferasa) a GMT (S-a-glutamyl-transferasa) byly analyzovány spektrofotometricky na automatickém biochemickém analyzátoru Advia 1650 (Bayer, Tarrytown USA) za využití setu Bayer při 37 °C. Množství nádorového markeru CA 15-3 bylo stanoveno na analyzátoru Centaur (Bayer, Tarrytown, USA) imunochemiluminiscenční metodou.

Příprava vzorků pro elektroanalytické stanovení metallothioneinu

Ze získaných vzorků krevních sér bylo odebráno 100 μl a umístěno na 15 min. při 99 °C do termobloku (Eppendorf 5430, USA). Poté byly vzorky ochlazeny na 4 °C a centrifugovány při 4 °C, 15 000 g po dobu 30 min. (Eppendorf 5402, USA). Metallothioneiny patří k termostabilním proteinům, které zůstávají přítomné v roztoku i po jeho tepelné denaturaci. Takto připravené vzorky byly analyzovány námi upraveným postupem adsorptivní přenosové techniky (AdTS) s diferenční pulsní voltametrií (DPV). Množství analyzovaného vzorku bylo 5 μl .

Elektroanalytické stanovení metallothioneinu pomocí Brdičkovy reakce metodou AdTS DPV

Vzorky byly analyzovány na přístroji AUTOLAB Analyser (EcoChemie, Netherlands) ve spojení s VA-Stand 663 (Metrohm, Switzerland) v klasickém tříelektrodovém uspořádání. Pracovní elektrodou byla visící rtuťová kapková elektroda (HMDE) s plochou kapky 0,4 mm²; referenční elektrodou byla Ag/AgCl/3M KCl a pomocnou grafitová elektroda. Základní elektrolyt (1 mmol·dm⁻³ Co(NH₃)₆Cl₃ a 1 mol·dm⁻³ amonný pufr; NH₃(aq) + NH₄Cl, pH = 9,6) byl po každých 5 analýzách vyměněn. AdTS DPV parametry byly následující: počáteční potenciál -0,6 V, konečný potenciál -1,6 V, modulační čas 0,057 s, časový interval 0,2 s, potenciálový krok 1,05 mV/s, modulační amplituda 250 mV, $E_{\text{ads}} = 0$ V, teplota 0 °C.

Výsledky a diskuse

Před více než sedmdesátí lety objevil Rudolf Brdička katalytické vylučování vodíku ze základního elektrolytu v přítomnosti proteinů. Elektroanalytická metoda byla dále vylepšena a využita pro analýzu proteinů krevních sér pacientů s rakovinou. Získaná experimentální data přinesla zajímavé výsledky ukazující na možnost využívat tzv. Brdičkovu reakci pro studium prognózy zhoubných onemocnění. Nebylo však zcela zřejmé, které proteiny byly podle vypracované metodiky stanovovány. Později se podařilo objevit skupinu mukoproteinů (MP-1, MP-2 a MP-3), ale proteinům o nižší molekule

lové hmotnosti nebyla věnována žádná pozornost. Jak se však v poslední době ukazuje, nízkomolekulární proteiny (jako je metalothionein) a peptidy (jako je glutathion), hrají významnou roli v řadě biologických procesů včetně regulace buněčného dělení.

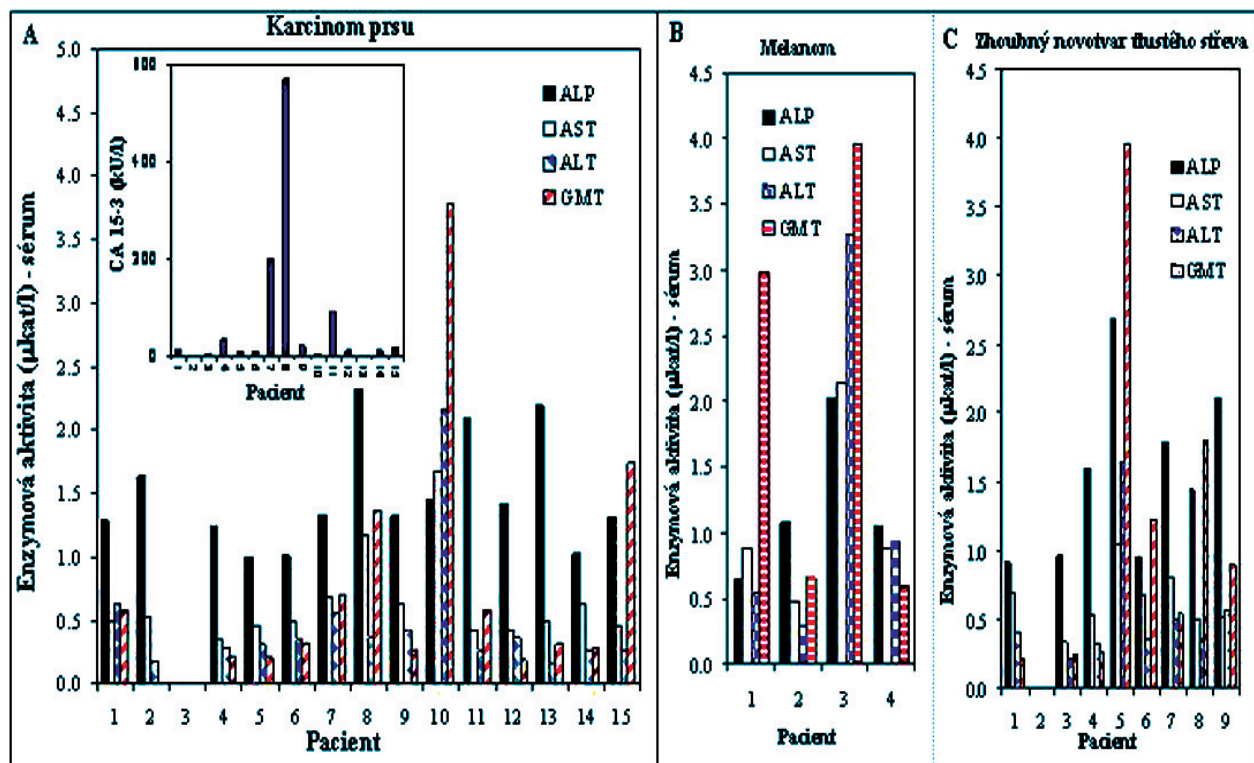
V této naší práci jsou popsány prvotní experimentální výsledky stanovení obsahu metalothioneinu u 28 pacientů se zhoubnými nádory prsu, tlustého střeva a kůže s průměrným věkem 55 let (v různém stadiu a fázi onemocnění a léčby). Vzorů krevních sér bylo odebráno v průběhu prvního pololetí roku 2005, a pokud to bylo možné, byly charakterizovány z hlediska základních biochemických ukazatelů (aktivita jaterních enzymů, případně nádorového markeru CA 15-3); viz. (Obr. 1A,B,C). U většiny pacientů nebyl pozorován výrazný vzestup hladiny jaterních enzymů (ALP, AST, ALT a GMT). Ten nebyl zvýšen ani u většiny pacientek s karcinomem prsu. Analýza MT byla provedena námi modifikovaným elektroanalytickým postupem (diferenční pulzní voltametrie v kombinaci s adsorptivní přenosovou voltametrií). Studovaný vzorek (připravený podle postupu uvedeného v sekci Materiál a metody) je adsorbován z 5 μ l kapky na povrch pracovní elektrody, poté je přebytečný roztok z povrchu elektrody omyt a modifikovaná elektroda je umístěna do měřicí nádoby (Obr. 2A). V případě, že místo vzorku (obsahujícího proteiny) použijeme vodu, získáme záznam redukce iontů kobaltu (Co^{2+}) bez pozorovaných katalytických signálů (Obr. 2B, čárkovaná křivka). Adsorbovaný metalothionein (po dobu 120 s) o koncentraci 10 nM poskytuje tři výrazné katalytické signály (RS_2Co , Cat_1 a Cat_2), jak je ukázáno na Obr. 2B. Při další analýze MT byl vyhodnocován katalytický signál Cat_2 . Závislost výšky pozorovaného signálu na koncentraci adsorbovaného MT na povrch pracovní elektrody byla lineární ($y = 5,5233x + 0,7177$; $R^2 = 0,9918$, Obr. 2C). Vzorů krevních sér pacientů se zhoubnými nádory prsu, tlustého střeva a kůže byly analyzovány pomocí uvedeného postupu. Získané voltamogramy jsou ukázány na Obr. 2D. Pro naše účely byl opět vyhodnocován katalytický signál Cat_2 . Na získaných voltamogramech byl

pozorován rozdílný průběh záznamu u pacientů s nádory prsu, tlustého střeva a melanomem. U pacientů s melanomem byl většinou pozorovatelný signál Cat_2 bez signálu Cat_1 . V sérech pacientů s nádory prsu však bylo možné kromě katalytického signálu Cat_2 , téměř vždy pozorovat katalytický signál Cat_1 . Nejvýraznější katalytické signály byly pozorovány u pacientů se zhoubným nádorem tlustého střeva. V naší předešlé práci jsme se pokusili určit průměrnou hladinu MT u zdravých lidí, která kolísá okolo $0,6 \pm 0,3 \mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ MT. Zjistili jsme, že u pacientů s nádory prsu byl průměrný obsah MT $1,6 \mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$, přičemž u devíti pacientů překročila hladina MT $1 \mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ (64 %) a u tří byla hladina MT vyšší než $2 \mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ (21 %), jak je ukázáno na obrázku 3A. V případě pacientů s melanomem byla průměrná hladina MT $1,97 \mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ a u 3 pacientů byl obsah MT vyšší než $1 \mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$, viz. Obr. 3B. U pacientů se zhoubným nádorem tlustého střeva byla průměrná hladina MT $3,2 \mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$, tedy 2krát vyšší než u pacientů s nádorem prsu (Obr. 3C). Obsah MT vyšší než $1 \mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ byl pozorován u 8 pacientů (88 %) a u 3 byla hladina MT vyšší než $2 \mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ (33 %). Vyšší hladina MT byla pozorována u všech pacientů s vyššími hodnotami jaterních enzymů. Velmi zajímavá shoda byla také pozorována mezi hodnotou nádorového markeru CA 15-3 a hladinou MT. Vztahu nádorového markeru CA 15-3 a hladiny MT se bude věnovat naše další práce.

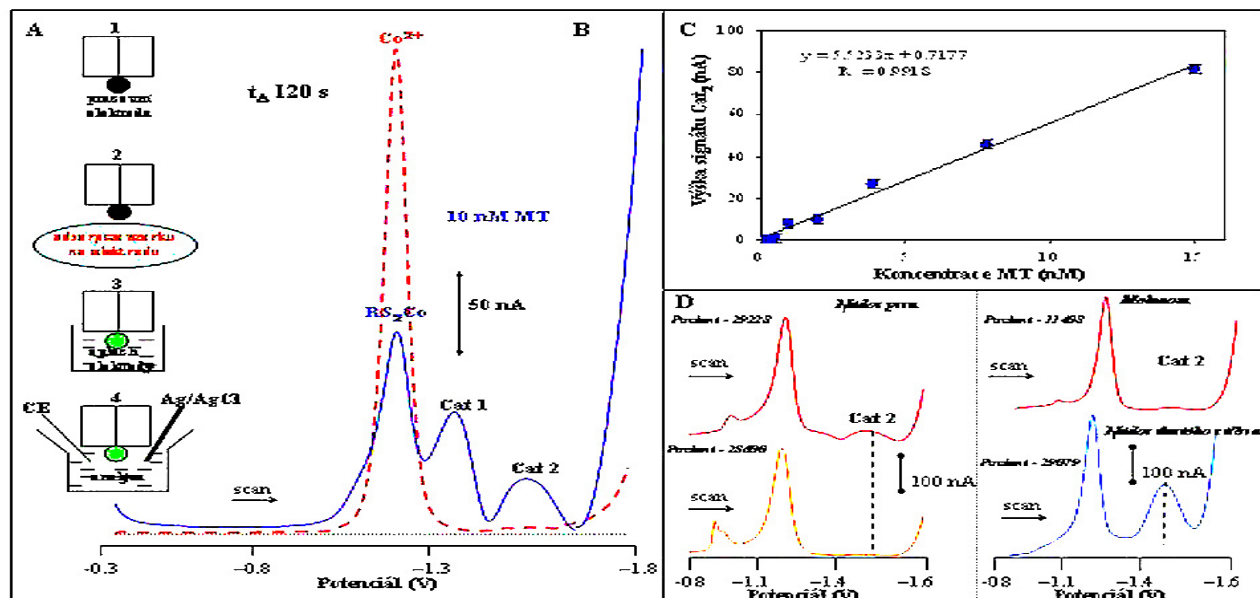
Závěr

Jak je ukázáno v naší práci, elektroanalytických technik je možné využít pro analýzu významných biologicky aktivních proteinů u pacientů se zhoubnými nádory. Z námi získaných experimentálních výsledků je zřejmé, že hladina sérového MT výrazně stoupá u většiny pacientů se zhoubnými nádory. Navíc u pacientů se zhoubným nádorem tlustého střeva a melanomem byl nárůst hladiny MT výrazně vyšší ve srovnání s pacienty se zhoubným nádorem prsu.

Poděkování. Práce na tomto příspěvku byla financována grantem: RASO 8/2005 a GAČR 525/04/P132.

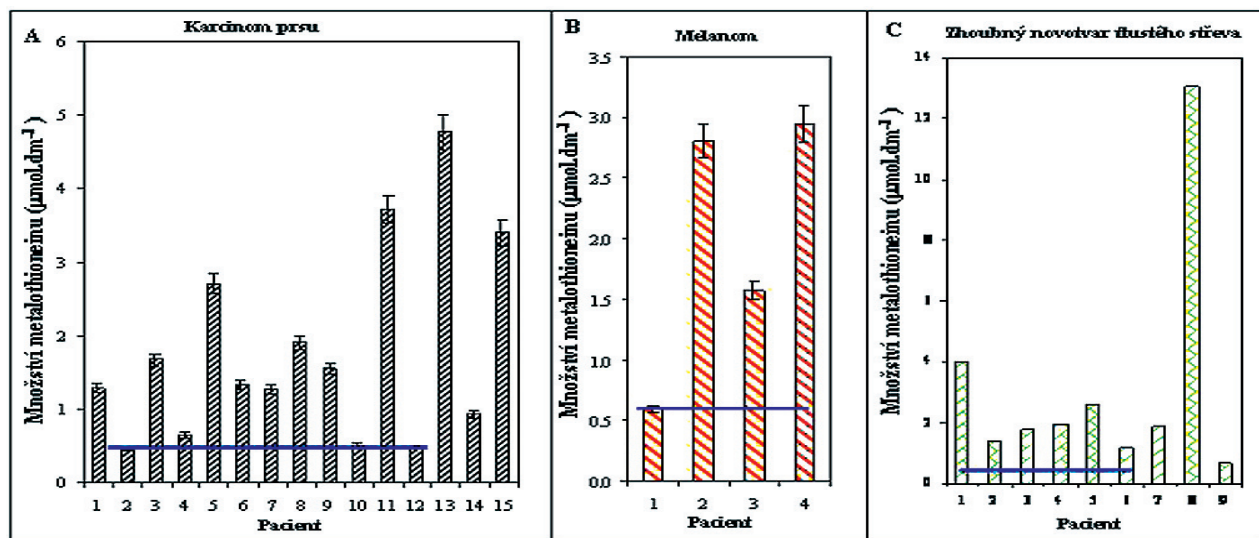


Obr. 1.: Enzymová aktivita jaterních enzymů (ALP, AST, ALT a GMT) u pacientů s (A) nádory prsu, (B) melanomem (C) zhoubným nádorem tlustého střeva. Ve vloženém obrázku je ukázána hladina nádorového markeru CA 15-3.



Obr. 2.: Elektroanalytické stanovení metalothioneinu. (A) Schéma adsorptivní přenosové techniky (1) vytvořená pracovní elektroda; (2) adsorpce vzorku na povrch elektrody; (3) oplach elektrody, odstranění nadbytečného množství vzorku; (4) analýza. (B) Diferenční pulzní voltamogram základního elektrolytu (---) a 10 nmol dm^{-3} MT po 120 s akumulaci na povrch pracovní elektrody. (C) Závislost výšky signálu Cat₂ na koncentraci. (D) Typické voltamogramy pacientů s nádory prsu, tlustého střeva a melanomem. AdTS DPV parametry byly následující: počáteční potenciál -0,6 V, konečný potenciál -1,6 V, modulační čas 0,057 s, časový interval 0,2 s, potenciálový krok 1,05 mV/s, modulační amplituda 250 mV, $E_{ads} = 0$ V, teplota 0 °C. Další podrobnosti jsou uvedeny v sekci Materiál a metody.

— Průměrná hodnota MT zdravých lidí



Obr. 3.: Množství MT u pacientů s (A) nádory prsu a (B) melanomem (C) zhoubným nádorem tlustého střeva.

Literatura

1. Abrhamova, J.: Národní onkologický registr. <http://www.uzis.cz/cz/nor/norindex.htm> 2005.
2. Plesko, I., Obsitnikova A., Cuninkova M.: Epidemiological aspects of in situ female breast cancer in Slovakia. *Klinická Onkologie* 2003, 16, 227-230.
3. NOP: Czech National cancer control program. *Klinická Onkologie* 2004, 17, 36-36.
4. Aschermannova, A.: Úvodník. *The Lancet Oncology - Czech* 2005, 4, 81-81.
5. Skovajsova, M., Bartonkova H., Danes J.: Breast cancer screening in the Czech Republic. *Klinická Onkologie* 2004, 17, 46-48.
6. Zaloudik, J.: National oncological program - anachronism or future view? *Klinická Onkologie* 2004, 17, 72-74.
7. Theocharis, S. E., Margeli A. P., Klijanienko J. T., Kouraklis G. P.: Metallothionein expression in human neoplasia. *Histopathology* 2004, 45, 103-118.
8. Kizek, R., Vacek J., Adam V., Vojtesek B.: Metallothionein - Cisplatin and anticancer therapy. *Klin. Biochem. Metab.* 2004, 12, 72-78.
9. Kizek, R., Vacek J., Trnkova L., Klejdus B., Havel L.: Application of catalytic reactions on a mercury electrode for metallothionein electrochemical detection. *Chem. Listy* 2004, 98, 160-167.
10. Kasahara, K., Fujiwara Y., Nishio K., Ohmori T., Sugimoto Y., Komiya K., Matsuda T., Saijo N.: Metallothionein content correlates with the sensitivity of human small cell lung cancer lines to cisplatin. *Cancer Res.* 1991, 51, 3237-3242.
11. Zelena, J., Potesil D., Vacek J., Adam V., Hradecky J., Prusa R., Kizek R., Vojtesek B.: Metallothionein as a prognostic marker of tumor disease. *Klinická Onkologie* 2004, 17, 190-195.
12. Kizek, R., Trnkova L., Palecek E.: Determination of metallothionein at the femtomole level by constant current stripping chronopotentiometry. *Anal. Chem.* 2001, 73, 4801-4807.
13. Trnkova, L., Kizek R., Vacek J.: Catalytic signal of rabbit liver metallothionein on a mercury electrode: a combination of derivative chronopotentiometry with adsorptive transfer stripping. *Bioelectrochemistry* 2002, 56, 57-61.
14. Strouhal, M., Kizek R., Vacek J., Trnkova L., Nemecek M.: Electrochemical study of heavy metals and metallothionein in yeast *Yarrowia lipolytica*. *Bioelectrochemistry* 2003, 60, 29-36.
15. Olafson, R. W., Olsson P. E.: Electrochemical detection of metallothionein. *Methods in Enzymol.* 1991, 205, 205-213.
16. Brazdova, M., Kizek R., Havran L., Palecek E.: Determination of glutathione-S-transferase traces in preparations of p53 C-terminal domain (aa320-393). *Bioelectrochemistry* 2002, 55, 115-118.
17. Petrlova, J., Potesil D., Mikelova R., Blastik O., Adam V., Trnkova L., Jelen F., Prusa R., Kukacka J., Kizek R.: Attomole voltammetric determination of metallothionein. *Electrochim. Acta* 2005, submitted.
18. Brdicka, R.: Polarographic studies with the dropping mercury cathode. -Part XXXI. - A new test for proteins in the presence of cobalt salts in ammoniacal solutions of ammonium chloride. *Coll. Czech. Chem. Commun.* 1933, 5, 112-128.
19. Heyrovsky, M.: Rudolf Brdicka a fyzikální chemie. Od polarografie po hmotnostní spektrometrii. *Vesmír* 2005, 84, 257-259.
20. Brdicka, R.: Polarographic investigation in serological cancer diagnosis. *Nature* 1937, 139, 1020-1021.
21. Brdicka, R.: Application of the polarographic effect of proteins in cancer diagnosis. *Nature* 1937, 139, 330-330.
22. Brdicka, R.: Zur frage nach der natur der polarographisch feststellbaren serumveränderungen bei Krebs. *Klinische Wochenschrift* 1938, 18, 305-308.
23. Heyrovsky, J.: Polarographic research on cancer. *Nature* 1938, 142, 317-319.
24. Kalous, V.: 70 let od objevu Brdickovy polarografické reakce bílkovin. *Klin. Biochem. Metab.* 2004, 12, 265-267.
25. Prusa, R., Blastik O., Potesil D., Trnkova L., Zehnalek J., Adam V., Petrlova J., Jelen F., Kizek R.: Metallothioneins as a marker of tumor diseases. *Clin. Chem.* 2005, 51, A56-A56.
26. Prusa, R., Kizek R., Vacek J., Trnkova L., Zehnalek J.: Study of relationship between metallothionein and heavy metals by CPSA method. *Clin. Chem.* 2004, 50, A28-A29.
27. Prusa, R., Potesil D., Masarik M., Adam V., Kizek R., Jelen F.: Fast and sensitive electrochemical detection of native, denatured, and aggregated forms of tumor suppressor protein p53. *Mol. Bio. Cell* 2004, 15, 249A-249A.
28. Petrlova, J., Blastik O., Prusa R., Kukacka J., Potesil D., Mikelova R., Adam V., Zehnalek J., Kizek R.: Using of electrochemical methods for studying of metallothionein content in the human blood serum of a patient poisoned by lead and treated by platinum. *Biomedical Papers* 2005, 149, in press.
29. Petrlova, J., Blastik O., Zitka O., Adam V., Potesil D., Mikelova R., Prusa R., Stiborova M., Trnkova L., Zehnalek J., Kizek R.: An electrochemical study of metallothionein as a potential tumour disease marker. *Annals the Polish Chemical Society* 2005, in press.

Došlo: 20. 8. 2005
Přijato: 13. 1. 2006

LYSOFOSFATIDOVÁ KYSELINA U PACIENTEK S OVARIÁLNÍM KARCINOMEM

LYSOPHOSPHATIDIC ACID IN OVARIAN CARCINOMA PATIENTS

SEDLÁKOVÁ I.¹, VÁVROVÁ J.², TOŠNER J.¹, HANOUSEK L.³

¹PORODNICKÁ A GYNEKOLOGICKÁ KLINIKA LFUK A FN HRADEC KRÁLOVÉ

²ÚSTAV KLINICKÉ BIOCHEMIE A DIAGNOSTIKY LFUK A FN HRADEC KRÁLOVÉ

³GYNEKOLOGICKO - PORODNICKÉ ODDĚLENÍ NEMOCNICE V PARDUBICÍCH

Souhrn: *Východisko:* Lysofosfatidová kyselina (LPA, 1-acyl-2-lyso-sn-glycero-3-fosfát) byla prokázána ve vyšších koncentracích u patientek s ovariálním karcinomem. LPA vykazuje vyšší senzitivitu zejména v časných stádiích ovariálního karcinomu. *Typ studie a soubor:* Cílem projektu bylo zhodnocení plazmatických hodnot lysofosfatidové kyseliny u patientek s ovariálním karcinomem ve srovnání s pacientkami bez tohoto novotvaru. *Metody a výsledky:* Po zavedení metodiky ve Fakultní nemocnici v Hradci Králové v roce 2003 jsme LPA stanovovali pomocí vysokoúčinné kapilární elektroforézy s nepřímou UV detekcí. Tato metoda umožňuje stanovit jednotlivé podtypy LPA. Venózní krev byla odebrána u 93 patientek - 29 patientek s ovariálním karcinomem, 64 patientek bez ovariálního karcinomu. Zjistili jsme signifikantně vyšší hodnoty všech podtypů lysofosfatidové kyseliny ve skupině patientek s ovariálním karcinomem (Σ LPA med 19,9 $\mu\text{mol/l}$, min 4,5 $\mu\text{mol/l}$, max 42,7 $\mu\text{mol/l}$, $p < 0,001$). Statisticky významně nižší hodnoty jsme diagnostikovali jak u patientek bez patologie na obou ovariích ($n=35$) (Σ LPA med 2,6 $\mu\text{mol/l}$, min 0,9 $\mu\text{mol/l}$, max 22,9 $\mu\text{mol/l}$, $p < 0,001$), tak u patientek s histologicky prokázanou benigní ovariální cystou ($n=20$) (Σ LPA med 10,4 $\mu\text{mol/l}$, min 1,1 $\mu\text{mol/l}$, max 28,8 $\mu\text{mol/l}$, $p < 0,001$). *Závěr:* Dosavadní výsledky ukazují lysofosfatidovou kyselinu jako perspektivní nádorový marker u patientek s ovariálním karcinomem.

Klíčová slova: ovariální karcinom, lysofosfatidová kyselina, onkomarker

SUMMARY: *Backgrounds:* Lysophosphatidic acid (LPA, 1-acyl-2-lyso-sn-glycero-3-phosphate) has been shown to stimulate proliferation of ovarian cancer cells. Elevated LPA levels were detected in early-stage ovarian cancer. *Design and subjects:* The objective of this study was to compare plasma lysophosphatidic acid levels in ovarian cancer patients and patients without this disease. *Methods and results:* The method for LPA level analysis with specification by capillary electrophoresis using indirect ultraviolet detection has been implemented. Since beginning of this project venous blood samples from 93 patients (29 patients with ovarian cancer, 64 patients without ovarian cancer) have been obtained. Plasma LPA levels were elevated in ovarian cancer patients (Σ LPA med 19,9 $\mu\text{mol/l}$, range 4,5 - 42,7 $\mu\text{mol/l}$, $p < 0,001$). Patients without ovarian pathology ($n=35$) (Σ LPA med 2,6 $\mu\text{mol/l}$, min 0,9 $\mu\text{mol/l}$, max 22,9 $\mu\text{mol/l}$, $p < 0,001$) and patients with benign ovarian disease ($n=20$) (Σ LPA med 10,4 $\mu\text{mol/l}$, min 1,1 $\mu\text{mol/l}$, max 28,8 $\mu\text{mol/l}$, $p < 0,001$) had statistically significant lower plasma LPA levels compared with ovarian cancer patients. *Conclusions:* Our preliminary results suggest that plasma LPA level may represent a potential ovarian cancer marker.

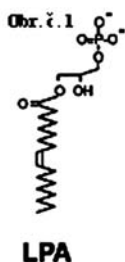
Key words: ovarian cancer, lysophosphatidic acid, marker

Úvod

Incidence ovariálního karcinomu vykazuje v České republice prokazatelný vzestup. V roce 1979 bylo v České republice zachyceno 796 případů, to je 14,9 na 100 000 žen, v roce 1994 byl záchyt již 1090 případů, což odpovídá relativní incidenci 20,5/100 000 (1). Trend standardizované úmrtnosti se za posledních 25 let téměř nezměnil. Pětileté přežití u patientek s ovariálním karcinomem diagnostikovaném ve stadiu IA se uvádí 90% a u II. stadia 70%, u stadia III 15-25% a stadia IV 5-10% (2). U 75% žen s karcinomem ovaria je však nádorové onemocnění zjištěno až v pokročilém stadiu. To je dáno především omezenou schopností detekovat tumor v časném stadiu a dále nedostatkem efektivní terapie pokročilých nádorů.

Časná diagnostika je vzhledem k asymptomatickému průběhu onemocnění velice obtížná a do dnešní doby nemáme k dispozici žádnou efektivní metodu pro časnou detekci. Dnes nejčastěji užívaným nádorovým markerem karcinomu ovaria je glykoprotein Ca 125. Zvýšené plazmatické hladiny Ca 125 nejsou však specifické pouze pro ovariální karcinom a vyskytují se mimo jiné i u patientek s negynekologickými malignitami, endometriózou, adenomyózou, salpingitidou (3). Pouze 45-50% ve stadiu I má zvýšené Ca 125. Proto jsou hledány nové nádorové markery (4). Velmi perspektivní se ukazuje lysofosfatidová kyselina (LPA). Plazmatická koncentrace LPA je zvýšena u 98% všech patientek s karcinomem ovaria, včetně 90% patientek s onemocněním v I. stadiu (5). Lys-

ofosfatidová kyselina je zvýšená v plazmě a ascitu pacientek s ováriálním karcinomem (6). Lysofosfatidová kyselina (1-acyl-2-lyso-*sn*-glycero-3-fosfát) je nejjednodušší formou fosfolipidu a její koncentrace v plazmě je fyziologicky velmi nízká. LPA je produkována maligním ováriálním epitelem a aktivuje zde množství biologických odpovědí zahrnující zvýšení buněčné proliferace, zvýšení doby přežití snížením apoptózy, pokles senzitivity k cis- platině, zvýšení invazivity nádorových buněk, zvýšení produkce vaskulárního endoteliálního růstového faktoru (VEGF) a zvyšuje produkci sebe sama (7). LPA nezpůsobuje podobné odpovědi na zdravých buňkách povrchového epitelu ovaria. Různý efekt LPA na normální ováriální epitel ve srovnání s ováriálními nádorovými buňkami je pravděpodobně důsledkem různé exprese LPA receptorů (8, 9). Bioaktivní lipid LPA zásadně ovlivňuje chování karcinomu ovaria (9).



Obr. č. 1 - Chemická struktura lysofosfatidové kyseliny

Cíl práce

Hlavním cílem projektu bylo přispět ke zvýšení efektivity diagnostiky ováriálního karcinomu a umožnění zachytu časných stádií tohoto novotvaru prostřednictvím stanovení hladiny lysofosfatidové kyseliny v plazmě. V roce 2003 jsme ve Fakultní nemocnici v Hradci Králové zavedli metodiku stanovení lysofosfatidové kyseliny v plazmě u pacientek s ováriálním karcinomem pomocí vysokoúčinné kapilární elektroforézy s nepřímou UV detekcí. Specifikovali jsme jednotlivé podtypy lysofosfatidové kyseliny. Zhodnotili jsme rozdíl hladiny LPA u pacientek s ováriálním karcinomem a žen zdravých. Zjišťovali jsme význam hladiny LPA v plazmě v souvislosti se stadiem onemocnění, histologickým typem nádoru a stupněm diferenciaci. Nejvýznamnějším momentem tohoto projektu je posouzení možnosti využití stanovení hladiny LPA v plazmě jako nového nádorového markeru v diagnostice ováriálního karcinomu.

Metodika

Pro stanovení hladiny LPA jsme použili vysokoúčinnou kapilární elektroforézu s nepřímou UV detekcí. Tato metoda poskytuje možnost stanovení jednotlivých podtypů lysofosfatidové kyseliny v biologickém materiálu. Jedná se o: LPA(M) 1-myristoyl-2-hydroxy- *sn*-glycerofosfatidovou kyselinu, LPA(P) 1-palmitoyl-2-hydroxy-*sn*-glycerofosfatidovou kyselinu, LPA(S) 1-stearoyl-2-hydroxy-*sn*- glycerofosfatidovou kyselinu a LPA(O) 1-oleoyl-2-hydroxy-*sn*-glycerofosfatidovou kyselinu.

Přístrojové vybavení

Pro separaci byl použit systém pro kapilární elektroforézu (P/ACE 5510, Beckman Ins., USA) se softwarovým systémem Gold (Beckman Ins, USA). Přístroj využíval on-line UV detektor (Beckman Ins., USA), pracoval při teplotě 25°C. Vzorky byly dávkovány tlakem 3,45 kPa po dobu 5 s. Separace probíhala při vložení napětí 25 kV (normální polarita s katodou na výstupu). K analýze byla použita otevřená neupravená křemenná kapilára (Watrex, ČR), délka 47 cm o vnitřním průměru 75 mm. Nová kapilára byla před prvním použitím kondicionována po dobu 1 hod. 0,1 mol/l roztokem NaOH, 20 min. deionizovanou vodou, 20 min. metanolem a 30 min. separačním pufrem. Denně byla kapilára promývána 0,1 mol/l NaOH po dobu 5 min., deionizovanou vodou 2 min. a separačním pufrem po dobu 15 minut.

Chemikálie a použité materiály

Standarty lysofosfatidových kyselin (syntetické, čistota >99 %) : 1-Oleoyl-2-Hydroxy-*sn*-Glycero-3-[Phospho-*rac*-(1-glycerol)] sodná sůl (LPG(O)), 1-Oleoyl-2-Hydroxy-*sn*-Glycero-3-Phosphate sodná sůl (LPA(O)), 1-Oleoyl-2-Hydroxy-*sn*-Glycero-3-Phosphoethanolamine (LPE (O)), 1-Myristoyl- 2- Hydroxy - *sn*-

Glycero-3-Phosphate sodná sůl (LPA(M)), 1-Palmitoyl-2-Hydroxy-*sn*-Glycero-3-Phosphate sodná sůl (LPA (P), 1-Stearoyl-2-Hydroxy-*sn*-Glycero-3-Phosphate sodná sůl (LPA(S), 1-Palmitoyl-2-Hydroxy-*sn*-Glycero-3-Phosphoethanolamine (LPE (P)), 1-Palmitoyl-2-Hydroxy-*sn*-Glycero-3-[Phospho-*rac*-(1-glycerol)] sodná sůl (LPG (P)) a 1-Oleoyl-2-Hydroxy- *sn*-Glycero-3-[Phospho-L-Serine] sodná sůl (LPS (O)) byly dodány firmou Avanti Polar Lipids, Inc. (USA). Adenosin-5-monofosfát-monohydrát (AMP, Sigma-Aldrich, SRN), metanol (p.a., Lachema, ČR), kyselina boritá (H₃BO₃, p.a., Lachema, ČR), NaOH p.a. (Lachema, ČR), fólie TLC POLY SIL 20x20 cm (Macherey-Nagel, SRN). Vodné roztoky byly připravovány rozpouštěním substancí v deionizované vodě (R >18 MW, Millipore-milli-Q plus, Francie). Zásobní roztoky standardů byly připraveny rozpuštěním standardu ve směsi metanol-chloroform (2:1 v/v) s koncentrací 5 mmol/l jednotlivých kyselin. Pracovní standardy byly připraveny vždy čerstvě ředěním ze zásobního roztoku.

Příprava vzorků a jejich analýza

Pro extrakce vzorků bylo nutno zajistit teplotu 0-4°C, aby se minimalizovala tvorba esterových vazeb. K výchozímu objemu biologického materiálu (1 ml séra) se přidalo 50 µl pracovního roztoku standardní směsi přídavek LPA (S), LPA (P), LPA (O), LPA (M) a LPA (D), ke směsi se pipetovalo 0,2 ml 12 mol/l HCl a 4 ml směsi metanol-chloroform (2:1). Po 10 min. třepání v chladu se přidával 1 ml chloroformu a 1,25 ml vody. Po centrifugaci (10 min/1000 g) se spodní vrstva odtáhla a odpařila pod dusíkem na objem cca 50 µl, takto koncentrovaný extrakt se nanášel na desku pro tenkovrstvou chromatografii, aby došlo k oddělení fosfolipidů od lysofosfatidových kyselin (LPA). Využívací soustavou byla směs: chloroform - metanol - amoniak (65:35:5,5 v/v/v), separace byla na startu vizualizována postřikem 0,1% 8-anilino-1-naftalensulfonovou kyselinou. Spot LPA se detekoval postřikem vodou, extrahoval se z chromatografické desky, extrakt se odpařil pod dusíkem, odparek se poté rozpustil v 1 ml 5% roztoku separačního pufru ve směsi metanol-voda (9:1 v/v) a aplikoval se do systému kapilární elektroforézy. Separace probíhala v separačním pufu 5 mmol/l adenosin-5-monofosfát-monohydrátu s 10 mmol/l kyseliny borité (roztok ve směsi metanol-voda 9:1), pH 5,4. Při teplotě 25°C a vložení napětí 25 kV s normální polaritou byly píky analyzovaného vzorku dávkovaného tlakem po dobu 5 s detekovány nepřímou fotometrickou detekcí při 254 nm.

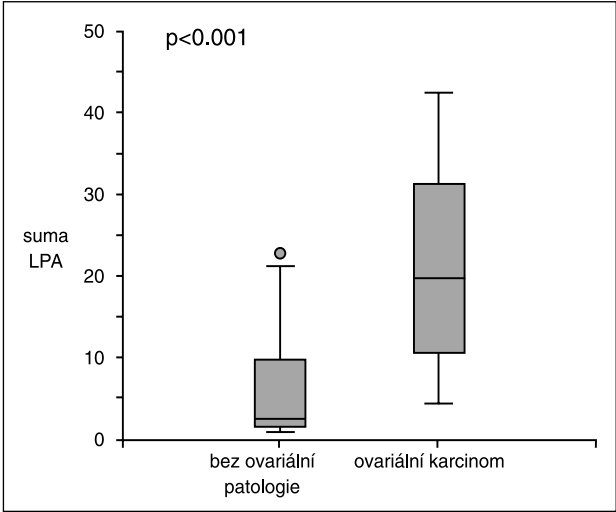
Soubor pacientek

Do studie bylo zařazeno celkem 93 žen - 29 pacientek s karcinomem ovaria (prům.věk 56, min 20, max 82 let),

Charakteristika	Stadium I + II (n = 7)	Stadium III + IV (n = 22)
Věk, median (min, max) let	45 (20– 62)	62 (40–82)
Stadium (FIGO)		
I	4	0
II	3	0
III	0	20
IV	0	2
Stupeň diferenciaci		
G1	4	3
G2	3	13
G3	0	6
Histologický typ nádoru		
Serózní adenokarcinom	1	10
Endometroidní OCa	2	8
Mucinózní OCa	2	3
Bliž nespecif. OCa	2	1

Tab. č. 1 - Charakteristika souboru pacientek s karcinomem ovaria

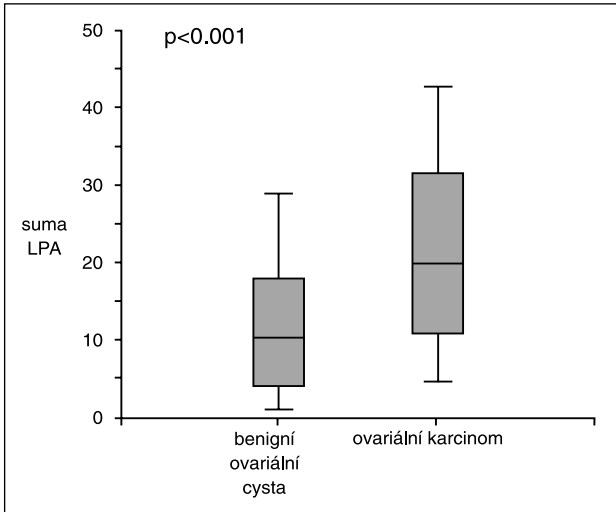
35 žen s peroperačně normálním nálezem na obou ovarích (prům.věk 50, min 38, max 81 let), 20 žen s histologicky potvrzenou benigní ovariální cystou (prům.věk 39, min 16, max 78 let) a 9 pacientek s jinými malignitami (2 pacientky karcinom hrdla děložního, 2 pacientky karcinom endometria a 5 pacientek s kolorektálním karcinomem) (prům.věk 58, min 32, max 74 let). Charakteristika souboru pacientek s karcinomem ovaria viz. Tab. č. 1. Odběr venózní krve byl prováděn u pacientek na Porodnické a gynekologické klinice Fakultní nemocnice v Hradci Králové a na Gynekologicko-porodnickém oddělení nemocnice v Pardubicích v letech 2003 - 2005. Těmto ženám byla jeden den před plánovanou operací odebrána venózní krev, která byla zpracována po podrobné preanalytické přípravě pomocí vysokoučinné kapilární elektroforézy s nepřímou UV detekcí. Jelikož odběr venózní krve patří mezi výkony rutinně prováděné u těchto pacientek, nebyl nutný informovaný souhlas pacientky (schváleno etickou komisí Fakultní nemocnice Hradec Králové). Pro statistické zpracování byly použity neparametrické testy Mann-Whitney a Kolmogorov-Smirnov.



Graf. č. 1 - Hladina lysofosfatidové kyseliny v plazmě u pacientek s karcinomem ovaria a žen bez patologie na ováriích (p < 0,001)

Výsledky

Ve skupině pacientek s ovariálním karcinomem (n=29) s hladinou lysofosfatidové kyseliny stanovenou před zahájením primární léčby jsme specifikovali signifikantně vyšší hodnoty všech podtypů lysofosfatidové kyseliny z celého souboru a to jak v časných tak i pozdních stádiích onemocnění: **LPA-S** (I+II (n=7) med 2,7 μmol/l, III+IV (n=22) med 5,1 μmol/l), **LPA-O** (I+II med 2,4 μmol/l, III+IV med 1,8 μmol/l), **LPA-P** (I+II med 3,8 μmol/l, III+ IV med 5,6 μmol/l), **LPA-M** (I+II med 2,6 μmol/l, III+IV med 2,1 μmol/l) (p < 0,001). Statisticky významně nižší hodnoty jsme diagnostikovali u pacientek bez patologie na obou ováriích (n=35). Hodnoty lysofosfatidové kyseliny u pacientek s histologicky potvrzenou benigní ovariální cystou a pacientek s ostatními malignitami byly také statisticky významně nižší v porovnání s pacientkami s ovariálním karcinomem (p < 0,001) (viz. tab. č.2, graf č. 1 a 2). Statisticky významný rozdíl hodnot lysofosfatidové kyseliny v plazmě v závislosti na histologickém typu nádoru a stupni diferenciacie jsme v naší práci nezaznamenali, to může být zkresleno počtem pacientek.



Graf. č. 2 - Hladina lysofosfatidové kyseliny u pacientek s karcinomem ovaria a žen s benigní ovariální cystou (p < 0,001)

Tab.č.2.	Ovariální karcinom		Bez ovariální patologie		Benigní ovariální cysta		Jiné malignity	
	n = 29		n = 35		n = 20		n = 9	
	μmol/l, (p<0,001)		μmol/l, (p<0,001)		μmol/l, (p<0,001)		μmol/l, (p<0,001)	
	med	min - max	med	min - max	med	min - max	med	min - max
LPA - S	2,9	0,7 – 24,8	0,7	0,1 – 11,3	1,0	0,4 – 14,1	2,0	0,6 – 17,9
LPA - O	2,8	0,2 – 7,6	0,2	0 – 7,6	0,8	0 – 7,6	1,4	0,1 – 4,1
LPA - P	6,4	1,9 – 19,1	1,2	0,5 – 6,5	10,2	2,2 – 16,7	1,1	0,3 – 8,9
LPA - M	2,5	0,1 – 10,7	0,1	0,03 – 7,0	0,94	0,1 – 6,9	0,7	0,1 – 3,5
suma LPA	19,9	4,5 – 42,7	2,6	0,9 – 22,9	10,4	1,1 – 28,8	6,9	1,5 – 24,2

Tab. č. 2 - Hladiny vyšetřovaných podtypů lysofosfatidové kyseliny v plazmě v jednotlivých skupinách pacientek

Diskuse

Ovariální karcinom je onemocněním asociované s vysokou mortalitou především z důvodu nemožnosti diagnostikovat tumor v časném stadiu. Nalezení nového efektivního markeru pro detekci zejména časných stadií onemocnění by mohlo přispět ke zlepšení prognózy a celkové doby přežití. Výsledky této práce ukázaly statisticky významně vyšší hodnoty všech podtypů lysofosfatidové kyseliny v plazmě u pacientek s karcinomem ovaria v porovnání s kontrolní skupinou. Nejvýraznější rozdíl byl patrný mezi skupinou pacientek s ovariálním karcinomem a skupinou žen bez patologie na ováriích. Zmíněné výsledky dosáhly statistické významnosti a podporují představu využití lysofosfatidové kyseliny jako perspektivního markeru ovariálního karcinomu. Stejně jako výsledky studie skupiny 48 zdravých žen a 48 žen s ovariálním karcinomem, které ukazují vyšší senzitivitu LPA pro ovariální karcinom, než ostatní dostupné nádorové markery (5). Signifikantně vyšší hodnoty lysofosfatidové kyseliny v plazmě pacientek s ovariálním karcinomem prokázaly i další studie (10, 11, 12, 13, 14, 15). Pouze práce porovnávající LPA v plazmě u 32 pacientek s ovariálním karcinomem a 32 žen zdravých kapalnou chromatografií nezjistila významné rozdíly (16). Jedním z možných vysvětlení tohoto odlišného výsledku může být rozdílný metodický postup. Při stanovení LPA v plazmě je nutné respektovat mimo jiné správné načasování a teplotu před a v průběhu centrifugace, přesnou extrakci a separaci vzorků, správné koncentrace extraktu (10). Vyšší plazmatické hodnoty LPA jsme zaznamenali i v časných stadiích ovariálního karcinomu (FIGO I a II). Stejně jako ve studii porovnávající hladiny LPA a Ca 125 v závislosti na stadiu onemocnění. Ve stadiu I mělo LPA zvýšené 89% a 22% mělo elevaci Ca 125, ve stadiu II, III a IV ovariálního karcinomu mělo LPA zvýšené 100% a Ca 125 54% (5). Můžeme tedy předpokládat, že stanovení LPA v plazmě by mohlo přispět k detekci časných stadií onemocnění. Zajímavé je zjištění nepatrně vyšších hodnot jedno-

tlivých podtypů LPA u pacientek s histologicky potvrzenou benigní ovariální cystou v porovnání s pacientkami bez patologie na ováriích. Zhodnocení vztahu mezi benigními změnami ovaria a plazmatickou hladinou tohoto fosfolipidu jsme v dostupné literatuře nezaznamenali. Prokázána je produkce lysofosfatidové kyseliny maligním ovariálním epitelem (10, 13, 14). LPA zvyšuje expresi VEGF v ovariální nádorově změněné tkáni prostřednictvím LPA2 receptorů, které jsou ve velkém množství exprimovány právě na povrchu ovariálních nádorových buněk, ale na povrchových buňkách normálního epitelu ovaria prokázány nebyly (9). Je popisován minimální vliv lysofosfatidové kyseliny na normální povrchový epitel ovaria (17). Předmětem intenzivního zájmu posledních dvou let je způsob jakým lysofosfatidová kyselina ovlivňuje chování ovariálních nádorových buněk (9). Porovnání rozdílů hodnot LPA u pacientek s různými diagnózami včetně benigních ovariálních cyst vyžaduje další rozsáhlejší studie (10, 14), stejně jako zhodnocení plazmatické hodnoty lysofosfatidové kyseliny ve vztahu k histopatologickým a klinickým parametrům.

Závěr

Prokázali jsme signifikantně vyšší hodnoty lysofosfatidové kyseliny v plazmě pacientek s ovariálním karcinomem v porovnání jak s pacientkami bez patologie na obou ováriích tak s pacientkami s histologicky prokázanou benigní cystou ovaria. Vzestup lysofosfatidové kyseliny v plazmě jsme pozorovali i v časných stadiích onemocnění. Lze tedy předpokládat, že stanovení hladiny lysofosfatidové kyseliny v plazmě umožní zefektivnění diagnostiky ovariálního karcinomu a mohlo by přispět k zachytu časných stadií tohoto onemocnění. Dosavadní výsledky této studie ukazují, že lysofosfatidová kyselina je perspektivní marker ovariálního karcinomu.

Poděkování

Práce byla podpořena grantem IGA MZ ČR 7666-3

Literatura:

1. Robová H., Rob L., Pluta J. et al.: Zhoubné nádory ovaria. Moderní gynekologie a porodnictví, 4, 2000, 679-693.
2. Citterbart K. et al. Gynekologie. Galén. 2001, 170-173.
3. Hoskins J.W., Perez A.C., Young C.R.: Principles and Practice of Gynecologic Oncology. Lipincott-Raven, 1996
4. Bast R.C., Xu F.J., Yu Y.H. et al.: Ca 125: the past and the future. Int J Biol Markers, 13, 1998, 179-187.
5. Xu Yan, Shen Z, Wiper DW. et al. Lysophosphatidic Acid as a Potential Biomarker for Ovarian and Other Gynecologic Cancers. JAMA. 1998, 280: 719-723.
6. Fishman D.A., Bozorgi K.: The scientific basis of early detection of epithelial ovarian cancer: the National Ovarian Cancer Early Detection Program (NOCEDP). Cancer Treat Res. 107, 2002, 3-28.
7. Fang X., Schummer M., Mao M. et al.: Lysophosphatidic acid is a bioactive mediator in ovarian cancer. Biochemica et Biophysica Acta, 2002, 123-126.
8. Tokumura A. Physiological and pathophysiological roles of lysophosphatidic acids produced by secretory lysophospholipase D in body fluids. Biochemica et Biophysica Acta. 2002, 142-143.
9. So J., Wang F., Navari J. et al.: LPA-induced epithelial ovarian cancer (EOC) in vitro invasion and migration are mediated by VEGF receptor-2 (VEGFR2). Gynec. Oncology, 97, 2005, 870-878.
10. Sutphen R., Xu Y., Wilbanks D. et al.: Lysophospholipids Are Potential Biomarkers of Ovarian Cancer. Cancer Epidem., 13, 2004, 1185 - 1191.

11. Xiao Y., Chen Y., Kennedy A.W. et al.: Evaluation of plasma lysophospholipids for diagnostic significance using electrospray ionization mass spectrometry analyse. Ann NY Acad Sci, 905, 2000, 242-259.
12. Okita M., Gaudette D.C., Mills G.B. et al.: Elevated levels and altered fatty acid composition of plasma lysophosphatidylcholine in ovarian cancer patients. Int J Cancer, 71, 1997, 31-34.
13. Meng Y., Kang S., So J. et al.: Translocation of Fas by LPA prevents ovarian cancer cells from anti-Fas-induced apoptosis. Gynec. Oncology, 96, 2005, 462-469.
14. So J., Navari J., Wang F.O. et al.: Lysophosphatidic acid enhances epithelial ovarian carcinoma invasion through the increased expression of interleukin-8. Gynec. Oncol., 95, 2004, 314-322.
15. Eder A., Sasagawa T., Mao M. et al.: Constitutive and lysophosphatidic acid induced LPA production: role of phospholipase D and phospholipase A2. Clin. Cancer Res., 6, 2000, 2482-2491.
16. Baker D.L., Kortison P., Miller B. et al.: Plasma lysophosphatidic acid concentration and ovarian cancer. JAMA, 287, 2002, 3081-3082.
17. Tanyi J.L., Morfia J.A., Wolf J.K. et al.: The Human Lipid Phosphate Phosphatase-3 Decreases the Growth, Survival, and Tumorigenesis of Ovarian Cancer Cells: Validation of the Lysophosphatidic Acid Signaling Cascade as a Target for Therapy in Ovarian Cancer. Cancer Research, 63, 2003, 1073- 1082.

Došlo: 7. 11. 2005
Přijato: 4. 2. 2006

ULTRAZVUKOVÁ TOPOGRAFIE AXILLY

ULTRASOUND TOPOGRAPHY OF THE AXILLA

BARTOŇKOVÁ H.¹, STANDARA M.¹, SCHNEIDEROVÁ M.¹, FAIT V.², DEMLOVÁ R.¹

¹MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV BRNO, RADIOLOGICKÉ ODDĚLENÍ

²MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV BRNO, ODD. CHIRURGICKÉ ONKOLOGIE

Souhrn

Cíl: Vytvořit standardně použitelné ultrazvukové rozdělení axily na etáže tak, aby mohlo být dosaženo snadnější odborné komunikace mezi ultrasonografisty vzájemně i mezi ultrasonografistou a operujícím chirurgem, zejména v případě UZ nálezů patologických axilárních uzlin. **Metoda:** návrh vychází z dosavadních poznatků ostatních zobrazovacích radiologických metod axily a současně z topografické anatomie - navrhli jsme vlastní ultrazvukové rozdělení axily na kvadranty, které lépe odpovídá potřebám UZ zobrazování. **Závěr:** Předoperační ultrazvukové vyšetření axilárních uzlin se zařadilo mezi standardní výkony u karcinomu prsu. S rozvojem techniky peroperačního vyhledávání sentinelové uzliny („sentinel node biopsy“) nabývá ultrazvukové vyšetřování axily více na významu.

Klíčová slova: ultrazvukové vyšetření axily, ultrazvuková topografie axily, karcinom prsu

Summary

Aim: To establish ultrasound topography of the axilla in order to improve communication between sonographers and between the sonographer and the surgeon, primarily in case of the sonographically detected positive lymph nodes. **Methods:** Our proposal is based on present imaging of the axilla along with anatomy. Our suggested quadrant topology is more appropriate for ultrasound imaging. **Conclusion:** Preoperative ultrasonography of the axilla has become a standard preoperative examination in breast cancer patients and its importance further increases along with sentinel node biopsy development.

Keywords: axillary sonography, ultrasonic topography of axilla, breast cancer

Úvod

Mezi standardní předoperační vyšetření nově zjištěného karcinomu prsu patří kromě jiných výkonů i ultrazvukové (UZ) vyšetření prsů a axily. Doplnění UZ vyšetření prsů k mamografii pacientky je vhodné k mnohdy přesnějšímu posouzení velikosti tumoru, potvrzení či vyloučení multicentricity či multifokality (zejména u denzních typů žlázy např. Tabár IV a V, resp. BI-RADS c a d). S rozvojem techniky „sentinel node biopsy“ nabývá předoperační UZ vyšetření na významu z hlediska možnosti určení metastatického (MTS) postižení axilárních uzlin.

UZ topografie axily

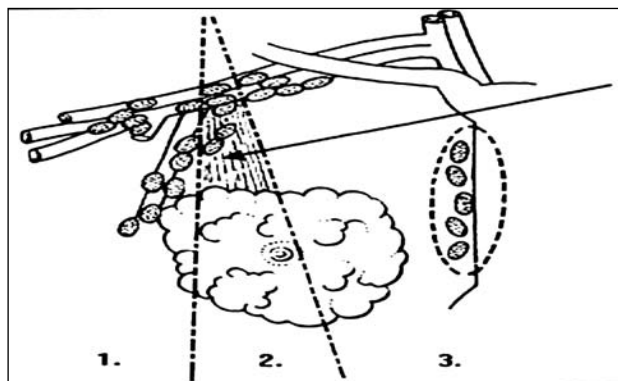
Žena při UZ vyšetřování prsu leží na zádech s abdukovanými pažemi tak, aby byl dobrý přístup lineární ultrazvukové sondy do podpažní jamky. Vhodná délka pracovní plochy sondy je od 4 do 6 cm, u delších lineárních sond může být problém v dostatečném kontaktu s kůží u štíhlých žen. Samozřejmostí je pracovní frekvence sondy nad 5 Mhz, nejlépe pak 7-16 Mhz a UZ přístroj alespoň střední třídy.

Při návrhu ultrazvukové topografie axily jsme sice vycházeli z klasické anatomie, nicméně rozdělení spíše odpovídá potřebám UZ zobrazování. Ultrasonografista se totiž nemůže topograficky orientovat jako chirurg, který odkrývá postupně jednotlivé anatomické vrstvy axily v podstatě jakoby v rovině frontální. UZ obraz je „řez“, strukturami do hloubky a pohled na tento řez má

být standardně směrem od dolních končetin - tedy zdola nahoru při transversálním postavení sondy na tělo a zprava při podélném postavení UZ sondy - paralelní postavení sondy s dlouhou osou těla vyšetřovaného pacienta. Ultrasonografista se při vyšetřování axily také dost obtížně orientuje průběhem pektorálních svalů, proto standardní klinické (chirurgické) rozdělení axilárních uzlin na tři etáže podle vztahu k m. pectoralis minor je pro UZ nevhodné a velmi obtížně posouditelné (obr. 1).

Pro UZ vyšetření axily na našem pracovišti jsme si zvolili rozdělení axily na kvadranty, podobně jako je tomu u prsu. Základními strukturami, které jsou na UZ snadno rozpoznatelné, jsou dobře viditelný průběh cévního svazku axily (tj. a. axillaris a v. či vv. axillares) a hlavice pažní kosti.

Při zvednuté paži tvoří axilární cévní svazek od hlavice humeru směrem k periférii horní končetiny vertikální linii, která rozděluje axilu na zevní a vnitřní polovinu. Základní dlouhou osou se stává průběh vena axillaris, která nejprve v obloučku navazuje na podklíčkovou žílu (v. subclavia) a dále víceméně ve střední čáře pokračuje na paži (obr. 2). U části (cca 30%) u nás vyšetřovaných žen probíhala žíla více mediálněji, takže zevní kvadranty axily byly pak u těchto vyšetřovaných něco větší než vnitřní. Pokud je žíla zdvojená, tvoří vertikální osu nejzevnější probíhající žíla. Horizontální hranicí, která dále dělí zevní a vnitřní polovinu axily na kvadranty, je proximální okraj humeru, tedy struktura, která je v UZ obraze také velmi dob-



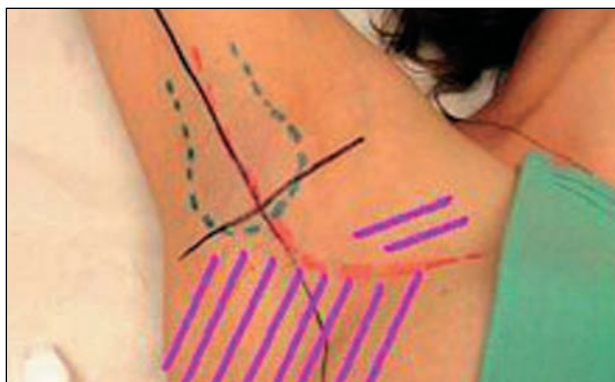
Obr. 1



Obr. 2



Obr. 3



Obr. 4

ře rozeznatelná (obr. 3). Ultrasonografistu u diagnózy karcinomu prsu pak významně zajímají oba dolní kvadranty axily, zejména pak zevní dolní kvadrant, neboť zde se nachází skupina centrálních, většina pectorálních a interpektorálních uzlin a část centrálních axilárních uzlin. Ve vnitřním horním kvadrantu, mediálně od v. axillaris, pak skupina apikálních uzlin axily. (obr.4).

UZ nález patologických axilárních uzlin v zevním dolním kvadrantu axily tedy odpovídá přibližně první a druhé etáži (uzliny zevně od m. pectoralis minor a uzliny pod svaelem).

Diskuse

V písemnictví najdeme velké množství prací, ve kterých se autoři zabývali ultrazvukovým vyšetřením axily a hodnocením axilárních uzlin. Řada prací je věnována UZ hodnocení patologických axilárních uzlin in vitro, řada se věnuje srovnání diagnostické výtěžnosti UZ vyšetření při použití dopplerovských funkcí, jiní autoři posuzují výtěžnost ultrazvukového vyšetření axily s jinými metodami, zejména ve srovnání s klinickým vyšetřením. K topografii při ultrazvukovém vy-

šetření se autoři nevyjadřují nebo vycházejí z klasického chirurgického rozdělení na 3 etáže, které podle našich zkušeností není pro topografické zhodnocení axilárních uzlin ideální. Ultrazvukové předoperační vyšetření axilárních uzlin zejména u dg. Ca mammy shledáváme jako standardní diagnostickou metodu, která významně napomáhá další terapeutické rozvaze, zejména úvaze o rozsahu operačního výkonu na axile. Spolu s klinickým předoperačním nálezem v axile a zejména pak v kombinaci s metodou zjištění a histologického vyšetření sentinelové uzliny, přispívají tyto diagnostické metody k racionálnímu operačnímu zásahu na axile.

Závěr

Ve spektru standardních předoperačních vyšetření u zjištěného karcinomu prsu by nemělo chybět ultrazvukové vyšetření prsu a regionálních uzlin. Při ultrazvukovém nález patologických uzlin v axilách je vhodné popsat kromě vizáže uzlin a jejich velikosti i lokalizaci uzlin v axile. Pro přesnější topografické zhodnocení patologických axilárních uzlin jsme navrhli rozdělení axily na kvadranty.

Literatura:

1. Borovanský L : Soustavná anatomie člověka II. díl, Avicenum 1973, 26-30
2. Feneis H : Anatomický obrazový slovník GRADA Publishing 1996, 256-7
3. Abrahámová J, Povýšil C et al. Atlas nádorů prsu Grada Publishing, 2001, 212-3, 230-4
4. Leucht D, Madjar H : Teaching Atlas of Breast Ultrasound Georg Thieme Verlag 1996, 20-1, 181-8 5. Strnad P, Daneš J : Nemoci prsu pro gynekology GRADA Publishing 2001, 16-18
6. Feu J, Tresserra F, Fabregas R et al. : Metastatic Breast Carcinoma in Axillary Lymph Nodes: In Vitro US Detection. Radiology 1997, 205, 831-35
7. Vassalo P, Edel G, Roos N et al. : In-Vitro High-Resolution Ultrasonography of Benign nad Malignant Lymph Nodes Investigative Radiology, 1993, vol 28, 8:698-705
8. Kubek KA, Chan L, Frazier TG : Color Doppler flow as an indicator of nodal metastasis in solid breast masses. J.Ultrasound Med.1996 Dec, 15 (12): 835-41

9. Shirakawa T, Miyamoto Y, Yamagishi J et al. : Color/power Doppler sonographic differential diagnosis of superficial lymphadenopathy: metastasi, malignant lymphoma, and benign process. J Ultrasound Med. 2001 May, 20(5): 525-32
10. Yang WT, Metreweli C, Lam KWP et al. : Benign and Malignant Breast Masses and Axillary Nodes : Evaluation with Echo-enhanced Color Power Doppler US. Radiology, Sept. 2001, Vol.220, Nr.3, 795-802
11. Strauss HG, Lampe D, Methfessel G et al. : Präoperative Axillasonographie beim malignitätsverdächtigen Mammatumour - ein diagnostischer Gewinn? Ultraschall in Med. 19, 1998, 70-77
12. Verbanck J, Vandewiele I, De Winter H et al. : Value of axillary ultrasonography and sonographically guided puncture of axillary nodes: a prospective study in 144 consecutive patients. J Clin Ultrasound, 1997 Feb, 25(2): 53-6

Došlo: 1. 10. 2005
Přijato: 21. 1. 2006

KMENOVÉ BUŇKY, NÁDOROVÉ KMENOVÉ BUŇKY A KARCINOGENEZE STEM CELLS, TUMOR STEM CELLS AND CARCINOGENESIS

S. FILIP¹, J. MOKRÝ², J. PETERA¹

¹ ONKOLOGICKÁ A RADIOTERAPEUTICKÁ KLINIKA LFUK a FN, HRADEC KRÁLOVÉ

² ÚSTAV HISTOLOGIE A EMBRYOLOGIE LF UK, HRADEC KRÁLOVÉ

Souhrn: V současné době se stále více mluví o nádorech jako o onemocnění souvisejícím s kmenovými buňkami. Zvláštní pozornost je věnována vztahu tkáňové reparace a karcinogeneze. Některé pochody související s normální regulací tkáňové reparace mohou mít souvislost s karcinogenezí. Kmenové a nádorové buňky mají mnoho shodných vlastností a nyní existuje mnoho důkazů, že mikroprostředí, cytokiny a signální cesty regulují specifickou tkáň a významně přispívají ke karcinogenezi. Teorie buněčného původu nádorů je důležitá, ale je nedostatečná, aby vysvětlila proces karcinogeneze. Dodnes však není zcela vyjasněn skutečný vztah mezi normálními a nádorovými buňkami. Máme-li uvažovat o tkáňově specifických kmenových buňkách v souvislosti se vznikem nádoru, potřebujeme vědět, jak zabránit vzniku nádoru, aniž by se také úplněablokovala normální regenerace tkání. Z dosavadních experimentálních výsledků můžeme říci, že kmenové buňky a nádorové kmenové buňky zřejmě hrají klíčovou úlohu v karcinogeneze. Toto sdělení představuje určitou sondu a úvod do diskuse určené pro karcinogenezu. Porozumění podnětům, které stimulují aktivaci kmenových buněk, může vést k profylaktickým přístupům pro terapii a možné prevenci nádorů.

Klíčová slova: kmenové buňky, nádorové kmenové buňky, mikroprostředí, plasticita, karcinogeneze

Summary: At present, tumors are frequently considered as a disease associated with stem cells. Special attention is dedicated to tissue reparation and carcinogenesis. Some processes connected with normal regulation of tissue reparation may be related to carcinogenesis. Stem cells and tumor cells share many identical features and now evidence has been presented that microenvironment, cytokine, and signaling pathways regulate tissue homeostasis and may also contribute to carcinogenesis. The theory of the cellular origin of cancer is important, but it is not sufficient to explain the process of carcinogenesis. Up to the present day, however, the real relationship between normal and tumor cells has not been elucidated. If we wish to consider the relationship of the tissue-specific stem cells with cancer, then we need to learn how to prevent tumor onset without completely blocking normal tissue regeneration. Recent experimental results indicate that stem cells and tumor stem cells may play a key role in carcinogenesis. This review represents an introductory discussion to carcinogenesis. Understanding the cues that stimulate stem cells activation may lead to prophylactic approaches in therapy and possible prevention of tumors.

Key words: stem cells, tumor stem cells, microenvironment, plasticity, carcinogenesis

Procesy evoluce, které zvyšují složitost živočišných forem, musí zákonitě obsahovat mechanismy reparace, které jsou vhodně zapojeny do evolučních mechanismů pro obnovu a reparaci složitých organismů. Řetězec signálních cest, cytokinů a dalších působků, není tak překvapující. Formování a udržení tkání např. prostřednictvím signálních cest naznačuje možné propojení mezi normální a nádorovou kmenovou buňkou. Signální cesty hrají centrální úlohu v řízení embryonálního vývoje, ale také postnatálních funkcí v sebeobnově kmenových buněk, při obnově tkání a při regeneraci tkání (1,2). V současné době se stále více mluví o nádorech jako o onemocnění souvisejícím s kmenovými buňkami. Některé pochody související s normální regulací tkáňové reparace mohou mít souvislost s karcinogenezí. Propojení regulačních mechanismů mezi nádorem a příkladně chronickým tkáňovým postižením, je v současné době stále více uznáváno. Příkladem může být Wnt signální dráha, kterou známe z tkáňové regenerace. Proces obnovy kmenových buněk a nádorový růst může dohromady vytvořit jednotný pohled na karcinogenezi (1,3).

Připomeňme si, že v každém vyšším organismu jsou miliardy buněk s identickou genetickou informací, které tvoří součásti jednotlivých tkání a orgánů. Daná genetická informace je stejná ve všech buňkách, včetně kmenových. Tudíž, aby každý orgán v organismu úspěšně fungoval, musí se spojit všechny buňky v architektonickém a signálním celku tak, že každá buňka bude přesně vykonávat zadané povely v kterýkoliv daný čas. V případě úspěchu povede takový systém k homeostáze, zatímco selhání bude mít za následek řadu dysfunkcí, včetně vzniku např. karcinomu. Zde se nám nabízí důležitá otázka: „Jak organismy dosahují tohoto pozoruhodného výkonu a obráceně, jak je každá buňka schopna v tkáních vykonávat své specifické funkce?“

Kmenové buňky a nádorové kmenové buňky

Jeden z prvních experimentálních konceptů nádorových kmenových buněk byl vyvozen ze studia chování buněk v *in vitro* modelu myších myelomových buněk (4). Bližší vztah mezi somatickými buňkami, např. hematopoetického systému

a akutní myelodní leukemií, byl prokázán na modelu s izolovanými leukemickými buňkami získanými od nemocných s AML (akutní myeloidní leukemií), které po transplantaci NOD/SCID (*non-obese diabetic/severe combined immunodeficient*) myším vyvolaly skutečnou leukemii. Nádorové buňky se svými povrchovými znaky, multipotencí, hierarchickým uspořádáním, podobaly normálním hematopoetickým buňkám, což vedlo k názoru, že leukemické kmenové buňky byly buď odvozené z hematopoetických kmenových buněk (*hematopoietic stem cells* - HSCs) nebo z více diferencovaných buněk potomstva HSCs (5,6,7). Schopnost tvorby četných lidských nádorů u NOD/SCID myši dále poukázala na expresi heterogenních povrchových markerů, které byly nalezeny u původních nádorů např. karcinomu prsu (8). V nedávné době byly také izolovány např. z mozkových nádorů buněčné linie, které vykazují vlastnosti nezralých kmenových buněk a mají schopnost produkovat *in vitro* a také *in vivo* diferencované neurony a glie (9,10,11).

V porovnání s jinými buňkami mají kmenové buňky relativně dlouhý život. Mají proto více možností hromadit četné mutace, které mohou vést ke zvýšení buněčné proliferaci a produkci klinicky závažných nádorů. Objev multipotentních progenitorových buněk se schopností sebeobnovy mimo hematopoetický systém vyvolal určité představy, jak by mohly nádorové kmenové buňky vzniknout z jiných tkáňových kmenových buněk a iniciovat vznik nádorů. Tkáňové specifické kmenové buňky jsou kandidáty jako buněčný zdroj pro nádory, protože jejich schopnost sebeobnovy a neomezený proliferací potenciál je velmi podobná nádorovým kmenovým buňkám (12,13).

Pluripotentní diploidní embryonální kmenové buňky založené přímo z jejich blastocyst (ES - *embryonic cells*), mají tak široký diferenciální potenciál, že jejich vpravení do organismu např. myši, vede k vzniku teratomů a teratokarcinomů. Procento tvorby nádorů vznikajících po transplantaci ES záleží na tom, zda se jedná o xenogenní, alogenní nebo syngenní transplantaci. Nádory vznikají i tehdy, jestliže se ES buňky nechají *in vitro* diferencovat (např. v buňky gliové nebo nervové) a k vlastní transplantaci se použijí deriváty získané z takové kultury. Příčinou tvorby nádorů v takovém případě je zřejmě příměs nediferencovaných ES buněk. Nicméně transplantace ES buněk a jejich derivátů s sebou ponese toto riziko. Naopak, podle současných znalostí transplantace dospělých kmenových buněk (*adult stem cells*) k tvorbě nádoru nevede (14).

Kmenové a nádorové buňky sdílejí řadu shodných rysů. V obou případech se jedná o nediferencované elementy s neomezenou proliferací aktivitou - lze je pokládat za „nesmrtelné“. Za určitých okolností jsou oba tyto typy buněk schopny migrovat tkáněmi a uhnízditi se v novém *niche* (14).

Zdá se, že dokonce i teprve nedávno popsáný fenomén plasticity kmenových buněk může participovat na vytváření nádorů a některé experimentální studie z poslední doby dokonce naznačují, že původ nádorů může být jiný, než jsme se domnívali (15). Možná, že migrace kmenových buněk např. kostní dřeň v těle působí v podstatě jako podpůrný systém, schopný v extrémní situaci zvětšit vnitřní regenerační kapacitu orgánu. V jakémkoliv případě, nedostatečné připojení i bez poškození orgánu nijak nezpochybnuje tvrzení, že k tomu skutečně dochází. Takové stavy jsou většinou spojeny s klinicky těžkým poškozením orgánu, při němž se dá počítat se zapojením kmenových buněk s transdiferenčním potenciálem. Může ale dojít k opačnému jevu, a to ke vzniku nádoru. Například, ze stromálních kmenových buněk kostní dřeň, mohou vzniknout buňky karcinomu žaludku, který je považován za nádor epitelového původu (16). Poslední nálezy dokonce dokládají, že nádory rostou díky aktivitě několika málo kmenových buněk, které produkují další proliferující progenitorové buňky. Obecně se nádorové elementy pokládají za nediferencované, případně dediferencované buňky. Pravdou je však skutečnost, že i nádory jsou tvořeny buňkami, které jsou více či méně diferencované, přičemž míra a rozsah diferenciace se mezi jedno-

tlivými nádory liší. Kmenové buňky jsou přitom k produkci nádorů předurčeny. Pokud určitá afekce naruší genetický program diferencovaných buněk, nemůže se projevit vznikem nádoru, neboť tyto buňky nejsou trvalou komponentou tkání (např. obměna enterocytů trvá asi čtyři dny). V případě postižení kmenové buňky je však situace jiná. Tato buňka je trvalou komponentou tkáně a pokud dojde k jejímu zvratu, produkuje taková buňka neustále malformované potomstvo, které se postupně v tkáni rozrůstá. Chování kmenové buňky ve tkáních za normálních okolností reguluje tkáňové *niche* (17,18). Pokud je toto mikroprostředí porušeno, např. chronicky probíhajícím zánětem, může tato alterace vést k chronické aktivaci jinak normální kmenové buňky, jejíž bezuzdná proliferace začne vytvářet nádorovou masu. Podobná situace zřejmě nastává i tehdy, když kmenová buňka zabloudí do prostředí, kam nepatří.

Mikroprostředí a nádorové kmenové buňky

Mikroprostředí má významnou úlohu při kontrole nad genem jak v normálních, tak maligních buňkách. Kdyby genom diferencovaných buněk měl úplnou autonomii, nebude existovat žádná specifická tkáň a izolované buňky budou v buněčné kultuře dále fungovat tak jako v orgánu. Je známo, že izolované buňky ztrácejí většinu funkční diferenciace, jsou-li odděleny a převedeny do tradičních buněčných kultur. Avšak identita buněk není ztracena nastálo, protože regulaci buněčného mikroprostředí v buněčné kultuře je můžeme přimět, aby si „vzpomněly“ na mnoho ze svých původních tkáňových specifických znaků (19). Po dobu života organismu jednotlivé buňky získávají četné škodlivé genetické léze způsobené změnami mikroprostředí. Kdyby příčinou karcinomu byly výlučně genetické mutace, pak bychom mohli očekávat, že každý orgán se může stát nádorem. Kromě toho, syndromy dědičně vázaných nádorů postihují téměř výhradně jen jeden typ tkáně i když každá buňka obsahuje stejnou mutaci. Tudiž, kromě známých obranných mechanismů, jako je reparace DNA, klíčovou úlohu při buněčném rozhodování a udržování homeostázy musí hrát faktory z mikroprostředí tkání.

Některé experimenty poskytly důkaz o rovnováze udržované normálním mikroprostředím i přes přítomnost buněk, které by jinak mohly mít predispozici k vzniku nádoru. Jedním z těchto experimentů je příklad studie Mintze a Illmensee, v nichž buňky embryonálního karcinomu injikované subkutánně myším vyvolaly teratokarcinomy, kdežto tytéž buňky, injikované do blastocyst, daly vzniknout normálním chimérickým myším místním tumorům (20). Tento experiment vyvolal mnoho otázek a jednu skutečně až futuristickou: „Lze z rakovinné buňky stvořit normálního jedince?“ V přesvědčivých a elegantních experimentech Mintze a Illmensee, byla jádra z rakovinných buněk přesunuta do enukleovaných oocytů, které se použily pro založení linie embryonálních kmenových buněk. Tyto buňky byly použity pro tvorbu chimerické myši. Ačkoliv tyto chiméry měly predispozici k malignitě, valná většina jejich tkání byla normální zřejmě proto, že maligní fenotyp byl kontrolován normálním mikroprostředím (21,22). V některých případech však může být také mikroprostředí zdrojem mutace, a tedy originální příčinou vzniku nádoru. Příkladem je interakce mezi fibroblasty a epitelovými buňkami u intraepitelové neoplazie prostaty a u invazivního karcinomu žaludku. Experimenty prokázaly, že příměsme-li fibroblasty stromatu, aby nereagovaly na TGF- β (*transforming growth factor-beta*), vede to k neomezenému růstu epitelových buněk a k jejich invazi. V tomto případě se nabízí vysvětlení, že mutované fibroblasty generovaly HGF (*hepatocyte growth factor*) a tato abnormální parakrinní signál vedl k tvorbě nádorů epitelového původu (23,24). Tato cesta může být patrně jedním z hlavních mechanismů karcinogeneze, protože se zdá, že některé nádory ovlivňují vývoj svých vlastních podpůrných prostředí. Příkladem může být neurofibromatóza, která postihuje 1 ze 4000 lidí, kteří se narodí jako heterozygotní pro neurofibromin - NF1 (25). Také u některých karcinomů prsu se prokázalo, že buňky stromatu získaly uni-

kátní nové uspořádání chromozomů spojené s tumorigenním epitelem (26). Rovněž se prokázalo, že příčinou některých dědičných nemocí, které postihují nositele s vyšším výskytem nádorů, jsou defekty stromatu (27). Dohromady tyto příklady podporují názor, že mikroprostředí se může uplatňovat buď jako mocný supresor nádoru i za přítomnosti silné exprese onkogenů nebo naopak jako promotor nádoru pro prekancerózní nebo i zřejmě normální buňky (28).

Mutace kmenových buněk, mikroprostředí a nádory

Ionizující záření je dlouho známým faktorem, který poškozují DNA. Stále však nevíme kolik škodlivých genetických lézí může buňka snést před tím, než mikroprostředí už dál nebude moci kontrolovat její růst, a jaké signální dráhy jsou nejdůležitější pro zachování kontroly nad poškozenou buňkou. Podle současných experimentů in vitro a in vivo, můžeme vypracovat soubor pravidel definujících, které složky mikroprostředí a které buněčné „senzory“ jsou asi nutné, aby potlačily tkáňově specifické kmenové buňky (tissue-specific stem cells - TSSCs), které jako buňky zastavené v progenitorovém stadiu vývoje vykazují predispozici ke vzniku nádoru (29). Z výsledků současných experimentů lze usoudit, že buňky mohou mít značně poškozenou svou genetickou „programovou výbavu“ a přitom mohou zůstat fenotypově „spící“ (30). Buňky, které se stanou tumorigenní, si stále mohou zachovávat aberantní genom, ale pro všechny praktické účely se mohou vrátit k normálnímu fenotypu, je-li obnovena polarita tkáně. Příkladem může být lumenální epitelová buněčná linie HMT-3522 izolována z prsní tkáně při redukční mamoplastice (31). Tyto buňky byly použity, pro založení linie buněk S1, které mají řadu mutací, ale jsou-li injikovány myším NOD/SCID nejsou maligní, pokud jsou kultivovány na membránových gelech bohatých na laminin. Napodobují normální růst a strukturu prsních lalůčků jaké jsou in vivo (32). Po extenzivním pasážování buněk S1 v nepřítomnosti EGF (*epidermal growth factor*) byla získána populace buněk (T4-2), které by mohly vytvářet nádory u myši (33). Podobný jev byl popsán a využit pro terapii pacientů s AML. Při výskytu reziduální nemoci v kostní dřeni, dochází po chemoterapii k relapsu, což je způsobeno adhezí buněk AML, zprostředkovanou povrchovými antigeny leukocytů VLA-4 (*very late antigens*) ke stromálním buňkám kostní dřene (34). VLA-4 pozitivní buňky AML byly rezistentní na apoptózu a přetrvávaly ve tkáni v podstatě v „spícím“ stavu. U buněk T4-2 obnovení tkáňové polaritě rovněž připomíná lalůčkovité struktury rezistentní na chemoterapeutika (35). Protože regulace adheze, polaritě a proliferace je v homeostáze tkání nanejvýš důležitá, činitel, rozvracející integraci těchto drah, by mohli vést k signální nerovnováze a eventuálně ke vzniku nádoru (28,36). Kromě toho, je-li pravda, že nádory představují zastavený nebo nesprávný vývoj TSSCs, pak takové dráhy jako Notch a Wnt, které působí jak při maturaci kmenových buněk, tak ve vývoji nádorů, musí být rovněž přísně regulovány podněty z mikroprostředí (1). Výsledkem modulování a korigování geneticky poškozené schopnosti buněk komunikovat s mikroprostředím by mohl být získ polarizovaného a fenotypově normálního stavu, který je zase učiní v podstatě rezistentní k chemoterapii.

Kromě genetického poškození TSSCs, je stroma rovněž náchylné k poškození vyvolaném ionizujícím zářením. Zde se epigenetické změny zdají být dokonce ještě důležitější (37). Zatímco se obecně soudí, že gama ozáření organismů zabíjí buňky s proliferacním potenciálem tím, že jim způsobí ireparabilní genetické léze, existuje rovněž globální poškození orgánů způsobené produkcí a/nebo aktivací proteáz a růstových faktorů, které mohou být příčinou systémových změn v celulárních mikroprostředích (36, 38). Např. v kosterním svalu, terminálně postmitotická svalová vlákna mají malé nebo nedetekovatelné poškození, jak se soudí podle jejich zřejmě normální funkce a morfologie po vysokých dávkách gama záření (39), zatímco rezidentní svalové satelitní kmenové buňky jsou

citlivé (40). Je jasné, že gama záření má potenciálně ničivé účinky také na mikroprostředí kosterního svalu. Za normálních okolností je možné svalové kmenové buňky izolovat a pasážovat v tkáňové kultuře, pak injikovat zpět do kosterního svalu, kde nastane fúze během myogeneze s existujícími svalovými vlákny. Je zajímavé, že když kosterní sval byl ozářen před injekcí normálních svalových kmenových buněk, injikované TSSCs umožnily vznik tumorů (41).

Epitelové buňky prsní žlázy mající mutaci Trp53 byly netumorigenní, když byly implantovány do normálních tukových polštářků. Bylo-li ozářeno stroma recipientních myši před implantací neozářených epitelových buněk, došlo k tvorbě vysokého procenta nádorů v místech injekce (42). Myslíme si, že podle těchto studií by vznik nádorů mohl být důsledkem poškození mikroprostředí a subpopulace kmenových buněk. Experimentální průkazy této domněnky zatím scházejí. Nicméně uvedené studie objasnily, že jinak normální mikroprostředí bylo globálně modifikované gama zářením, což bylo dostatečné, pro iniciaci vzniku nádoru.

Konečně, procesy jako reparace rány a regenerace tkáně, v nichž mitogenní působení mikroprostředí je pro tyto procesy příznivé, mohou ve skutečnosti napomáhat vzniku nádorů odvozeným z TSSCs. Například regenerace svalu a hojení rány jsou spojeny s indukci molekul a aktivací signální cesty Hedgehog a Wnt, o nichž je známo, že rovněž participují při vzniku nádorů (1). Tyto scénáře tedy naznačují mechanismy, jimiž normální odpověď mikroprostředí na chemoterapii, ozáření, stárnutí nebo jiná poškození může vést u predisponovaných TSSCs k jasnému vzniku nádorů.

Závěr

V současné době již existuje řada důkazů o tom, že mikroprostředí reguluje specifickou tkání a významně přispívá ke vzniku nádorů. S ohledem na nádorové kmenové buňky jako potenciální původce nádorů, se ukazují souvislosti, které byly experimentálně prokázány. Prvním je genetické poškození TSSCs, které mohou být udrženy pod kontrolou po dlouhá období, čímž lze vysvětlit dlouhé zpoždění mezi expozicí mikroprostředí a/nebo mutacemi supresoru výchozí buněčné linie a vznikem nádoru. Při druhém ionizující záření nebo jiné fyzikální a chemická poškození obecně navodí změny ve složení mikroprostředí, které samy o sobě mohou spustit mutace v kmenových buňkách a případně vést ke vzniku nádoru. Z prezentovaných experimentálních výsledků lze usoudit, že existuje spojení mezi oběma těmito mechanismy jako dynamický a reciproční vztah mezi geneticky poškozenými buňkami v určité tkáni a jejich mikroprostředím. Poškozené buňky mohou modifikovat své mikroprostředí, které opět, jako by v bludném kruhu navodí patologické chování, analogické k mechanismu určenému pro normální homeostázu. Tento vztah pak uspiší změny, jejichž důsledkem je v průběhu mnoha let vznik nádoru (14).

Vznik nádorů můžeme vysvětlit z pozice kmenových buněk, ale náš přístup musí být kritický. Musíme zvažovat celou řadu vztahů mezi kmenovými buňkami, jejich mikroprostředím, regulační kaskádou cytokinů, signálními cestami atd. Máme-li uvažovat o tkáňově specifických kmenových buňkách v souvislosti se vznikem nádoru, potřebujeme vědět, jak zabránit vzniku nádoru, aniž by se také úplněablokovala normální regenerace tkání. Zde nesmíme opomenout, že právě regenerace tkání může být spojena s plasticitou (15). V této souvislosti se vynojuje otázka: „Mohou se nádorové buňky rovněž uplatnit jako součásti procesu regenerace?“ Zodpovězení výše uvedených otázek a pochopení podnětů, které stimulují aktivaci kmenové buňky a mikroprostředí, může přispět k rozvoji diagnostických, profylaktických přístupů a k léčbě nádorových onemocnění.

Práce vznikla za podpory výzkumného záměru MZO 00179906

Literatura

1. Beachy, P.A., Karhadkar, S.S., Berman, D.M.: Tissue repair and stem cell renewal in carcinogenesis. *Nature*, 432, 2004, 432, 324-331
2. Nusse, R.: Wnts and Hedgehogs: lipid-modified proteins and similarities in signaling mechanisms at the cell surface. *Development*, 130, 2003, 5297-5305
3. Kopper, L., Hajdú, M.: Tumor stem cells. *Pathol. Oncol. Res.*, 10, 2004, 69-73
4. Park, C.H., Bergsagel, D.E., Mc Culloch, E.A.: Mouse myeloma tumour stem cell culture assay. *J. Natl. Cancer Inst.*, 46, 1971, 411-422
5. Bonnet, D., Dick, J.E.: Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat. Med.*, 3, 1997, 730-737
6. Hope, K., Jin, L., Dick, J.E.: Acute myeloid leukemia originates from a hierarchy of leukemic stem cell classes that differ in self-renewal capacity. *Nat. Immunol.*, 5, 2004, 738-743
7. Lapidot, T., Sirard, C.: A cell initiating human acute myeloid leukemia after transplantation into SCID mice. *Nature*, 367, 1994, 645-648
8. Al-Hajj, M., Wicha, M.S., Benito-Hernandez, A., Morrison, S.J., Clarke, M.F.: Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100, 2003, 3983-3988
9. Hemmati, H.D., Nakano, I., Lazareff, J.A.: Cancerous stem cells can arise from pediatric brain tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100, 2003, 15178-15183
10. Kondo, T., Setoguchi, T., Taga, T.: Persistence of a small subpopulation of cancer stem-like cells in the C6 glioma cell line. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101, 2004, 781-786
11. Singh, S.K.: Identification of a cancer stem cell in human brain tumors. *Cancer Res.*, 63, 2003, 5821-5828
12. Reya, R., Morrison, S.J., Clarke, M.F., Weissman, I.L.: Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature*, 414, 2001, 105-111
13. Taiple, J., Beachy, P.A.: The hedgehog and Wnt signalling pathways in cancer. *Nature*, 411, 2001, 349-354
14. Bissell, M.J., La Barge, M.A.: Context, tissue plasticity, and cancer: Are tumor stem cells also regulated by the microenvironment? *Cancer Cell*, 7, 2005, 17-23
15. Filip, S., English, D., Mokry, J.: Issues in stem cell plasticity. *J. Cell. Mol. Med.*, 8, 2004, 572-577
16. Houghton, J., Stoicov, C., Nomura, S., Cai, X.: Gastric cancer originating from bone marrow-derived cells. *Science*, 306, 2004, 15681-571
17. Suda, T., Arai, F., Hirao, A.: Hematopoietic stem cells and their niche. *Trends Immunol.*, 26, 2005, 426-433
18. Li, L., Xie, T.: Stem cell niche, structure and function. *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.*, 2005, in press.
19. Bissell, M.J., Rizik, A., Mian, I.S.: Tissue architecture: The ultimate regulator of breast epithelial function. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 15, 2003, 753-762
20. Mintz, J., and Illmensee, K.: Normal genetically mosaic mice produced from malignant teratocarcinoma cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 72, 1975, 3585-3589
21. Illmensee, K., Mintz, B.: Totipotency and normal differentiation of single teratocarcinoma cells cloned by injection into blastocysts. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 73, 1976, 549-553
22. Hochedlinger, K., Blelloch, R., Brennan, C., Yamada, Y., Kim, M., Chin, L., Jaenisch, R.: Reprograming of a melanoma genome by nuclear transplantation. *Genes dev.*, 18, 2004, 1875-1885
23. Bhowmick, N.A., Chytil, A., Plith, D., Gorska, A.E., Dumont, N., Shappell, S., Washington, M.K., Neilson, E.G., Moses, H.L.: TGF-beta signaling in fibroblasts modulates the oncogenic potential of adjacent epithelia. *Science*, 303, 2004, 848-851
24. Radisky, D.C., Bissell, M.J.: Cancer. Respect thy neighbor! *Science*, 303, 2004, 775-777
25. Zhu, A., Ghosh, P., Charnay, P., Burns, D.K., Parada, L.F.: Neurofibromas in NF-1: Schwann cell origin and role of tumor environment. *Science*, 296, 2002, 920-922
26. Moinfar, F., Man, Y.G., Arnould, L., Bratthauer, G.L., Ratschek, M., Tavasoli, F.A.: Concurrent and independent genetic alterations in the stromal and epithelial cells of mammary carcinoma: Implications for tumorigenesis. *Cancer Res.*, 60, 2000, 2562-2566
27. Howe, J.R., Roth, S., Ringold, J.C., Summers, R.W., Jarvinen, H.J., Sistonen, P., Tomlinson, I.P., Houlston, R.S., Mitros, F.A.: Mutations in the MAD4/DPC4 gene in juvenile polyposis. *Science*, 280, 1998, 1086-1088
28. Sternlicht, M.D., Lochter, A., Sympon, C.J., Huey, B., Rougier, J.P., Gray, J.W., Pinkel, D., Bissell, M.J., Werb, Z.: The stromal proteinase MMP3/stromelysin-1 promotes mammary carcinogenesis. *Cell*, 98, 1999, 137-146
29. Cozzio, A., Passegue, E., Ayton, P.M., Karsunky, H., Cleary, M.L., Weissman, I.L.: Similar MLL-associated leukemias arising from self-renewing stem cells and short-lived myeloid progenitors. *Genes Dev.*, 17, 2003, 3029-3035
30. Chin, K., de Solorzano, C.O., Knowles, D., Jones, A., Chou, W., Rodriguez, E.G., Kuo, W.L., Ljung, B.M., Chew, K., Myambo, K.: In situ analyses of genome instability in breast cancer. *Nat. Genet.*, 36, 2004, 984-988
31. Briand, P., Petersen, O.W., van Deurs, B.: A new diploid nontumorigenic human breast epithelial cell line isolated and propagated in chemically defined medium. *In Vitro Cell. Dev. Biol.*, 23, 1987, 181-188
32. Petersen, O.W., Ronnov-Jensen, L., Howlett, A.R., Bissell, M.J.: Interaction with basement membrane serves to rapidly distinguish growth and differentiation pattern of normal and malignant human breast epithelial cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89, 1992, 9064-9068
33. Briand, P., Nielsen, K.V., Madsen, M.W., Petersen, O.W.: Trisomy 7p and malignant transformation of human breast epithelial cells following epidermal growth factor withdrawal. *Cancer Res.*, 56, 1996, 2039-2044
34. Matsunaga, T., Takemoto, N., Sato, T., Takimoto, R., Tanaka, I., Fujimi, A., Akiyama, T., Kuroda, H., Kawano, Y., Kobune, M.: Interaction between leukemic-cell VLA-4 and stromal fibronectin is a decisive factor for minimal residual disease of acute myelogenous leukemia. *Nat. Med.*, 9, 2003, 1158-1165
35. Weaver, V.M., Lelievre, S., Lakin, J.N., Cherek, M.A., Jones, J.C., Giancotti, F., Werb, Z., Bissell, M.J.: Beta4 integrin-dependent formation of polarized three-dimensional architecture confers resistance to apoptosis in normal and malignant mammary epithelium. *Cancer Cell*, 2, 2002, 205-216
36. Weisman, B.S., Werb, Z.: Stromal effects on mammary gland development and breast cancer. *Science*, 296, 2002, 1046-1049
37. Barcellos-Hoff, M.H., Brooks, A.L.: Extracellular signaling through the microenvironment: A hypothesis relating carcinogenesis, bystander effects, and genomic instability. *Radiat. Res.*, 156, 2001, 618-627
38. Ferrara, J.L.: Cytokine dysregulation as a mechanism of graft versus host disease. *Curr. Opin. Immunol.*, 5, 1993, 794-799
39. Goyer, R.A., Yin, M.W.: Taurine and creatine excretion after x-irradiation and plasmocid-induced muscle necrosis in the rat. *Radiat. Res.*, 30, 1967, 301
40. Schultz, E., McCormick, K.M.: Skeletal muscle satellite cells. *Rev. Physiol., Biochem. Pharmacol.*, 123, 1994, 213-257
41. Morgan, J.E., Gross, J.G., Pagel, C.N., Beauchamp, J.R., Fassati, A., Thrasler, A.J., Di Santo, J.P., Fischer, I.B., Shiwen, X., Abraham, D.J., Pertridge, T.A.: Myogenic cell proliferation and generation of a reversible tumorigenic phenotype are triggered by preirradiation of the recipient site. *J. Cell Biol.*, 157, 693-702
42. Barcellos-Hoff, M.H., Ravani, S.A.: Irradiated mammary gland stroma promotes the expression of tumorigenic potential by unirradiated epithelial cells. *Cancer Res.*, 60, 2000, 1254-1260

Došlo: 15. 11. 2005
Prijava: 8. 12. 2005

15. KONFERENCE DĚTSKÝCH HEMATOLOGŮ A ONKOLOGŮ ČR A SR

HOROVÁ H., NOVOTNÝ T.

15TH CONFERENCE OF PEDIATRIC HEMATOLOGISTS
AND ONCOLOGISTS OF THE CZECH REPUBLIC AND
THE SLOVAK REPUBLIC

Ve dnech 4. až 6. listopadu 2005 proběhla v příjemném prostředí hotelu Gomel v Českých Budějovicích 15. konference dětských hematologů a onkologů ČR a SR.

Program konference byl rozdělen do několika sekcí. Páteční program se zabýval problémy hematologie a podpůrné péče v dětské onkologii. Sobotní program byl pak věnován leukemiím a nádorům CNS. V neděli byla konference zakončena přednáškami na téma maligních lymfomů a hemostázy.

Vyzvaná přednáška prof. Erica Bouffeta zazněla na téma The state of the art management of CNS tumors in children. Zhodnotil v ní dosavadní poznatky z klinických studií léčby mozkových nádorů u dětí. I přes veškerý pokrok v léčbě jsou někdy léčebné výsledky nepříznivé. V léčbě se uplatňuje kombinace všech léčebných modalit - chirurgie, radioterapie a chemoterapie. Rozsah chirurgické resekce je důležitým prognostickým faktorem v případě diagnózy meduloblastomu, ependymomu a low- i high-grade gliomů. Přesto řada tumorů mozku zůstává chirurgicky neřešitelná.

Nezastupitelná je i role radioterapie v léčbě mozkových tumorů. Byl prokázán její význam na celkovou prognózu onemocnění v indikaci pooperační, ale i v léčbě s kurativním záměrem. V současné době je v popředí snaha o snížení radiační zátěže a pozdního poškození zdravých tkání. Jednou z možností snížení radiační toxicity je konformní radioterapie, IMRT, plánování pomocí dalších zobrazovacích metod (MR, PET) a také stereotaktická radioterapie.

Prokazatelný význam radioterapie je v léčbě meduloblastomu. Není však dosud jasné, jestli hyperfrakcionační režimy jsou účinnější než standardní a také přesné stanovení indikací ozařování kraniospinální osy. Důležité je však zjištění, že redukce trvání terapie je významným prognostickým faktorem. V případě high-grade gliomů je prokázán význam pooperační radioterapie, u low-grade gliomů je důležitým prognostickým faktorem pouze chirurgická léčba. Role adjuvantní chemoterapie nebo radioterapie je dosud nejasná.

Velmi špatnou prognózu mají nádory mozkového kmene. Jde o inoperabilní tumory a v léčbě se používá radioterapie. Pro přínos chemoterapie existuje jen málo studií. Význam chemoterapie v léčbě mozkových nádorů je limitován neprůchodností cytotatik přes hematoencefalickou bariéru. Nyní probíhají studie s konkomitantní chemoradioterapií s temozolomidem následované autologní transplantací kmenových buněk s povzbuzujícími výsledky. Své zkušenosti s léčbou podle tohoto protokolu vystoupili dětské onkologové z FN Motol i FDN Brno.

Možnosti využití nových diagnostických metod v radioterapeutické praxi ukázala přednáška dr. Novotného z MOU na téma Biologický cílový objem v radioterapii lymfomů. Na našem oddělení používáme pozitronovou emisní tomografii k plánování radioterapie od poloviny roku 2004. V případě dětských pacientů s maligními lymfomy jsme toto vyšetření zatím využili pouze u čtyř pacientů. Použití fúze CT a PET vyšetření nám umožňuje lépe stanovit cílový objem, eskalaci dávky v nádoru a také větší šetření zdravých tkání. Zobrazení metabolických tkání pomocí pozitronové emisní tomografie umožní zvolení optimální ozařovací techniky a zabránit tak možnému poddávkování nebo overtreatmentu.

Dne 9.11.2005

33. KONGRES ISOBM

NEKULOVÁ M.

MOU BRNO

THE XXXIII MEETING OF THE INTERNATIONAL
SOCIETY FOR ONCODEVELOPMENTAL
BIOLOGY AND MEDICINE (ISOBM)

Ve dnech 24. - 28. září 2005 se konal 33. kongres ISOBM (International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine) - Cancer Research, Tumor Markers, Clinical Oncology - v Ixii na ostrově Rhodos, kterého jsem se spolu s dalšími 15 kolegyněmi a kolegy z ČR měla možnost účastnit.

Přednáškové bloky byly věnovány jednotlivým onkologickým topikám a problematice vyšetřování nádorových markerů.

Jako nové markery byly uvedeny: **kalikreiny** (E. Diamandis - Kanada, a V. Barak - Israel), **heparanasa** (Vlodavsky I, Israel), **matrilysin** (Imai K., Japonsko) a **receptory AFP** (Moro M., Kanada), **SMR** (soluble mesothelin-related proteins) pro diagnózu a monitorování mesotheliomu.

Kalikreiny patří do rodiny hormonálně regulovaných serinových proteáz, jejichž funkce není ještě zcela známá. Jsou exprimovány zejména tkáněmi hormonálně závislými (mamma, ovarium, prostata, varle). Předpokládá se úloha alespoň některých z nich v procesech koagulace, fibrinolýzy, digesce, ale i regenerace a remodelace extracelulární matrix (ECM) i receptorové aktivace. Porucha regulace kalikreinů se objevuje u mnoha typů nádorů, zvláště u karcinomů vaječníků. Nesou diagnostickou i prognostickou informaci. Expres kalikreinů hKLLK 6 a 10 u ca ovaria je spojována s agresivitou tumoru i terapeutickou odpovědí.

I naše pracoviště se podílí na této mezinárodní studii.

Proteoglykan heparan-sulfát má klíčovou roli v extracelulární matrix (ECM). **Heparanasa** je preferenčně exprimována u různých lidských nádorů (od karcinomu pankreatu až k meduloblastomu) a její overexpres odpovídá invazivitě fenotypu. Působí uvolňování angiogenetických faktorů z ECM a zvyšuje metastatický potenciál, redukuje pooperační přežívání. Je slibným terčem vyvíjených antikancerogenních látek.

Matrilysin (MMP-7) je metaloproteinasa, která působí při degradaci ECM, invasi i progresi tumoru. Současné studie se zaměřují zejména na ovlivnění terapeutického efektu u karcinomu prsu.

Působí během různých fází maligní transformace, ovlivňuje E-cadherin, adhesivní procesy, integriny.

Receptor pro AFP (**RECAF**) slouží ke vnášení mastných kyselin a jiných molekul do fetálních buněk většiny tkání. Není exprimován normální tkání, ale až nádorovou tkání. Je stanovitelný pomocí RIA metod ve tkáni ca prsu (sensitivity 93%), ovaria (96%), plíc (94%), žaludku (90%), prostaty (88%), čípku (86%), lymfomu i melanomu (80%) a u mnoha dalších malignit.

SMR (soluble mesothelin-related proteins) je novým markerem pro mesotheliom, tumor, který dříve neměl žádný vhodný marker (sensitivity 50-70%) a je testován i u ovariálního karcinomu. Tento marker vyvinula firma CISBIO pod názvem Mesomark.

Pro **karcinom prsu** byly testovány - **sekretoglobiny** (Duffy, Irsko), nízkomolekulární proteiny mammaglobin A (MGA) a mammaglobin B (MGB) a lipofilin B (LPB). MGA a LPB by mohly být vhodnými novými markery. Doporučení mar-

kery zatím však zůstávají CA 15-3 a CEA, které jsou v případě potřeby doplňovány stanovením HER2-neu, ve tkáni též stanovením hormonálních receptorů.

Prof. Lynch mluvil o přínosu časné identifikace HBOC (Hereditary-Breast Ovarian Cancer), profylaktické salpingoovarektomie s hysterektomií u BRCA 1 a nosiček i o HDGC (Hereditary-Difuse Gastric Cancer), kde je penetrance 70-80% a až se onemocnění projeví, je už pozdě na úspěšnou terapii. Naopak screening ze 65% redukuje mortalitu. Využívá se DNA testování germline mutace.

U **karcinomu ovaria** doporučovala prof. Stieber spolu s CA 125 také vyšetřování markeru CYFRA 21-1. Pro monitorování efektu terapie u této diagnózy je vhodná kombinace CA 125 s TPS. TPS menší než 100 po 3 cyklech chemoterapie je nezávislým prognostickým parametrem 10-letého přežívání (Van Dalen). Pokračují práce na vývoji anti-ovariálních vakcín (O'Brien).

Odpověď k terapii u **nádorů tlustého střeva a pankreatu** předikují hodnoty nukleosomů a jejich AUC křivka v průběhu 1. - 3. dne po chemoterapii (Holdenrieder S.), u **karcinomu plic** navíc i marker CYFRA 21-1. Pro **malobuněčný plicní karcinom** (SCLC) je doporučována kombinace markerů NSE a pro-GRP, pro **nemalobuněčný plicní karcinom** (NSCLC) na prvním místě CYFRA 21-1 na základě výsledků v mezinárodní studii.

U **kolorektálního karcinomu** se osvědčila adjuvantní chemoterapie u hladin CEA před terapií vyšších než 8,2mg/l. Růstový faktor cévního endotelu (Vascular Endothelial Growth Factor - VEGF) je vhodným markerem rekurence choroby i prognostickým parametrem. Korelaci sérových hladin receptoru lidského epidermálního růstového faktoru (EGFR) ELISA kitem Oncogene Science a HER2 (Advia Centaur, Bayer) prokázala K. Spindler z dánského pracoviště, která je vyšetřovala společně s VEGF (ELISA R&D systems) na velkém souboru nemocných s touto diagnózou.

U **karcinomu pankreatu** stanovení hodnot CA 19-9 pomáhá šetřit náklady na neefektivní terapii.

Pro **karcinom prostaty** k detekci kostních metastáz byl doporučen kostní marker PINP.

Pro **karcinoid a feochromocytom** chromogranin A s vysokou sensitivitou (kolem 90%). Tuto jsme mohli potvrdit i z našeho pracoviště, protože jsme tento marker začali stanovovat jako jeden z prvních v ČR.

Pro **maligní melanom** je jednoznačně doporučován protein S100. Práce L. Smita (NL) srovnávala s vyšetřením pozitronovou emisní tomografií (PET), podobně jako na našem pracovišti. Pracuje se na přípravě xenovakcín (Severin S.)

Pro **karcinom čípku** je nejlepším markerem SCCA (Molina). U **karcinomu močového měchýře** se osvědčil screening pomocí NMP (Oehr), adjuvantní intravezikální léčení lecitinem nevykázalo lepší výsledky než užití BCG.

C. Sturgeon (UK) podala přehled současného stavu **Guidelines** vyšetřování markerů pro jednotlivé malignity (UICC i EGTM) a závěry konsensu konference pro testikulární tumory. Trochu skeptický pohled na současné možnosti **proteomiky** v přehledu shrnul prof. Diamandis.

Srovnání BNP a NT-proBNP, kardiomarkerů různé provenience pro účely **sledování kardiotoxicity** přednesl L. Holubec. Výsledky jsou srovnatelné i se studií publikovanou z MOU Brno (Dr. Umlauf).

Hlavní cenu posterových prezentací autorů do 35 let získalo portugalské pracoviště (Cunha N.) za práci „Thyreoglobulin detection in fine-needle aspirates of cervical lymph nodes: a technique for the diagnosis of metastatic papillary thyroid cancer“.

Domů si účastníci odváželi nejen řadu nových podnětů k další práci, ale i zajímavé zážitky z krásného a historickými památkami bohatého ostrova.

APOPTÓZA PO INDICKU INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TRANSLANTIONAL RESEARCH: APOPTOSIS & CANCER, TRIVANDRUM, 18-21 PROSINEC 2005.

INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TRANSLANTIONAL RESEARCH: APOPTOSIS & CANCER, TRIVANDRUM, DECEMBER 18-21, 2005.

LENKA DUBSKÁ

MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV

V prosinci 2005 pořádala Univerzita v Keralu a Biotechnologické centrum Rajiva Gandhiho (Rajiv Gandhi Centre for Biotechnology) ve spolupráci s MD Anderson Cancer Center v Texasu mezinárodní konferenci zaměřenou na apoptózu a na klinický a experimentální onkologický výzkum.

Inhibice EGFR v protinádorové terapii.

Po zahajovacím projevu prezidenta Indie Jeho Excelence APJ Abdula Kalama následovala úvodní přednáška Johna Mendelsohna, prezidenta MD Anderson Cancer Center. Mendelsohn hovořil o více než 20leté historii inhibice tyrozin kinázy EGFR od původní myšlenky přes in vitro experimenty po zavedení inhibitorů do klinické praxe protinádorové terapie. V současné době jsou schváleny FDA tři látky založené na inhibici EGFR, je to anti-EGFR monoklonální protilátka cetuximab (Erbixat) a dva nízkomolekulární inhibitory EGFR erlotinib (Tarceva) a gefitinib (Iressa). Poslední dva jmenované mají atest pro léčbu nemalobuněčného karcinomu plic (NSCLC; non-small cell lung carcinoma) jako monoterapie, jelikož klinické testy prokázaly 9% a 11-18% odpověď na léčbu v případě erlotinibu respektive gefinitibu při léčbě NSCLC, která nebyla zvýšena při kombinaci s chemoterapií. Po téměř dvou letech, co byl cetuximab schválen léčbu pokročilého kolorektálního karcinomu v kombinaci s irinotecanem nebo v monoterapii, byl podán návrh na schválení cetuximabu pro léčbu karcinomu hlavy a krku (SCCHN; squamous cell cancer of the head and neck) v kombinaci s radioterapií. V klinické studii fáze III prodloužil cetuximab medián doby přežití pacientů s SCCHN nevhodných k chirurgickému odstranění nádoru z 28 měsíců při léčbě radioterapií na 54 měsíců při kombinaci s RT. Mendelsohn zdůraznil, že je zapotřebí vyhledat vhodné markery, které definují skupinu pacientů, kteří odpovídají na inhibici EGFR. Ukazuje se, že imunohistochemicky detekovaná exprese receptoru EGFR na povrchu buněk NSCLC nevykazuje korelaci s odpovědí daného pacienta na léčbu zablokovaním EGFR, ale existuje korelace s výskytem vyrážky u pacientů léčených inhibicí EGFR s lepší odpovědí na terapii. Delší doba přežití při léčbě erlotinibem byla pozorována u pacientů s mutací v ATP-vázající doméně tyrozin kinázy EGFR, nicméně tito pacienti ve stejné míře lépe odpovídali na konvenční chemoterapii. Mezi potenciální markery dále patří exprese receptorů tvořících heterodimery s EGFR, tedy Her-2 a Her-3, exprese EGF v mikroprostředí nádoru, fosforylace EGFR, hladina proteinu PTEN a u NSCLC byla prokázána vyšší odpověď na gefitinib u skupiny pacientů s amplifikovaným genem pro EGFR.

Chronický zánět, NFeB a karcinogeneze.

Řada příspěvků se týkala úlohy zánětu při vzniku nádorového onemocnění. Ukazuje se, že 15 % nádorových onemocnění je spojených s chronickým zánětem a infekcí, příkladem je pankreatitida vedoucí k rakovině slinivky břišní nebo se zánětem spojená infekce H. pylori vedoucí k karcinomu žaludku. Zásadní molekulou spojenou se zánětlivým onemocněním je NFeB, který působí jednak na úrovni nádorové buňky tím, že spouští buněčnou proliferaci a blokuje apoptózu. Na druhé straně v zánětlivém mikroprostředí nádoru buňky s aktivovaným

NFeB exprimují IL-6 a TNF α , čímž dále zvyšují aktivitu NFeB u nádorových buněk, a k progresi nádoru také přispívají stimulovanou expresí VEGF. Michael Karin prezentoval data týkající se tkáňově specifické inhibice NFeB v souvislosti s karcinogenezí u myšího modelu CAC (colitis-associated cancer). IKK je kinázový komplex aktivující I κ B, inhibitor NFeB, a inaktivace podjednotky IKK α vede k inhibici NFeB. Delece IKK α a tedy inhibice NFeB u epitelálních buněk tenkého střeva vedla k redukci karcinogeneze, která byla spojená se zvýšenou apoptózou nádorových buněk, aniž bylo pozorováno zmírnění zánětlivé reakce. Pokud byla deletována podjednotka IKK α u myeloidních buněk, které se zásadně podílejí na zánětlivé infiltraci nádoru, docházelo k výraznému zmenšení karcinomů, které bylo spojeno s redukcí expresí prozánětlivých cytokinů jako je COX-2 a MMP-9, aniž by byla ovlivněna apoptóza. Tento experiment ukazuje, že IKK/NFeB hraje zásadní roli při karcinogenezi nejen na úrovni své konstitutivní aktivity v nádorových buňkách, ale také při prozánětlivé reakci navozené buňkami imunitního systému vedoucí v tomto modelovém systému CAC k progresi nádoru.

Přírodní produkty jako chemoprevence vzniku rakoviny
Karcinogeneze spojená se zánětlivým procesem a aktivací NFeB byla tématem přednášky Bharata Aggarwala, který se více zaměřil na prevenci nádorových onemocnění složkami potravy, především z pohledu indické společnosti, kde je nákladná protinádorová léčba nedostupná pro většinu obyvatel a na druhé straně relativně nízká incidence nádorových onemocnění. Zmínil, že 74 % všech léčiv vychází z přírodních produktů, z těch protinádorových je to například taxol, látka z kůry tisu rostoucího v džungli a endofytické houby na jeho jehličích. Nicméně chemopreventivní látkou, o které se nejvíce hovořilo na této konferenci, byl kurkumin. Kurkumin (diferuloylmethane, E100) je žlutočervené přírodní barvivo izolované z oddenku kurkumy (*Curcuma longa* L, turmeric plant), které je významnou součástí kari koření a je také používán v tradiční indické medicíně pro své antioxidantní a anti-septické účinky. V poslední době se však ukazuje, že kurkumin působí také pro-apoptoticky; in vitro indukuje apoptózu u řady leukemických buněk, také u řady nádorových buněčných linií, aniž by působil toxicky na normální plicní fibroblasty, což se vysvětluje nízkou aktivitou proteinkinázy C (PKC) v normálních buňkách oproti buňkám maligním. Kromě inhibice PKC kurkumin inhibuje další signální molekuly spojené s nádorovou proliferací a inhibicí apoptózy jako je Akt. Jak a také NFeB. Dále byl zmíněn efekt kurkuminu na diferenciaci myších embryonálních karcinomů, jeho protektivní účinek na chondrocyty při artritickém procesu, synergistický efekt kurkuminu a paclitaxelu při inhibici vzniku nádoru cervixu u myšího modelu, jeho pro-apoptotická funkce při indukci exprese TRAIL-R2 (DR5) prostřednictvím produkce kyslíkových radikálů, která vede ke zvýšené vnímavosti k TRAIlem indukované apoptóze. Kurkumin ve směsi s esenciálním olejem z kurkumy je komerčně dostupný jako BIOCURCUMAX α , který umožňuje podání kurkuminu v účinné dávce tj. 30 mg/kg, jehož jediný známý vedlejší účinek je žlutá kůže. Farmakokinetika kurkuminu, jeho hepatoprotektivní účinek a efekt při léčbě Crohnovy choroby jsou předmětem klinických studií.

Mezi dalšími diskutovanými přírodními produkty s protinádorovým účinkem byl resveratrol, což je polyfenol vyskytující se ve šťávě různých druhů ovoce, především červených hroznů. Resveratrol má schopnost inhibovat účinek aktivitu NFeB, což vede k apoptóze u buněčné linie CML (K562). Bylo prezentováno také několik příspěvků o plumbaginu naftochinonu vyskytující se v olověci cejlonském (*Plumbago zeylanica*) často používaném v orientální medicíně. Plumbagin inhibuje buněčnou proliferaci buněk hepatocelulárního karcinomu u myšího modelu a také indukuje jejich apoptózu uvolněním cytochromu c z mitochondrií, in vitro navozuje buněčnou smrt a radiosenzitivitu u buněčných linií odvozených

od karcinomu plic a děložního čípku. Pro-apoptotická aktivita byla prezentována také u polyfenolů ze zeleného a černého čaje, složek esenciálních olejů, skořice, kardamonu, výtažků z chobotnic a exotických ořechů.

Nové přístupy systémové protinádorové terapie

Michael Andreeff navrhnul nový přístup protinádorové terapie pomocí mezenchymálních kmenových buněk (MSC). Na základě faktu, že intravenózně podané MSC mají schopnost infiltrovat solidní nádor a integrovat se do nádorového stroma, byl proveden experiment s geneticky manipulovanými MSC exprimujícími IFN α . Podání těchto buněk vyvolalo u myši zmenšení plicních metastáz mamárního karcinomu a melanomu a prodloužilo dobu jejich přežití. Byla také úspěšně testována schopnost těchto buněk transportovat do nádoru onkolytický adenovirus Δ 24RGD, který měl významně anti-leukemický efekt. Díky těmto slibným výsledkům se připravují klinické studie podání MSC.

Raj Puri prezentoval výsledky studie a klinického testování fáze I a II podání IL13 fúzaného s toxinem produkovaným bakterií *Pseudomonas* (IL13-PE38) při terapii nádoru mozku. Terapie je založená na specifické zvýšené expresi receptoru pro IL-13 buňkami maligního gliomu (GBM, glioblastom multiforme). Studie fáze I a II ukázaly, že systémové podání 97 pacientům s GBM IL13-PE38 je dobře tolerováno, a momentálně je zahajováno klinické testování fáze III.

Účast na této konferenci byla podpořena grantem Ministerstva zdravotnictví ČR číslo. MZ00209805.

ZPRÁVA Z ÚČASTI NA 9. BAUEROVĚ DNI

THE 9TH BAUER'S DAY - CONTROVERSY IN ONCOLOGY: CERVICAL CANCER PREVENTION, SCREENING, VACCINATION

MOUKOVÁ L.

ODD. GYNEKOLOGICKÉ ONKOLOGIE MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV BRNO

Dne 19.11.2005 se konal v pražském Karolinu 9. Bauerův den pod názvem „**Kontroverze v onkologii: prevence cervikálního karcinomu, skrining, vakcinace**“, pořádaný Gynekologicko-porodnickou klinikou UK Praha 2. LF a FN v Motole, Onkogynekologickou sekcí ČGPS a Nadačním fondem „Žena a život“.

Doc.MUDr.L.Rob.CSc. zaujal svou přednáškou pod názvem „Cervical cancer in the Czech Republic - current status“. Od roku 1974 do roku 2002 docházelo k sinusoidnímu pohybu incidence cervikálního karcinomu v rozmezí 20-24/100000 obyvatel. V období před vstupem České republiky do Evropské unie byla incidence karcinomu děložního hrdla ve státech Evropské unie 9,8/100000 a mortalita 2,9/100000, zatím co hodnoty incidence v České republice se v téže době pohybovaly v rozmezí 19,8-21,6/100000 a mortality 6,9-7,6/100000. Za zamyšlení stojí věková distribuce žen s karcinomem děložního hrdla. Ve věku 20-35 let je 13% nových případů ročně a 10% žen ročně umírá. Ve věku 36-55 let je ročně 45% nových případů a 25% žen umírá. Ve věku 56-75 let je 30% nových případů a 50% žen ročně umírá. Ve věku 76-95 let je 10% nových případů a 90% žen ročně umírá.

Na téma „Aktuálnost problematiky z pohledu Ministerstva zdravotnictví České republiky“ pohovořil MUDr.Březovský. Na to pak navázal prof. MUDr. Žaloudík, CSc. se svým příspěvkem pod názvem „Aktuálnost problematiky z pohledu Onkogynekologické společnosti“. Účastníci 9. Bauerova dne měli i tu čest vyslechnout přednášku v angličtině od prof. MUDr. Meijera, Ph.D. z Vrije University Medical Center v Amsterdamu - „Screening today and tomorrow in Europe“ - celá přednáška bude publikována v Gynekologii po promoci. As. MUDr. Kačírek otevřel živou diskusi na téma

„Kontroverze - klasická cytologie, LBC (Liquid Based Cytology = cytologie v tekutém mediu) a další nové metody - hranice senzitivity, úskalí pro skríníng“. Senzitivita cytologie ve skríníngu činí 60%. V České republice není zatím ani jedna laboratoř, která by cytologii v tekutém mediu díky finančním nákladům rutinně prováděla. Dle většiny studií poskytuje LBC lepší výsledky než klasická cytologie. Laboratoře by měly být rozděleny na skríníngové a konziliární, kde by byly konzultovány výsledky cytologií již selektované skupiny pacientek. Požadavky na skríníngovou laboratoř jsou dle WHO 100000 provedených cytologií/rok, v USA 300000 cytologií/rok. V Evropské unii je situace stále nejasná. V České republice se návrhy na provedení počet cytologických vyšetření pohybují v rozmezí 15000-25000-50000 za rok.

As.MUDr.Pluta svou přednášku zaměřil na „Kontroverzi v HPV (Human Papillomavirus)

testaci - kde jsou hranice senzitivity, úskalí pro skríníng, využitelnost metody v ostatních indikacích“. Dle dosavadních studií u žen ve věku 18-30let má pozitivní HPV testaci v 15-45% případech. Ženy nad 30 let s perzistující HPV infekcí činící cca 3-7% a jsou považovány za rizikovou skupinu. Dle dosavadních studií je přítomnost typů HPV 16 a 18 u 70% karcinomů děložního hrdla a HPV 31, 45, 52 u 12% karcinomů děložního hrdla. Vezmeme-li v úvahu rozdělení cytologických nálezů, tak pozitivní HPV testaci můžeme najít v 4-45% u normálních cytologických nálezů, v 50% u LGSIL (Low Grade Squamous Intraepithelial Lesion = lehká dysplazie), v 95% u HGSIL (High Grade Intraepithelial Lesion = středně těžká a těžká dysplazie) a v 98-99,7 % u invazivního karcinomu děložního hrdla. U žen s onkocytologickým nálezem ASC-US (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance = atypické skvamózní buňky neznámého původu) pod 30 let se HPV testace nedoporučuje, vysokou prevalenci má v tomto případě kolposkopie. Naopak u žen s ASC-US nad 35 let je provedení HPV testace doporučeno. U nálezu ASC-H (Atypical

Squamous Cells, cannot exclude High Grade Lesion = atypické skvamózní buňky charakteristické pro HPV infekci) nemá HPV testace význam, pouze kolposkopie. U AGC-neo (Atypical Glandular Cells - Neoplasm = atypické glandulární buňky a vysoce suspektní neoplazie) je doporučena biopsie.

Závěrem zazněla přednáška doc.MUDr.Roba,CSc. „Profylaktická vakcinace - dnes a zítra“. Dle dosavadních studií je u pacientek s anamnézou kouření cigaret čtyřnásobně větší riziko vzniku karcinomu děložního hrdla. Dokonce až šestinásobně riziko vzniku karcinomu děložního hrdla je u pacientek s anamnézou brzkého pohlavního styku, zvýšeným počtem sexuálních partnerů a kouřením. Diskuse ohledně vakcinace proti HPV nepřinesla jednoznačné závěry. Nebyla stanovena věková hranice očkování dívek. Zvažované věkové rozmezí je mezi 13-14 lety, avšak posunutí vakcinace do nižších věkových kategorií je diskutabilní. Rovněž tak ceny vakcín, které by měly přijít na náš trh cca za 2 roky, nebyly dořešeny. Předpokládaná cena se pohybuje mezi 6000-10000 Kč, ovšem snaha je o její snížení. Od myšlenky aplikovat vakcínu i u mužů bylo ustoupeno vzhledem ke vzácnému výskytu penilního karcinomu. T.č. jsou připravovány na trh dvě vakcíny:

Gardasil - MERC vakcína - HPV-16 VLP+S (6, 11, 16, 18) Cervarix - GSK vakcína - HPV-16 a HPV-18 VLP+S (6, 18) Aplikací formou budou i.m. injekce. Aplikací intervaly nebyly ještě stanoveny. Zvažuje se schéma 0 měs-1 či 2 měs...6 měs. Zda bude následovat ještě přeočkování po určité době není zatím známo. Vakcinace by měla být svěřena do rukou dětských lékařů, na čemž se shodlo celé odborné fórum.

V České republice je skríníng založený na cytologickém a kolposkopickém vyšetření jednou ročně se začátkem 18 let ženy, či při zahájení sexuálního života. Hodnotíme-li incidenci onemocnění karcinomu děložního hrdla, je zřejmé, že současný systém prevence není dostatečně vyhovující. Proto si na závěr položíme otázku: „Jaké další kroky je nutno podniknout k jeho zkvalitnění?“

Několik poznámek k současným problémům českého zdravotnictví pohledem předsedy České onkologické společnosti Jiřího Vorlíčka

1. Současný způsob organizace a financování zdravotnictví vede ke snížení péče o nemocné
2. Dosavadní péče byla téměř bezbřehá, nesystematická, finančně vyčerpávající, systémové změny a určitá omezení péče jsou nutné.
3. Je možné omezit preskripci levných léků bez zásadních léčebných přínosů (venotonika, vasodilatancia a další), je vhodné nehradit zdravotními pojišťovnami běžné levné léky na běžná onemocnění (úspora dle odhadů VZP kolem jedné miliardy).
4. Je nutné zachovat dostupnost léků, které život zachraňují nebo ho významně prodlužují
5. Základní požadavek: **správný lék správnému pacientovi** Zajištění: **drahou léčbu soustředit do center**, v centrech nutné navýšení prostředků na léčbu při průhledné a jednoduché kontrole, anonymizovaná data z center musí být obecně k dispozici. Centra ustanovit na podkladě kvalifikace, vybavení, počtu léčených diagnóz, evaluace a schopnosti komunikace
6. Pacienti musí být o změnách financování zdravotnictví pravdivě informováni.
7. Nejnovější a nejdražší léčba nemůže být pro všechny nemocné - není to v žádném státě na světě. Léčba však musí být vždy lege artis - nepodkročitelná doporučení.

8. Možnosti navýšení peněz do zdravotnictví (mimo zvýšení stávajícího zdravotního pojištění):

- a/ zavedení možnosti komerčního připojištění
- b/ poplatek za recept
- c/ poplatek za návštěvu praktického lékaře a ambulantního specialisty (máme největší návštěvnost u lékaře na světě)
- d/ nehrzení stravy v nemocnici, nehrzení běžných laciných léků v ambulantní péči zdravotními pojišťovnami
- e/ drahou a komplikovanou léčbu soustředit do center, bude to ve svém důsledku lacinější.

Všechny výše uvedené změny ošetřit tak, aby byly únosné pro sociálně slabé nemocné.

9. Opakované oddlužování nemocnic vede soustavně ke znevýhodňování nemocnic s dobrým hospodařením při zachování péče lege artis. Jsou to demoralizující a nevhodná opatření, kritizovaná nejen zdravotníky a pacienty.

Současná situace ve zdravotnictví odvrací voliče od vládnoucí koalice. Systémové změny ve zdravotnictví je nutné začít provádět co nejdříve po volbách a to bez ohledu na výsledky voleb.

Prof. MUDr. Jiří Vorlíček, CSc.
předseda České onkologické společnosti ČLS JEP
tel.: 602 109 451
V Brně 12. března 2006

Vážení kolegové,

srdečně Vás zveme na tradiční podzimní
onkogynekologický seminář, na téma

Karcinom prsu a vulvy

pořádaný Gynekologicko-porodnickou klinikou
I. LF UK a VFN v Praze

v sobotu dne 28. října 2006 od 9.00 hodin
v posluchárně **Gynekologicko-porodnické kliniky,**
Apolinářská 18, Praha 2.

Předběžný program:

Hormonální léčba u žen po léčbě karcinomu prsu

Doc. MUDr. D. Cibula, CSc

Vrozená dispozice ke vzniku karcinomu prsu As.

MUDr. M. Zikán, PhD

Zobrazovací metody v mamodiagnostice, mamografický
screening

Doc. MUDr. P. Daneš, CSc

Benigní onemocnění prsu As.

MUDr. M. Janoušek

Nové trendy v operační léčbě prsu As.

MUDr. D. Pavlišta

Plastické operace prsu

Doc. MUDr. M. Dušková, CSc

Úloha gynekologa v péči o prsy As.

MUDr. D. Pavlišta

Prekancerózy vulvy, vulvoskopie

Doc. MUDr. P. Freitag, CSc

Benigní onemocnění vulvy a jejich léčba

MUDr. J. Sláma

Optimální radikalita chirurgických výkonů na vulvě As.

MUDr. M. Janoušek

Přihlášení účastníci kurzu obdrží pozvánku se složenkou (na
pozvánce bude uvedeno bankovní spojení
pro bezhotovostní převod). Poplatek činí 600,- Kč
vč. 19% DPH.

Nebude-li uhrazen předem, lze zaplatit na místě v hotovosti ve
výši 700,- Kč vč. 19% DPH.

**Absolventi kurzu obdrží certifikát podle Stavovského před-
pisu č. 16 ČLK.**

Vaše přihlášky prosím posílejte na adresu: Děkanát I. LF UK -
odd. doškolování lékařů,
Kateřinská 32, 121 08 Praha 2, e-mail: nebo , tel. + fax: 224965675,
mobil: 732146799.

INFORMACE

Centrum pro onkologii založenou na důkazech (Center for Evidence Based Oncology; CEBO)

Institutu biostatistiky a analýz Lékařské a Přírodovědecké
fakulty Masarykovy univerzity

Základním důvodem pro založení CEBO je současný neuspo-
kojivý stav v oblasti projektů řádných klinických hodnocení
iniciovaných, realizovaných a vyhodnocovaných subjekty
nekomerčního sektoru, rozpočtových a neziskových organi-
zací (akademické instituce, státní zdravotnická zařízení aj.),
a to z hlediska počtu i kvality těchto projektů.

Cílem CEBO je především:

- vzdělávací a osvětová činnost v oblasti plánování, organi-
zace, zpracování dat a interpretaci výsledků klinických hod-
nocení
- poskytování konzultací potenciálním iniciátorům, realizát-
orům a účastníkům klinických hodnocení
- komplexní organizační zajištění a statistické zpracování dat
klinických hodnocení, klinických registrů a jiných multi-
centrických projektů, které prošly standardním a t ranspa-
rentním schvalovacím procesem CEBO popsaným v tom
to organizačním řádu
- rozvoj mezinárodní spolupráce s obdobnými zahraničními
su bjekty v oblasti mezinárodních klinických hodnocení
- komunikace se státními regulačními autoritami ve věci
mož nosti zlepšení podmínek pro realizaci nekomerčních
klin ických hodnocení

Orgány CEBO jsou:

- Vědecká rada - steering committee
(sestavující se z předsedů KOC)
- Programová rada executive board
- Výkonný manažer-technická podpora

Financování činnosti se děje v souladu s platnými zákony na
podkladě sponzorských příspěvků.

14. 02. 2006 Jindřich Fínek

Zápis z jednání výboru České onkologické společnosti konaného dne 17. 1. 2006 v Praze - FN Královské Vinohrady

Přítomni : Vorlíček, Abrahámová, Aschermannová, Fínek, Jelínková, Konopásek, Petruželka, Petera, Příbylová, Rob, Stáhalová, Stankušová, Žaloudík

Omluveni: Cwiertka, Eckschlager, Vyzula

Členy výboru přivítala na svém pracovišti prim. MUDr. M. Kubecová a seznámila přítomné se strukturou a vybavením pracoviště i hlavními problémy, které spočívají především v nedostatku ozařovacích přístrojů v poměru k počtu výkonů.

1. Byla diskutována všeobecná nedostatečnost vybavení radioterapeutickou technikou v ČR i důsledky nové úhradové vyhlášky (restrikce fungování nových kapacit, limit v mamárním screeningu apod.) Ve vyhlášce č. 550/2005 z 30.12.2005 jde zejména o negativní důsledky bodů týkajících se 30% využití nových kapacit - viz Příloha 1, odst.b, částka 5, a limitů pro prevenci - viz Příloha 6/odstavec a.
2. Přizvaný prof. MUDr. P. Arenberger, DrSc. navrhl vznik dermatoonkologické sekce ČOS s argumentací styčnými tématy dermatologů a onkologů. Byl vysloven souhlas k přípravám organizace sekce s tím, že budou členové sekce členy ČOS a přípravnou skupinou budou osloveni všichni, kteří se na léčbě melanomu podílejí, tedy i chirurgové a onkologická centra.
3. Soutěž o grantový příspěvek na přístroj z Běhu T.Foxe „
 - a) FN Brno IHOK - Multifunkční systém pro luminiscenci, fluorescenci a UV/VIS absorbanci v biologických vzorcích (požadováno 500 tis. Kč 50% účast)
 - b) VFN Praha - Onkol. klinika - LightCycler 1.5 PCR Instrument Roche Daignostics (požadováno 600 tis. Kč 40% účast)
 - c) MOÚ Brno - digitální gelový zobrazovací systém (požadováno 420 tis. Kč 25% účast)
 - d) FN Olomouc - patologie - mikroskop s integrovaným PC pro digitální virtuální tkáňovou banku (požadováno 350 tis. Kč 80% účast FN)
 - e) FDN Brno - KDO - hlubokomrazící skříňový box -86° C pro banku dětských nádorů, (160 tis. Kč 34% spolúčast) Zadání grantové soutěže (dle výboru BTF má být přístroj určený pro výzkum) nesplňují :
 - f) FN Hradec Králové - urologie - bioptické zařízení (40 tis. Kč) - jde o rutinní zařízení
 - g) FN Motol Praha - radiační onkologie - Somavision Workstation - jde o zařízení pro rutinní radioterapii, navíc vysoká finanční náročnost (požadován 1 mil.Kč), nelze vyhovět
4. *Vyhodnocení výsledků grantového programu BTF 2005 RASO bude provedeno v termínu do 31.1.2006. Většina pracovišť již podala zprávy, celá akce se jeví jako úspěšná po stránce obsahové, avšak mnohými řešiteli nebylo respektováno zadání, že zpráva má mít podobu manuskriptu k publikaci v Klinické onkologii. Pouze jednomu řešiteli již práce podpořená grantem RASO v KO vyšla, další dodal v publikovatelné podobě. Všichni ostatní tedy budou znovu vyzváni, aby zprávu podali v podobě již publikovatelné v časopise Klinická onkologie, kde bude standardně zajištěno i recenzní řízení.*
5. Na žádost předsedy ČLS JEP prof. MUDr. J. Blahoše, DrSc. po jednání s p. ministrem D. Rathem zpracovali prof. MUDr. J. Žaloudík, CSc., prof. MUDr. R. Vyzula, CSc. a prof. MUDr. J. Vorlíček, CSc. koncepci onkoprevence s názvem Onkoprevence pro Českou republiku, která již byla rozeslána členům výboru a je zveřejněna na www.linkos.cz. Výbor vyslovil podporu zpracování materiálu a pokládá ho za oficiální program onkoprevence pro ČOS. Náměstek ministra zdravotnictví MUDr. A. Pečenka již písemně potvrdil, že materiál bude použit jako podkladový materiál pro záměry.
6. Tisková konference na téma onkocenter se uskuteční v Paláci

- Adria, Jungmannovo nám. 25.1.2006 v 11 hod. Všichni členové výboru byli vyzváni, aby se podle svých možností zúčastnili.
7. Národní onkologický program a onkocentra budou předmětem dvou denního jednání organizovaného Nadací P.Janssena 2.-3.3.2006 ve Štíříně.
 8. Instrukce k další práci na webovém portálu onkocenter byly v písemné podobě předány všem členům. Výbor, vycházející také z výsledků porady 6.1.2006 v Brně, souhlasí s postupem dalších prací na webovém portálu onkocenter. Členové výboru s návrhem portálu po prostudování podkladů souhlasí, stejně jako souhlasí s účastí firmy Astra Zeneca jako generálního partnera tohoto projektu.
 9. Na schůzi výboru se dostavil MUDr. M. Oliverius z IKEM Praha, který ve spolupráci s MUDr. P. Studeníkem z CKTCH Brno žádá o společný postup onkologů a transplantologů ve věci indikací transplantace jater u nemocných s diagnózou hepatocelulárního karcinomu. Při zhruba 400 případech ročně v ČR bylo za celá poslední léta z této indikace transplantováno jen 14 případů. V diskusi byla shledána užitečnost popularizace této potenciálně kurativní léčebné metody, kterou lze provést v IKEM Praha nebo CKCHT Brno - konzultace možná e-mailově přes www.linkos.cz, do něhož propojí transplantologové indikační formulář, aby potenciálně vhodný případ mohlo konzultovat kterékoli pracoviště v republice. K sekundárním nádorům jater, především metastázám kolorektálního karcinomu, kde je situace v aktivní chirurgické léčbě podobně neuspokojivá, bude jednáno na příštím výboru za účasti doc. MUDr. A. Ferky, CSc. v Pardubicích v únoru 2006.
 10. Prof. MUDr. J. Žaloudík, CSc. podal informaci o záměru věnovat blok přednášek na BOD 2006 tématu *East European Cancer Plans* s pozvanými zástupci onkologie z Polska, Maďarska, Slovenska, Slovinska, Litvy, Lotyšska a Estonska. V organizaci a krytí nákladů pomáhá firma AstraZeneca.
 11. Kongres UICC ve Washingtonu v červnu 2006 se pokusí za ČOS navštívit prof. MUDr. J. Žaloudík, CSc. s prezentací popularizující některé organizační aspekty české onkologie.
 12. Prof. MUDr. J. Abrahámová, DrSc. za vedení NOR upozornila na výrazné zhoršení situace ve sběru dat NOR v roce 2004 ve srovnání s referenčním rokem 2003. Byla připravena podrobná tabulka deficitů podle okresů a krajů. Výbor pokládá situaci za vážnou a předsedkyně NOR spolu s předsedy ČOS i SROBF rozešlou dopisy ministerstvu, ředitelům přímo řízených organizací a krajským zdravotním radám s upozorněním, že hlášení zhoubného novotvaru je zákonnou povinností každého pracoviště, které převzalo odpovědnost za léčbu onkologicky nemocného. Toto zhoršení hlásitelnosti se paradoxně objevuje v době, kdy se podařilo NOR softwareově zpřístupnit laické i odborné veřejnosti a připravuje se forma elektronické hlásenky. Znovu připomínáme, že za stav NOR zodpovídají jednotliví ředitelé zdravotních zařízení.
 13. Byla podána informace o současném stavu akreditací pracovišť ke specializačnímu vzdělávání podle Zákona 95/2004. Výbor aktivity akreditační komise pro specializaci v klinické onkologii vedené prof. MUDr. P. Klenerem, DrSc. uvítal a upozornil na postup jak je uveden v dopise ministra zdravotnictví a instrukcích na www.mzcr.cz.
 14. Výbor ČOS vzal na vědomí návrh vědeckého sekretáře Společnosti nukleární medicíny dr. Záhlavy, který soudí, že by měla být podpořena instalace PET v každém z nově garantovaných onkocenter. Výbor ČOS pokládá tento návrh za ideální, nicméně zcela mimo současné možnosti českého zdravotnictví. Přivítá, když postupně proběhnou aspoň instalace dalších 3 - 5 PETů geograficky rozložených tak, aby byly přístupné několika onkocentrem v okolí.
 15. Do ČOS byli přijati titi noví členové : Štukavec (Praha), Bartoš (Bilovec), Grim (Hradec Králové), Salášková (Plzeň), Bakala (Zlín), Škrovina (Žilina), Šmardová (Brno), Maňásek (Brno), Man (Jablonec), Vraný (Jablonec), Smetka (Bzenec), Mendreková (Český Těšín), Feltl (Ostrava), Kliková (České Budějovice), Pacík (Brno), Slavíček (Jihlava).

Přítomni: prof. Vorlíček, doc. Abrahámová, prof. Vyzula, doc. Finek, prim. Cwierotka, prim. Jelínková, prim. Stáhalová, prim. Aschermannová, doc. Konopásek, prof. Eckschlager

Omluveni: prof. Žaloudík, doc. Petruželka, Dr. Příbylová, Dr. Stankušová, doc. Rob, doc. Petera

Výbor ČOS byl hostem doc. MUDr. Jaroslava Vaňáska, CSc. přednosty Oddělení radiční onkologie. Schůzi zahájil předseda ČOS prof. MUDr. Jiří Vorlíček, CSc. Členové výboru ČOS byli přivítáni čelnými představiteli Pardubického kraje a Krajské nemocnice. Jako první pohovořil vicehejtman Ing. Roman Línek, posléze předseda okresního sdružení ČLK MUDr. Karel Štátný, pak ředitel KN Pardubice MUDr. Jan Feřtek, MBA a nakonec MUDr. Jan Caltá, ředitel společnosti Mediscan. Výbor ČOS byl seznámen s organizací onkologické péče v kraji, přičemž KN Pardubice je sídlem KOC, jehož vedoucím je doc. Vaňásek. Řízenými pracovišti jsou ambulantní onkologická pracoviště ve Svitavách, Chrudimi a Ústí nad Orlicí. O zařízení radiční technikou (akcelerátor, simulátor, plánovací systém) se zasloužila firma Mediscan. Technika je užívána (na smluvním podkladě) Oddělením radiční onkologie, kde je také umístěna.

1. Po projevech oficiálních představitelů se slova ujal doc. Vaňásek, který členy výboru seznámil s dějinami a vývojem onkologické péče a Oddělení radiční onkologie v Pardubicích.
2. Prof. Vorlíček zkontroloval zápis z minulé schůze, který byl schválen.
3. Doc. Abrahámová informovala o zasedání Rady NOR. Stav hlášenosti zhoubných chorob za rok 2004 dosud není uspokojivý, a tudíž uvedený rok nelze zatím statisticky uzavřít. Za tento stav není možné vinit regionární správce dat, kteří logicky mohou spravovat jen data, která obdrží. Za onkologickou hlášenost jsou zodpovědní vedoucí zdravotnických zařízení a zdravotní radové. Na půdě ÚZIS ve spolupráci s paní ředitelkou Mg r. Mazánkovou byl vypracován dopis adresovaný uvedeným zdravotnickým představitelům. Dopis připomíná zodpovědnost za hlášenost, která je zákonnou povinností. Znění dopisu bylo jednomyslně schváleno členy Rady NORu. Dopis byl schválen přítomnými členy výboru ČOS. Tento byl podepsán předsedou výboru ČOS prof. Vorlíčkem, předsedou výboru SROBF doc. Peterou a předsedkyní Rady NOR doc. Abrahámovou. V příštím týdnu budou do pisu rozslány.
4. Doc. Abrahámová informovala o konečné verzi onkologické hlášenky, o konečné verzi Metodiky a o dokončení příprav (datové rozhraní) pro elektronickou hlášenku. Tisky hlášenek, které vystačí cca 5-6 měsíců, byly pořízeny za finance KSRZIS a byly rozeslány krajským správcům NOR. Po vyčerpání zásob si je každé zařízení musí pořizovat na vlastní náklady. Členové výboru ČOS se seznámí s Metodikou na své poznámky dají najevo do dvou dnů. V pátek 17.2. 06 je třeba ÚZIS informovat o schválení Metodiky výborem ČOS.
5. Prof. Vorlíček informoval o tiskové konferenci o KOC/KOS, která se konala v Praze v hotelu Adria dne 25.1.06 za účasti některých vedoucích KOC. Zúčastnilo se asi 30 novinářů a informace o důvodech založení KOC/KOS proběhly tiskem. Konference byla úspěšná.
6. Prof. Vorlíček informoval o vývoji portálu KOC a KOS, který není dosud hotov a vyzval vedoucí onkocenter k poskytnutí řádných a ilustrativních informací o svých pracovištích, jakmile bude portál k dispozici.
7. Do podzimu letošního roku by měla začít fungovat Rada onkocenter, která by měla nastavit pravidla hry, způsob komunikace s pojišťovnami, spolupráci s MZ. Důležitá je samozřejmě prezentace vlastních výsledků. Do příští schůze si členové výboru připraví obecně pojatý program, který by byl pro Radu onkocenter vhodný. V řadě onkocenter budou kromě 18 KOC/KOS i 2 centra pediatrické onkologie a 7 center hematoonkologických.
8. Prof. Vyzula informoval o plánovaných BOD. Den 11.5.2006 bude

věnován tématu „East European Cancer Plans“. Předpokládá se účast onkologů ze zemí nově přistoupivších členů EU. Předpokládá se též prezentace jejich výsledků. Dohodnuto, že z naší strany je třeba prezentovat NOR, SVOD, NOP, mamární screening, preventivní programy. Členové výboru jsou vyzváni k aktivní účasti. Jednání bude v angličtině, přihlášku je třeba zaslat do konce února, summary v angličtině do konce března.

9. Prof. Vorlíček informoval, že v rámci RASO poslali všichni i zúčastnění své výsledky, pouze řešitelé dvou prací z ÚRO n a Bulovce požádali o odklad do konce února. Výsledkům RASO bude věnováno samostatné číslo Klinické onkologie.
10. Dne 3.3. se bude konat na zámku Štířín jednodenní farmakoekonomické sympozium s názvem „Správná péče správnému pacientovi“. Bylo iniciováno ČOS. Sponzorem je firma Jansen-Cilag. Jde o setkání představitelů ČOS (aktivní účast mají prof. Žaloudík, prof. Vorlíček, prof. Vyzula) s představiteli pojišťoven, MZ, patientských organizací a ekonomů. Všichni členové nové výboru a vedoucí KOC/KOS jsou srdečně zváni.
11. Doc. Finek informoval o programu CEBO (centrum evidence based oncology). Tento program by měl být důstojnou protiváhou u podobných organizací v zahraničí (např. CECOG, BCIRG, aj.). Materiální rozjezdové zázemí poskytne firma Novartis (Dr. Vydělák). Organizace usiluje o transparentní výzkum, který není organizovaný farmaceutickými firmami a dále o výzkum podle všech kautel tak, aby v konečné fázi výsledky byly publikovatelny v impaktovaných časopisech. CEBO bude mít svou vědeckou radu, své statistické zázemí a bude pracovat pod Masarykovou univerzitou. Předpokládá se aktivní spolupráce všech onkocenter. Prof. Vyzula upozornil, že jde o úkol a závazek velmi zodpovědný. Všichni přítomní členové hlasovali pro ustavení CEBO, o jeho náplni i organizaci bude třeba ještě vést kvalifikovanou diskuzi. Doc. Finek sepiše podrobné informace o organizaci CEBO do 19.2. 2006 a zašle prof. Vorlíčkovi.
12. Prof. Vorlíček informoval o činnosti kategorie komise, jejímž předsedou je doc. Němeček. Usiluje se o navýšení prostředků na nové léky pro onkocentra, nejpозději od druhého pololetí 2006.
13. Výbor ČOS souhlasí s poskytnutím záštity nad akcí: „50le té výročí založení Onkologického oddělení Pardubice“.
14. Prof. Vorlíček a prof. Žaloudík vypracovali Návrh podpory onkologických screeningových programů z preventivních fondů z dražebních pojišťoven. Návrh se týká screeningů rakoviny prsu, screeningů rakoviny hrdla děložního a screeningů rakoviny tlustého střeva a konečníku. Všichni členové dostali materiál s předstihem a s předloženým materiálem souhlasí.
15. Poslanec MUDr. Jozef Kubinyi se písemně dotázal prof. Vorlíčka jako předsedy ČOS na to, jaký význam mají u onkologických nemocných rekondiční pobyty u moře a na horách. Prof. Vorlíček odpověděl, že tyto pobyty průběh onemocnění ani sklon k relapsům neovlivní. Jde však o užitečnou psychosociální rehabilitaci.
16. Prof. Blahoš, předseda prezidia ČLS JEP, poskytl plnou podporu ustaveným onkocentřům.
17. Prof. Eckschlager informoval o zasedání ČLK Na Homolce, kde prim. Šmelhaus prosazoval o indikaci pro lázeňskou péči onkologických nemocných formulaci o vhodnosti lázeňské léčby pro nemocné s pomalu progredujícím nádorovým onemocněním. Členové nesouhlasí s touto formulací a to takto: 9 hlasů proti, 1 hlas pro (prof. Eckschlager).
18. Prof. Eckschlager informoval o zasedání Transplantační společnosti, kde byla schválena akreditace českých transplantačních center na rok 2006.
19. Dne 20.2. 06 se koná schůzka na MZ s předsedy všech společností ČLS JEP.
20. Výbor odsouhlasil písemnou formu garance ČOS jmenovaným KOC/KOS.

**Zapsala: Doc. MUDr. Jitka Abrahámová, DrSc.
V Praze dne 15.2.2006**

Zápis z jednání výboru České onkologické společnosti konaného dne 14. 3. 2006 v Ostravě

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

Omluveni: Abrahámová, Finek, Příbylová, Rob

Výbor ČOS přivítal ředitele Fakultní nemocnice Ostrava dr. Němeček a nedávno nově jmenovaný přednostu Radioterapeutického oddělení FN Ostrava MUDr. David Feltl, Ph.D., kteří seznámili přítomné s proměnami pracoviště a jeho dalšími záměry jako Komplexního onkologického centra.

1. Provedena kontrola zápisu z minulého jednání v Pardubicích.
2. Výbor ČOS diskutoval další osud spolupráce České onkologické společnosti a Slovenské onkologické společnosti ve vztahu k časopisu Klinická onkologie, kde trvá pocit asymetrie. Předseda prof. Vorlíček byl pověřen, aby vešel v kontakt s vedením Slovenské onkologické společnosti k ujasnění dalšího společného postupu v oblasti obsahové, organizační i finanční.
3. Vyhodnocení RASO (roční analytické studie v onkologii, grant Běhu T. Foxe) z roku 2005 : výsledky práce již jsou nebo v tomto roce budou v duchu zadání soutěže publikovány, zajistí redakční rada Klinické onkologie sdružením prací do logických celků ve více číslech. Práce však dosud nedodali Dr. Kubeš z Ústavu radiační onkologie Bulovka a Dr. Pavel Lisý z Chirurgické kliniky FN KV. Výbor pověřuje předsedu prof. Vorlíčka, aby splnění úkolu naléhavě vyžadoval, nemají-li být tyto dva projekty pokládány za nesplněné s dalšími důsledky. Celkově však výbor hodnotí zadání RASO v roce 2005 jako úspěšné a případně se k němu vrátí v roce 2007. Letos byly granty věnovány v souladu s požadavkem organizátorů BTF do soutěže o přístroje pro onkologický výzkum a inovace.
4. Byl podrobně diskutován stav všech tří screeningových programů v ČR, přičemž za skutečný screening je možno pokládat pouze screening mamární. Screening je obecně vázán na dvě podmínky: jasné označení samostatného kódu vyšetření asymptomatického pacienta a audit na označených (akreditovaných) vyšetřovacích pracovištích s datovými výstupy. Bráno z tohoto hlediska nemáme relevantní důkaz o fungování screeningů u kolorektálního karcinomu ani karcinomu čípku děložního už také proto, že na rozdíl od mamárního karcinomu stagnují první stadia a nezlepšuje se trend mortality. Myslet je třeba také na optimální organizaci časného zachytu rakoviny prostaty, což může perspektivně přejít i v organizovaný screening, budou-li naplněny uvedené podmínky. Bylo také konstatováno, že nezbytná je podpora screeningového programu ministerskou vyhláškou a stanoviskem pojišťoven. Časný zachyt nádorů je samozřejmě jediným účinným nástrojem snižování mortality na onkologická onemocnění a ČR má v tomto směru značné rezervy. Navíc při každé změně ministerské garnitury a vedení pojišťoven začínáme s vysvětlováním záměrů a požadavků na screening jakoby znovu, což je nejen vyčerpávající, ale málo efektivní.
5. Výbor vedl diskusi o hlavních funkcích Rady onkocenter v této první etapě : Patří sem sjednocování stanovisek v těchto tématech : a) financování nákladné a kombinované léčby v onkocentrech, spolupráce se ZP, b) metodická spolupráce při tvorbě lokálních sítí pro základní a dispenzární onkologickou péči, c) spolupráce s MZ při tvorbě metodiky hodnocení kvality péče v onkologii d) vytváření podmínek pro multacentrické klinické studie v onkologii.
6. Výbor diskutoval stav příprav akreditačních řízení školících pracovišť a shodl se, že je třeba striktně postupovat podle Zák. 95/2004. Vyslovil znepokojení, že akreditační komise pro kli-

nickou onkologii se pracovně dosud nesešla než pouze při svém ustavení. Dále vyslovuje podiv nad aktivitami IPVZ, jehož role není v Zák. 95/2004 nijak zmíněna, stejně jako zanikající role dřívějších kateder. Zdá se, že některá pracoviště se hodlají akreditovat jakoby dvakrát, jednou za svou nemocnici, podruhé pod hlavičkou IPVZ, který hodlá čerpat ze smluvních ujednání s některými nemocnicemi a působí v systému jako nový typ virtuálního zdravotnického zařízení nakupující služby ze státních dotací v nemocnicích. Podle poslední zprávy bude zasedání akreditační komise pro klinickou onkologii 30. března na MZ.

7. Předseda prof. Vorlíček referoval o semináři „Správná péče správnému onkologickému pacientovi“ ve Štítně 3.3.06. Obsahem byla akce zajímavá a užitečná, je otázka zda bude užitečná svým dopadem, byť se účastnili zástupci VZP a MZ.
8. Zpráva předsedy prof. Vorlíčka z Kategorizační komise : Kategorizační komise neexistuje, je ministrem zrušena. Komise se nicméně dále schází. Cytostatika kategorie X jsou v této fázi schvalována revizními lékaři a placena paušálem. Současná situace ovšem neznamená, že lék bude v rámci celkového limitu pojišťovnou proplacen, byť byl schválen revizním lékařem. Přidělené počty nemocných k léčbě vybranými lékovými přípravky (například Herceptin) se nemění.
9. Je třeba, aby výbor ČOS již nyní do voleb vysvětloval vedení ZP a MZ, že důsledkem obecně žádoucí sítě onkocenter je samozřejmě soustředování nemocných na uvedená pracoviště, která pak stěží mohou redukovat péči dle úhradové vyhlášky. Pro ZP jde ovšem pouze o redistribuci nemocných, protože pacient léčený v onkocentru není léčen v nespécializované nemocnici. Péče v onkocentru je nesporně efektivnější.
10. Výbor projednal nabídku Medical Tribune distribuovat MT všem členům ČOS za výhodnou cenu, která bude celkově pokryta z jejich stávajícího členského příspěvku.
11. K dopisu Lázní Velichovky výbor ČOS konstatuje, že obecně podporuje lázeňskou léčbu onkologických pacientů v rámci platných indikací. Preference léčby v těch či oněch lázních je věcí indikací, kvality nabízených služeb a aktuální spokojenosti pacientů.
12. Výbor ČOS byl osloven Českým svazem žen, nadace Žena a je připraven ke spolupráci, budou-li dohodnuty konkrétní prospěšné body.
13. Ministerstvo informatiky oznámilo, že příští rok vyjde poštovní známka s onkologickou problematikou, což výbor vítá jako jednu z veřejných podpor onkologickému programu.
14. Předsedové ČOS prof. Vorlíček a SROBF doc. Petera požádali ministra zdravotnictví dr. Ratha již 15.2.06 o pracovní schůzku, na níž by společně vysvětlili své záměry v účelné integraci onkologické péče.
15. Výbor ČOS se jednomyslně shodl, aby vědecký sekretář prof. Žaloudík podal prezidentovi ČLS JEP prof. Blahošovi návrh na udělení letošní Purkyňovy ceny ČLS předsedovi ČOS prof. Vorlíčkovi.
16. Výbor s potěšením přijal návrh prof. Vyzuly, ředitele MOÚ, aby na letošních XXX. Brněnských onkologických dnech bylo 5 nejlepších posterů mladých odborníků do 30 let oceněno částkami po 10 000,- Kč. Výběr zajistí zvolená komise ve složení Finek, Petera, Petruželka, Cwiertka, Vyzula a výsledky budou oznámeny v závěru prvního dne konání BOD 11.5.06 na večerním setkání.
17. Výbor projednal přihlášky a přijal do ČOS tyto nové členy: Vydlák (Praha), Babjuk (Praha), Koubová (Praha), Loudová (Hradec Králové), Váňová (Beroun), Kubecová (Praha), Kawaciuk (Praha), Jarolím (Praha)