

SARKOMY MĚKKÝCH TKÁNÍ - PŘEHLED NOVĚJŠÍCH DIAGNOSTICKÝCH A LÉČEBNÝCH POSTUPŮ

SOFT-TISSUE SARCOMAS: AN OVERVIEW OF THE NEWER DIAGNOSTIC AND THERAPEUTIC APPROACHES

J.ŽALOUDEK, R.TALACH, V.VAGUNDA, M.HAJDÚCH, P.JANÍČEK, O.COUFAL, M.ONDRÁK, I.KOCÁK, R.VYZULA

UNIVERZITNÍ ONKOLOGICKÉ CENTRUM BRNO : CHIRURGICKÁ KLINIKA FN BRNO-BOHUNICE,
ORTOPEDICKÁ KLINIKA FN U SV. ANNY, ODDĚLENÍ KLINICKÉ ONKOLOGIE FN BRNO-BOHUNICE
MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV BRNO, LABORATOŘ EXPERIMENTÁLNÍ MEDICÍNY FN OLOMOUC

Souhrn: Přehledná práce shrnuje hlavní morfologické a subcelulární parametry pro diferenciální diagnostiku, stratifikaci a prognostiku sarkomů měkkých tkání. Chirurgické metody léčby jsou nahlíženy především z hlediska svých limitací a potřeby kombinovaných postupů, včetně použití některých méně obvyklých přístupů jako jsou intersticiální brachytherapie a předoperační intraarteriální chemoterapie, případně individualizace chemoterapie podle prediktivních testů blíže charakterizujících vlastnosti daného sarkomu.

Klíčová slova: sarkomy měkkých tkání, subcelulární diagnostika, kombinovaná léčba

Summary: Principal morphological and subcellular parameters for differential diagnosis, stratification and prognostication of soft-tissue sarcomas are reviewed. Surgical methods are envisaged in their limitations and weak points in order to stress the need for combined therapeutic approaches. Pre-operative intraarterial chemotherapy, interstitial brachytherapy and individualized chemotherapy based on predictive testing may represent few newer approaches to enhance still rather low effectivity of the treatment of soft-tissue sarcomas.

Key words: soft-tissue sarcoma, subcellular diagnostics, combined therapy

Úvod

Sarkomy měkkých tkání jako nádory mesenchymálního původu nejsou v onkologické praxi ve srovnání s epitelialními nádory časté, vždy jsou však vnímány jako onemocnění velmi závažné, nezřídka provázené diagnostickými a terapeutickými rozpaky. Především býváme znovu a znovu překvapováni primárním nádorem značné velikosti a lokální pokročilosti, diagnostickým prodlžením způsobeným až již vinou pacienta samotného, lékaře prvního kontaktu, který na tuto diagnózu nemyslí, nebo skrytou lokalizací a asymptomatickým průběhem nádorové choroby. I na klinických pracovištích trvá někdy diagnostika zbytečně dlouho nebo je primární operace neadekvátní a zakládá již od počátku podmínky pro recidivu onemocnění. Nemocný s recidivou, či spíše residuem nádoru, zjištěným krátce po primární operaci, se může pokládat za poškozeného stejně jako ten, který absolvoval rozsáhlou mutilující operaci, třeba amputaci končetiny, a krátce poté je mu zjištěna plicní diseminace nádorového onemocnění. Diagnostika i léčba sarkomů měkkých tkání prodělává v posledních letech celou řadu změn směrem k cílenějším individualizovaným přístupům.

Morfologická klasifikace

Sarkomy měkkých tkání jsou morfologicky velmi pestrou paletou maligních nádorů vycházejících z mesenchymálních, především pojivových tkání. Podle klasifikace WHO jsou děleny do zhruba 40 morfologických jednotek a dále v podskupinách do více než 80 histopatologických entit (1,2). Zvláště mezi patology přetrvává tendence dále v sarkomech rozlišovat nové podjednotky a již beztak široké spektrum dále dělit podle nově morfologicky

definovaných detailů (3-11). Protože však jde o nádory s relativně nízkou incidencí, mají jak klinici tak patologové mimo vysoce specializovaná pracoviště jen málo příležitostí nabytí dostatek zkušeností s celým tímto spektrem nádorů jak z hlediska diferenciálně diagnostického, tak především prognostického a terapeutického. Není v praxi reálné srovnávat účinnost léčebných alternativ ve vztahu k tolika histopatologickým typům a podtypům a podrobná klasifikace se tak stává poněkud samoučelnou. Léčebné postupy nejsou u sarkomů měkkých tkání vedeny ani tak histotypem, nýbrž spíše stupněm malignity vyjádřeném histopatologickým gradingem (3,12,13).

Řešení pro klinika málo přehledné situace je spíše v opačném, tedy integrujícím přístupu, podobném jaký byl použit u maligních lymfomů. Po několika klasifikacích lymfomů se dospělo v klasifikaci nazvané Working Formulation pro klinické účely k praktickému dělení na lymfomy o vysokém (high-grade) a nízkém (low-grade) stupni malignity, kterým odpovídá také odlišná léčebná strategie. Navíc toto jednoduché dělení poskytlo nové, biologicky zajímavé, avšak i klinicky užitečné poznatky. Lymfomy s nízkým stupněm malignity hůře odpovídají na léčbu cytostatiky a jsou paradoxně hůře léčitelné než lymfomy s vysokým stupněm malignity. Tyto závěry klasifikačního zjednodušení nikterak nemění ani nejnovější podrobná klasifikace REAL, stavějící již na objektivnější fenotypizaci se zařazením CD markerů (14). Je zapotřebí, aby podobným procesem prošla i klasifikace sarkomů měkkých tkání.

Sarkomy měkkých tkání přitom již v současné klasifikaci zohledňují nejen anatomický rozsah a velikost nádoru, nýbrž i jeho grading (histopatologický stupeň malignity) jako paramet

určující stadium onemocnění, což je u solidních nádorů výjimečně progresivní přístup. Plnému využití tohoto parametru však brání skutečnost, že grading je v praxi uváděn v patologickém popisu pouze u poloviny případů a zčásti je tento popis zatížen chybou subjektivní nebo také objektivní při vysoké heterogenitě subpopulací v nádoru (15). O průběhu onemocnění zřejmě rozhodují subpopulace s nejvyšší malignitou, které však mohou být i minoritní a unikat běžnému histopatologickému hodnocení omezeného počtu preparátů připravených z obvykle objemných nádorů. Histopatologický grading koreluje s intervalem bez známek onemocnění i celkovou dobou přežití (6,13,16,17). Nevíme dosud s jistotou zda grading nádoru disponuje k vyšší či nižší účinnosti radioterapie nebo chemoterapie. Je ovšem nepravděpodobné, že by sebelepší parametr dosáhl sám o sobě potřebné prediktivní síly pro individualizaci léčby a obešel se bez dalších znaků nutných pro aplikace klinicky relevantní multivariační analýzy na jednotlivé klinické případy.

Na požadavku standardizovaného stanovení histotypu i gradingu sarkomu měkkých tkání je nutno trvat jako na základních podmínkách jejich klasifikace, avšak s vědomím jejich limitací a možných nepřesností i chyb, které přináší každé subjektivní hodnocení fenotypu (18). Ve skandinávské studii komisionální revize histopatologických diagnóz sarkomů měkkých tkání byla při týmovém přehlednutí preparátů přehodnocena plná třetina případů a v 5 % diagnóza maligního tumoru dokonce změněna na benigní (19).

Molekulární patologie v diferenciální diagnostice sarkomů měkkých tkání

Informace získávané cytogenetickými s a molekulárními metodami se zatím v diagnostice sarkomů měkkých tkání uplatňují pouze v upřesňování standardní morfologické klasifikace, tedy nikoli v kvalitativně novém členění sarkomů jak by se logicky nabízelo (20). Z metodického hlediska jsou zatím používány pro diferenciální diagnostiku ponejvíce imunohistochemie a standardní karyotypové analýzy, nověji pak in situ hybridizace pro detekci amplifikace či delece jednotlivých genů, RT-PCR pro detekci transkriptů mRNA a kvantitativní metody cytometrické obrazové analýzy DNA nebo exprese specifických proteinů (21). Značný kvalitativní posun lze brzy očekávat od aplikací komparativní genomové hybridizace v genových DNA mikročipech, které zohlední nejen hlavní změny v panelu klíčových genů jako nový způsob charakterizace jednotlivých histotypů, nýbrž i rozdíly mezi různými morfologickými stupni malignity, primárními nádory, rekurencemi a metastázami. Současná onkologie pracuje pouze s několika parametry a obvykle nezkoumá váhu jednotlivých znaků v prediktivních modelech. Multifaktoriální hodnocení vyžaduje kromě laboratorního zajištění také zájem i propracovanou biostatistickou mnohorozměrnou analýzu dat. Bez ní by pouhé přidávání dalších parametrů v budoucnu mohlo být nečitelné a samoúčelné.

V současné morfologické klasifikaci sarkomů měkkých tkání existují především následující diferenciálně diagnostické problémy, které pomáhá řešit imunohistochemie (22) a ještě účinněji cytogenetická detekce specifických translokací (20,23,24).

a) Diferenciální diagnostika sarkomů z malých kulatých buněk
Jde především o odlišení Ewingova sarkomu (ES) a periferního neuroektodermálního tumoru (PNET), případně dalších nádorů z malých okrouhlých buněk jako jsou desmoplastický malobuněčný nádor a rhabdomyosarkom. Skupina ES/PNET je charakterizována především pozitivitou antigenu CD99 (20). Desmoplastický malobuněčný nádor exprimuje epitelální markery cytokeratiny, svalové proteiny jako je desmin i neurální marker neuron specifickou enolázu. Jsou však známy i nezařaditelné typy s pozitivitou CD99 a negativitou cytokeratinů jako je například abdominální nádor z modrých buněk u dětí. Celou tuto skupinu je proto lépe charakterizovat specifickými cytogenetickými alteracemi. V 85 % případů se vyskytuje translokace t(11;22)(q24;q12), což je historicky první translokace popsaná u solidních nádorů (25). Tato translokace vede k juxtapozici genů EWS chromosomu 22 a genu FLI-1 chromosomu 11. Podle umístění juxtapozice v rámci

jednotlivých intronů a exonů lze rozlišit asi 9 typů chimerických EWS/FLI-1 transkriptů. K dalším méně častým translokacím skupiny ES/PNET patří t(21;22)(q22;q12) se vznikem chimerického genu EWS/ERC nebo translokace t(7;22)(p22;q12) s fúzí genů EWS a ETV1 (26). Alveolární sarkomy jsou v 90 % nositeli translokace t(2;13)(q35;q14) (27). Tato translokace vede k zlomu genu PAX3 na chromosomu 2 a jeho juxtapozici do oblasti vlivu dosud málo probádaného transkripčního faktoru FKHR (ALV) na chromosomu 13. PAX3 je součástí fylogeneticky konzervovaného homeoboxu transkripčních faktorů (28). Na rozdíl od alveolárních rhabdomyosarkomů tuto specifickou translokaci postrádají rhabdomyosarkomy embryonální, které zase charakterizuje delece části chromosomu 11 (29).

Popsány jsou však i nádory nesoucí cytogenetické znaky jak alveolárního tak embryonálního rhabdomyosarkomu, ovšem s přítomností již zmíněné translokace typické pro celou skupinu ES/PNET t(11;22)(q24;q12) (30). Malobuněčný desmoplastický tumor s predilekcí výskytu u mladých mužů, který se vyznačuje rychlým šířením po serozách, je charakterizován specifickou translokací t(11;22)(p13;q12), již dochází ke vzniku fúzního produktu EWS/WF1 (31). Ačkoli specifické translokace se ve skupině malobuněčných sarkomů vyskytují ve vysokém procentu případů, není tato specifita absolutní. Typická translokace skupiny ES/PNET t(11;22)(q24;q12) byla totiž nalezena také u některých polyfenotypických sarkomů (32).

b) Odlišení synoviálního sarkomu od ostatních vřetenobuněčných sarkomů

Mezi synoviální sarkomy lze rozlišit méně častou bifazickou variantu s přítomností vřetenitých i epiteloidních buněk a častější výhradně vřetenobuněčný monofazický typ. Společně jsou synoviosarkomy charakterizovány translokací t(X;18)(p11;q11) přítomnou v 90 % případů (33). Klonování této translokace vedlo k objevu dvou nových genů s dosud neznámou funkcí SSX na Xp11 a SYT na 18q11 (34). Bifazické synoviosarkomy obvykle nepředstavují diagnostický problém. Naproti tomu častější monofazické synoviosarkomy mohou být snadno zaměněny za jiné vřetenobuněčné typy sarkomů jako jsou fibrosarkomy, leiomyosarkomy nebo maligní schwannomy. Ani imunohistologické rozlišení není často možné. Navíc málo diferencovaný kulatobuněčný synoviosarkom může být neodlišitelný od kulatobuněčných nádorů skupiny ES/PNET, včetně pozitivitu antigenu CD99. Užitečný tedy může být cytogenetický průkaz specifické translokace t(X;18)(p11;q11) metodou FISH. Tato metoda tak é pomohla odhalit nádory s charakteristikami synoviosarkomu v tak netypických lokalizacích jako jsou srdce a plíce (35,36).

c) Diferenciální diagnostika myxoidních sarkomů

Pro tuto skupinu je charakteristická přítomnost myxoidní mezibuněčné matrix, kterou lze ovšem nalézt u řady různých typů sarkomů. Typické cytogenetické změny korelující s přítomností myxoidní matrix jsou definovány jako translokace t(12;16)(q13;p11) u myxoidního liposarkomu, která fúzuje gen CHOP chromosomu 11 s genem TLS chromosomu 16 (37), a translokace t(9;22)(p22;q12) u extraskelálního myxoidního chondrosarkomu, již se účastní opět již zmíněný gen EWS (38). Gen EWS zde fúzuje s genem CHN, který patří do superrodiny genů pro receptory steroidních a thyreoidních hormonů. Vzácný agresivní angiomyxom, který se vyskytuje převážně v oblasti pánve, nese rovněž specifickou translokaci 12q12-15 (39).

d) Další chromosomální a molekulární aberace mesenchymálních nádorů s diagnostickým významem

Typické chromosomální delece jsou nalézány u mesoteliomu, který je tak možno i z cytopunkce odlišit od reaktivních mesotelálních buněk (40). Jde především o delece del(1p), del(3p) a del(22q) a spolehlivě se zde může uplatnit metoda FISH (21). Obtížné může být odlišení sarkomů ze světlých buněk a metastáz epiteloidního maligního melanomu v měkkých tkáních. V těchto případech je možno využít detekce translokace

t(12;22)(q13;q12), typické pro sarkomy (41). Zvláštní kategorií mesenchymálních nádorů představují poměrně časté stromální sarkomy digestivního traktu. Molekulárně jsou charakterizovány mutací onkogenu c-kit kódujícího receptor pro tyrosin kinázu, delecí 14q a expresí antigenu CD34, který je společný jak fibroblastoidním buňkám stromálních sarkomů tak kmenovým hematopoetickým buňkám (42-44). Heterogenita cytogenetických znaků a jejich neúplná specifita ve vazbě na histotyp znovu podtrhuje předpoklad, že další klasifikační drolení sarkomů by pokračovalo i při zařazení cytogenetických parametrů. Proto je třeba hledat spíše integrující znaky, které by dokázaly sarkomy měkkých tkání řadit do několika málo skupin podle klinicky relevantních charakteristik (rychle a pomalu rostoucí, rychle a pomalu metastazující, citlivé

Tabulka 1: Přehled známých histotypově specifických translokací sarkomů měkkých tkání (podle Singera 1999)

Histotyp	Translokace	Fúzní produkt
Ewingův sarkom / PNET	t(11,22)(q24;q12) t(21,22)(q12;q22) t(7,22)(p22;q12)	EWS-FL11 EWS-ERG EWS-ETV1
Synoviální sarkom	t(x,18)(p11;q11)	SYT-SSX
Desmoplastický malobuněčný sarkom	t(11,22)(q13;q12)	EWS-WT1
Myxoidní/ kulatobuněčný liposarkom	t(12,16)(q13;p11) t(12,22)(q13;q11-12)	CHOP-TLS CHOP-EWS
Alveolární rhabdomyosarkom	t(2,13)(q35-37;q14) t(1,13)(p36;q14)	PAX3-FKHR PAX7-FKHR
Sarkom z jasných buněk	t(12,22)(q13-14;q12-13)	EWS-ATF1
Dermatofibrosarkom	t(17,22)(q22;q13)	PDGFB-COL1A1
Myxoidní chondrosarkom	t(9,22)(q31;q12)	EWS-TEC

a rezistentní k danému typu léčby).

Molekulární prognostické a prediktivní faktory

Prognostickými označujeme faktory předpovídající průběh onemocnění, prediktivními pak znaky předpovídající pravděpodobnou odpověď nádoru na určitý typ léčby. Oba pojmy bývají někdy zaměňovány nebo mylně interpretovány, proto na terminologickou stránku upozorňujeme již v úvodu odstavce. Standardními prognostickými faktory sarkomů měkkých tkání klinicko-patologického hodnocení jsou stadium, histopatologický grading, histotyp, velikost nádoru, jeho lokalizace a kvalita primární operace (2,4,17,45-49). V multivariální analýze se ukázaly být nejvýznamnější faktory pro dosažení úplnosti resekce, respektive nezávislémi indikátory rizika lokální recidivy, kategorie T z TNM klasifikace, lokalizace nádoru a přítomnost nekrózy v nádoru před léčbou (50). Velikost nádoru ovlivňuje především riziko lokálních recidiv, zatímco histologický grading koreluje s intervalem do výskytu metastáz a celkovým přežíváním nemocných (16). Protože jsou však zhoubné nádory především „onemocněním DNA“ s dysregulací molekulárních mechanismů, je další pokrok v diagnostice a léčbě nádorů závislý především na posunu v poznání na molekulární a buněčné úrovni. Nejdále se používání molekulárně biologických prognostických markerů u solidních nádorů zatím dostalo v prognostice neuroblastomů, kde je využíváno průkazu ztráty heterozygoty krátkého raménka chromosomu 1 a amplifikace onkogenu N-myc, obvykle metodou FISH (28,55). Takovéto vymezení prognostických molekulárních markerů není zatím u sarkomů měkkých tkání chybí.

Snad nejdále se v tomto směru dostalo použití hrubé analýzy obsahu DNA flow cytometrií, respektive DNA ploidity. DNA aneuploidní sarkomy dospělého věku mají horší prognózu (51,52). Například v podskupině sarkomů ze světlých buněk byly výsledky u nádorů s aneuploidním DNA profilem horší až osmkrát (53). K podobným závěrům o horší prognóze DNA aneuploidních sarkomů došla také u sarkomů s vysokým gradingem skandinávská studie a další u retroperitoneálních

sarkomu bez zohlednění gradingu (54). Jiné práce však takto významný unifaktoriální přínos DNA ploidity zpochybňují (56). Naše vlastní výsledky ukazují, že prognostický význam DNA ploidity je v univariální analýze nevýznamný. Kategorizace sarkomů podle obsahu DNA na diploidní a aneuploidní však ve vícefaktorové analýze zvýrazňuje prognostický význam celé řady parametrů jako jsou mitotická aktivita, exprese p53, bcl2, Pgp nebo úroveň apoptózy právě v některé kategorii s vyšším či nižším stupněm genomové instability vyjádřeným DNA ploiditou (57).

Určitou záhadou je dosud obrácený vztah mezi DNA ploiditou a prognózou u některých nádorů dětského věku ve srovnání s homologními malignitami dospělých. Dětské rhabdomyosarkomy, podobně jako dětské neuroblastomy mají horší prognózu jsou-li DNA diploidní (58). Detailní analýza genotypických rozdílů mezi sarkomy dětského a dospělého věku ve vztahu k jejich různému chování a různé citlivosti k léčbě dosud v literatuře víceméně chybí. Snad jediná publikovaná práce srovnávající rozdíly v kinetických parametrech sarkomů dětského a dospělého věku dochází k zajímavým závěrům, jejichž validita je však omezena velmi malým souborem (59). Podle této studie je poměr proliferace a apoptózy (tedy dělení a zániku buněk) sarkomů dětského a dospělého věku obrácený. U dětí činil tento poměr 0,4+0,15/6,6+0,8 %, zatímco u dospělých 15,9+3,7/0,5+0,08 %, což lze vyjádřit průměrnými proliferace-apoptotickými indexy 0.06 u dětí versus 4,3 u dospělých. K podobným závěrům o disociaci mitózy a apoptózy u sarkomů dospělého věku ve srovnání ze zachovanou úrovní apoptózy a nižší mitotickou aktivitou u dětských sarkomů jsme však došli recentně i v naší dosud nepublikované studii srovnávající 40 sarkomů dospělého a 21 sarkomů dětského věku napříč histotypy (57). Relativně zachovalá schopnost apoptózy u dětských nádorů ve srovnání s dospělými by mohla být interpretována jako důvod vyšší chemosenzitivity dětských nádorů a chemorezistence nádorů dospělých. Tato hypotéza, jakkoli zní logicky, však vyžaduje teprve důkladného ověření standardizovanými metodami detekce proliferace i apoptózy. Je také nutno lépe pochopit vztah mezi proliferací a apoptózou. Při analýze proliferace-apoptotických parametrů metodou hlavních komponent jsme v našem souboru našli disociaci mitotické aktivity a úrovně apoptózy pouze u dospělých, zatímco u dětských sarkomů jsou oba parametry v úzké korelaci (57).

Významným regulátorem buněčného cyklu je produkt supresorového genu p53, který zajišťuje, aby do buněčného cyklu nevstupovaly buňky s defektní DNA. Při jeho mutaci nebo inaktivaci interferujícími produkty onkogenu jako mdm2, nebo virovými proteiny dochází k neregulované replikaci buněk s defektní DNA a tedy i k snížení účinnosti chemoterapie a radioterapie (60). U chondrosarkomů jde dysfunkce proteinu p53 především na vrub exprese blokujícího onkoproteinu mdm2 (61). U sarkomů měkkých tkání byla nalezena rovněž přímá korelace dysfunkčního p53 s horšími léčebnými výsledky i vyšší malignitou neléčených nádorů (62). Již méně je známo, že p53 je také účinným inhibítozem angiogeneze. Jedním z předpokládaných účinků genové terapie směřující k restituci funkce p53 bude tedy rovněž blokáda angiogeneze a tedy konverze maligních buněk z proliferujícího do dormantního stavu jak již bylo experimentálně prokázáno u myšího fibrosarkomu (63).

I fyziologický protein p53 však může být inaktivován produktem onkogenu mdm2. Tato dysfunkční interakce P53/MDM-2 je zároveň spojena se zvýšenou produkcí vaskulárního endoteliálního růstového faktoru VEGF a přispívá k neoangiogeneze u velké části zhoubných nádorů. Může být ovšem i sama o sobě zúčastněna v mechanismech maligní transformace endoteliálních buněk jak bylo zjištěno u angiosarkomů, kde až v 80% případů zvýšená produkce proteinu MDM2 koreluje s dysfunkcí a overexpresí proteinu P53 a nadprodukcí VEGF (64).

Prognosticky nepříznivou hodnotu má u sarkomů také amplifikace onkogenu c-myc (65). Nepodařilo se dosud nalézt korelaci mezi metastatickým potenciálem sarkomů a expresí

specifických genů s předpokládaným vztahem k metastazováním jakým je například gen nm23 (66).

V současné době jsou v popředí pozornosti spíše faktory regulující novotvorbu cév v nádoru, která je základní podmínkou pro jeho makroskopický růst a progresi onemocnění, včetně zakládání hematogenních metastáz. Sarkomy měkkých tkání patří k dobře vaskularizovaným nádorům a jejich lokální růst do obvykle značných rozměrů je nesporně na neoangiogenezi vysoce dependentní (67). Bylo zjištěno, že charakteristiky neoangiogeneze sarkomů a karcinomů jsou výrazně odlišné. Zatímco u epitelálních nádorů se novotvořené kapiláry shlukují ve stromatu a nádor má tak vaskularizovanou a avaskulární dvoukompartimentovou strukturu, jsou kapiláry v sarkomech rozmístěny zcela homogenně mezi nádorovými buňkami a nádor má tak z hlediska cévního zásobení jednotnou monokompartimentovou strukturu (68). Rozdíl v denzitě kapilár a expresi vaskulárního endoteliálního růstového faktoru (VEGF) mezi sarkomovou a karcinomovou složkou jsou popsány u děložního karcinosarkomu. Jak hustota kapilár, tak produkce VEGF, byly signifikantně vyšší v epitelální karcinomové složce než v sarkomové subpopulaci, což pravděpodobně souvisí s vyšším metastazováním karcinomové komponenty tohoto bifázického nádoru (69).

Dalším faktorem je účast krevní koagulace a krevních destiček ve stimulaci nádorové neoangiogeneze (70). Na jedné straně bylo prokázáno, že koagulační faktory jsou v nitru nádorů aktivovány a růstové faktory destiček jako je PDGF (platelet-derived growth factor) k angiogenezi výrazně přispívají, na druhé straně lze nikoli vzácná pozorování vývoje sarkomu v místě rozsáhlejších nebo opakovaných kontuzí měkkých tkání vysvětlit i promočním účinkem produktů déle se hojícího hematomu v terénu již stigmatizovaném vrozenými nebo získanými genovými alteracemi.

VEGF je jedním z nejsilnějších inductorů angiogeneze a mitogenu endoteliálních buněk. Z experimentů na modelu fibrosarkomu vyplývá, že působí především v časných fázích nádorového růstu na periferii dosud jen difuzí živého nádorového mikroložiska a kromě stimulace endoteliálních buněk také blokuje apoptózu nádorových buněk (71). Produkce VEGF je regulována celou řadou onkoproteinů a anti-onkoproteinů. Jak již bylo uvedeno výše, například ztráta regulační schopnosti a dysfunkce již zmíněného anti-onkoproteinu p53 mutací nebo inaktivací jiným proteinem působí na produkci VEGF stimulačně a napomáhá i touto cestou progresi nádoru (64). Na druhé straně řada farmakologických inhibitorů angiogeneze, které postupně pronikají do klinických aplikací, redukuje metastazování nejen snížením cévní novotvorby, nýbrž také zprostředkovaně zvýšením apoptózy migrujících nádorových buněk (63,72). Nízkomolekulární inhibitor receptoru 2 pro VEGF nazvaný SU5416 redukoval růst nádorových xenotransplantátů neurogenních sarkomů až na polovinu (73). V této inhibici angiogenetických účinků VEGF jsou již využívány také specifické monoklonální protilátky (74,75). Angiogenezi stimuluje pochopitelně i řada dalších růstových faktorů, například bazický fibroblastický růstový faktor bFGF (76).

Jako indikátorů denzity kapilár v nádoru a stupně nádorové angiogeneze je však užíváno markerů endoteliálních, antigenu CD31 a faktoru VIII, avšak nejčastěji markeru CD34. Imunohistologické vyšetření diferenciačního antigenu CD34 dává poměrně nepřehlednější, dobře rozlišující barvení endotelií, a stává se oblíbeným standardem pro takzvaný vaskulární grading nádorů (77). Není bez zajímavosti, že pomocí markeru CD34 byly identifikovány i cirkulující endoteliální buňky. Předpokládalo se, že jde o endotelie uvolněné z kapilár. Protože však tyto cirkulující buňky exprimují jak receptor 2 VEGF, který je přítomen na endoteliích formovaných kapilár, tak i marker hemopoetických kmenových buněk AC133, pokládá se nově za prokázané, že jde o primitivní mesenchymální endoteliální prekursor (78). Není však dosud jasné, zda tyto cirkulující kmenové buňky endotelu hrají také roli v nádorové neoangiogenezi.

Podle Chiby koreluje denzita novotvořených kapilár dobře s overexpresí p53, což je v souladu s již uvedenou účastí

dysfunkčního p53 v neoangiogenezi, a také inverzní korelace s apoptózou podporuje představu o nádorové vaskularizaci jako nepříznivém prognostickém faktoru (79). Nedořešena zůstává především standardizovaná kvantifikace nálezů označených endotelií. Je známa korelace stupně oxygenace, proliferací a citlivosti chemoterapii (80). Není však dosud jasné, zda morfologické hodnocení stupně vaskularizace znamená automaticky také vyšší stupeň oxygenace a může být tedy potenciálním prediktorem odpovědi sarkomů k radioterapii.

Klinicky velmi perspektivní oblastí je detekce stupně vaskularizace v sarkomech, ovšem i jiných nádorech, pomocí ultrazvukové techniky Power-Doppler nebo dynamickou kontrastní magnetickou resonancí (DCE MRI, dynamic contrast-enhanced magnetic resonance) (81,82). Tyto metody hodnotí na rozdíl od morfologických mikroskopických vyšetření nikoli pouze hustotu cév v nádoru, ale skutečný krevní průtok nádorem. Toto funkční hodnocení je cennější, protože bylo prokázáno, že řada imunohistochemicky nalezených kapilár je nezralých, neprůchodných a nepřispívá ve skutečnosti k cévnímu zásobení nádoru a jeho oxygenaci.

Bylo prokázáno, že sarkomové buňky dovedou efektivně tlumit případnou protinádorovou imunitní reakci infiltrujících lymfocytů expresí Fas ligandu, který interakcí s Fas receptorem (CD95) lymfocytů v nich indukuje apoptózu (83). Samotná exprese Fas ligandu sarkomovými buňkami však ještě nemusí znamenat funkčnost Fas receptorem mediované cesty spouštění apoptózy jak ukazuje u Ewingova sarkomu ve své práci Koutný (84). Již dříve však byla pozorována relativní absence lymfocytárního infiltrátu v sarkomech měkkých tkání spojená také s negativitou antigenů hlavního histokompatibilního komplexu MHC v nádorových buňkách, které jsou nezbytné pro rozpoznání nádorových buněk lymfocyty i jejich případnou cytotoxickou aktivitu (85,86).

Samostatnou kapitolou v predikci léčebného efektu je predikce chemoresistence a chemosenzitivity sarkomů měkkých tkání. Nepřímými markery volně asociovanými s chemoresistencí jsou znaky se vztahem k nádorové cytokineticé jako je proliferací index, mitotická aktivita, ovšem i zvýšená exprese jednotlivých regulatorů cyklu jako je cyklinu D1. Například fibrosarkomy se zvýšenou expresí cyklinu D1 zároveň zvýšeně exprimují dihydrofolátreduktázu (DHFR) a jsou tudíž resistantní k methotrexátu (87). Podobně volně asociovanými biomarkery jsou znaky zvýšené instability genomu jako DNA profil nebo geny reparace DNA. U sarkomů měkkých tkání však v souvislosti chemoterapií zůstávají prakticky neprostudovány. Kusuzaki (88) pozoroval odpověď na chemoterapii u osteosarkomů, jejich flowcytometrický DNA profil se změnil z aneuploidního na diploidní, zatímco DNA progredujících nádorů zůstal nezměněn. Nepřímým markerem chemoresistence je aktivita P-glykoproteinové membránové pumpy, respektive exprese produktu MDR1 genu Pgp (p170) (89). Korelace lze však hledat pouze pro cytostatika s větší komplexní molekulou, která jsou tímto systémem z buněk odstraňována jako jsou antracykliny, taxany nebo inhibitory topoizomeráz. Aktivita glykoproteinové detoxikační pumpy Pgp dobře koreluje u chondrosarkomů s gradingem (90). U chemoresistentních rhabdomyosarkomů byla naopak zjištěna inverzní korelace exprese Pgp a některých onkogenů ovlivňujících proliferaci a diferenciaci jako je c-myc (91). U buněčných linií rhabdomyosarkomu se zvýšenou expresí P-glykoproteinu se podařilo podařilo zvýšit citlivost na původně málo účinný vincristin, doxorubicin a etoposid chemosenzibilizátory interferujícími s P-glykoproteinovou pumpou verapamilem nebo cyklosporinem (92). Přímé testování chemoresistence, respektive chemosenzitivity v primokulturách sarkomových explantátů je zkoušeno v různých modifikacích od šedesátých let (99-101).

Nebyl dosud klinicky využit potenciál isotopového zobrazení clearance Tc99-MIGI nádorovým ložiskem, která patrně dobře odráží funkci detoxikační pumpy nádorových buněk vcelku, aniž by bylo nutno ji vyšetřovat morfologicky na mikroskopické úrovni (93).

Jak proliferací-apoptotický index, DNA profil, tak i významné

regulační geny (p53, bcl-2, myc), indikátory angiogeneze a metastatického potenciálu, testy chemoresistence, i faktory nádorové imunosuprese, jsou potenciálně klinicky využitelnými prognostickými a prediktivními biomarkery sarkomů měkkých tkání. Posouvají naše současné, převážně patologicko-anatomické poznání do oblasti patofyziologické, která nabízí více možností pro efektivnější využití stávajících léčebných metod i vyvíjení nových terapeutických postupů. Perspektivu však mají především kombinace biomarkerů, které byly ověřeny jako independentní v multivariační analýze a to v kontextu s klinicko-patologickou klasifikací, kterou by měly v dohledné době doplňovat. Levine (98) například zjistil, že americká varianta klinicko-patologické klasifikace AJCC sarkomů měkkých tkání dosáhne značně vyšší prognostické síly, je-li doplněna o flow cytometrické vyšetření DNA profilu, proliferační aktivitu protilátky proti antigenu Ki67 a exprese produktu MDR1 genu polychemoresistence Pgp (p170) v nádorech imunohistochemicky.

Přestože studii aplikujících jednotlivé biomarkery pro diagnostiku i predikci léčebného efektu u sarkomů měkkých tkání postupně přibývá, chybí dosud komplexněji pojaté analýzy většího počtu parametrů - pokusem stratifikovat sarkomy do několika skupin podle markatních cyklokinetických a cytogenetických rozdílů, které by implikovat i odlišné léčebné postupy. Samotný histologický grading zjevně pro tuto stratifikaci nestačí, je příliš subjektivní, vyžaduje zkušenost obtížně u vzácnějších nádorů získatelnou v krátké době nebo na jednom pracovišti, v histologických vyšetřeních je rutinně stanovován jen v polovině případů, má prognostickou, nikoli prediktivní hodnotu a ve skutečnosti se jeho aplikace na zlepšení léčebných výsledků příliš neprojevila.

Léčebné možnosti u sarkomů měkkých tkání.

Základem léčby sarkomů měkkých tkání zůstává chirurgický výkon. K radikální operaci by mělo být v současné době přistupováno výhradně plánovitě se znalostí nálezu počítačové tomografie a angiografie, které ozřejmí typ růstu sarkomu (expanzivní, infiltrativní), jeho vztahů k okolním strukturám a možnosti zachování dostatečného lemu zdravé tkáně při resekci i zdroje a vydatnosti cévního zásobení.

Součástí předoperačního vyšetření by měla být také histologická verifikace a identifikace typu sarkomu tru-cut (core) biopsií. Probaturní excise vhodné nejsou, dosažení nádoru nemusí být snadné, hrozí implantace nádorových buněk zincidovaného nádoru v operačním poli, u cévnatých nádorů je biopsie spojena s nepříjemným krvácením, navíc otevření kapsuly sarkomu i pooperační infiltrát a jizvení často ztěžují následnou radikální operaci. Tru-cut biopsie je obvykle reprezentativnější pro nádor jako celek včetně míry nekrotizace v centru než excise odebraná s velkou částí reaktivní fibrosní reakce na okraji nádoru (102). Tenkojehlová aspirace pro cytologické vyšetření je u sarkomů měkkých tkání pro typizaci nespolehlivá, vyžaduje hodnocení zkušeným specialistou a lze ji snad využít pouze pro základní odlišení maligního a benigního ložiska (103).

Předoperační biopsie slouží především k průkazu maligního nádoru, zároveň však také pro zjištění histotypu, gradingu a dalších parametrů s prognostickým významem, podle nichž lze volit léčebnou taktiku. Dostí zásadně se proto liší indikace předoperační biopsie u sarkomů končetinových, lokalizovaných ve stěně břišní či hrudní a sarkomů retroperitonea, případně vnitřních orgánů. U končetinových sarkomů s podezřením na sarkom podle CT, sonografie a angiografie by tru-cut biopsie měla být provedena vždy, neměli bychom se spoléhat na to, že ložisko bude nejprve odstraněno a verifikováno dodatečně z resekovaného tumoru (104). Kromě rozsahu nádoru může i typ sarkomu přispět k volbě rozsahu operace od prosté exstirpace přes kompartmentovou resekci až po amputační výkon. Sarkomy hrudní nebo břišní stěny obvykle více operačních alternativ nenabízejí, rozsah výkonu se však může lišit, jde-li o liposarkom nebo maligní fibrosní histiocytom již proto, že rekonstrukční fáze výkonu nemusí být snadná a předoperační histologický náález může přispět k adekvátnímu rozsahu resekce. Histologická verifikace sarkomů retroperitonea

a vnitřních orgánů před operací je indikována pouze relativně, může být obtížná nebo i riziková u vysoce vaskularizovaných ložisek. Navíc upřesnění histotypu a gradingu obvykle neovlivní operační možnosti, které jsou limitovány spíše aktuálními anatomickými vztahy nádoru.

Od původně převažujících amputačních výkonů pro sarkomy končetin se těžiště operací přesunulo ke končetině zachovávajícím výkonům, ať již jde o blokové kompartmentové resekce muskulofasciálních anatomických celků nebo exstirpaci nádoru s dostatečným lemem zdravé tkáně. Nejsou vyloučeny ani rekonstrukční výkony na cévách či skeletu, jsou-li z hlediska zachování onkologické radikality smysluplné a mohou-li zamezit mutilujícím následkům operace (105).

Na druhé straně nemají rekonstrukční výkony jen technické hranice. Vždy by měly být zvažovány s ohledem na pravděpodobnost dosažení dobrého funkčního i onkologického výsledku a také s dokonalou znalostí moderních protetických možností. Právě u končetinových lokalizací sarkomů se nejvíce osvědčuje užší součinnost chirurgů s ortopedy, případně cévními a plastickými chirurgy.

Sarkomy měkkých tkání metastazují do lymfatických uzlin nepoměrně méně často než nádory vycházející z epitelálních tkání. Četnost metastazování sarkomů do uzlin se udává do 15%. Přesto je nutno na možnost uzlinových metastáz myslet, zvláště v případech kdy zvažujeme amputační výkon. Při pochybnostech klinického, sonografického, CT nebo lymfografického vyšetření je jistější provést disekci axily nebo inguiny a náález histologicky ověřit. Při zjevných metastázách je plně indikovaná standardní exenterace axily nebo inguiny. V případě inguinálních metastáz je vždy třeba ověřit také retroperitoneální ilické uzliny v rozsahu ilioinguinální disekce. Postižení ilických uzlin obvykle na inguinální navazuje, je diskretnější, hůře vyšetřitelné, při zanedbání a nezvládnutelné progresi však prakticky neléčitelné a spojené s těžkou symptomatologií cévních a lymfatických blokády.

Resekce sarkomů hrudní a břišní stěny je obvykle spojena s rekonstrukčními problémy, nezřídka je nutno využít lalokových plastik nebo umělého materiálu (105). Resekce sarkomů retroperitonea a pánve mají svá specifika případ od případu a patří k obtížným a špatně plánovatelným výkonům jak břišní chirurgie tak urologie. Často vyžadují resekci přilehlého orgánu, případně rekonstrukci kontinuity digestivního nebo močového traktu. Cévnaté formy sarkomů s venosními pletenými houbovitého charakteru mohou při preparaci způsobit velmi obtížné stavitelné krvácení, především ve fázi, kdy objemný nádor nelze ještě odstranit a jeho masa brání v přístupu k vyživujícím cévám. Novotvořené cévy sarkomů mají stěnu křehkou, defektní a nádorovou tkáň prostupují spíše jako sinusoidy než jako plnohodnotné cévní řečiště. Také ohraničené a méně vaskularizované sarkomy mohou představovat vážný problém, jsou-li lokalizovány v radixu mesenteria a ohrožuje-li jejich resekce cévní výživu střevních kliček.

Zajištění lůžka po resekci sarkomu pooperační radioterapií je doporučovaným postupem u sarkomů s nižším stupněm diferenciací, nádorů infiltrativně rostoucích a při nejistotě o radikalitě operace nebo kontaminaci lůžka nádorovými buňkami (106, 107). Je vhodné, vyznačí-li chirurg nejvíce rizikovou oblast v lůžku nádoru po resekci kovovými svorkami, podle nichž lze radioterapii účinněji cílit. Problematické může být po-operační ozáření lůžka nádoru právě u sarkomů retroperitonea, pánve a dutiny břišní. Sarkomy patří k nádorům vysoce radioresistentním. Jejich účinná léčba zářením vyžaduje aplikovat vysoké dávky, které mohou bezprostředně nebo následnými změnami poškodit přilehlé struktury, zvláště střevo, močovody, žlučové cesty a podobně. Následná postradiační fibrosní reakce v důsledku vysoké lokální dávky záření často ztěžuje nejen detekci, ale zejména reoperaci případných lokálních recidiv, které jsou u sarkomů dosti časté.

Novější metodou lokálního zajištění operované oblasti je intersticiální brachyradioterapie, kterou lze snadno uplatnit u končetinových a nástěnných, nikoli však u nitrobřišních lokalizací sarkomů (108,109). Lůžkem nádoru jsou na způsob Redonových

drénů peroperačně protaženy speciální katetry na jednom konci zatavené ve vzdálenosti asi 15 mm od sebe, vykrývající celou oblast s potřebnou prostorovou geometrií, které jsou po uzavření rány fixovány ve své pozici navlečenými plastovými kroužky. Za 4-5 dnů po operaci je po výpočtu potřebné dávky zahájeno ozařování iridiovými zrny zaváděnými na vypočtenou dobu instalovanými katetry do rány metodou afterloadingu. Ozařování je prováděno obvykle dvakrát denně po dobu 7-8 dní, poté jsou katetry odstraněny. V dosud takto ozařovaných 9 případech jsme nepozorovali žádné závažnější komplikace a zatím ani výskyt recidivy sarkomu v ozařovaném lůžku, i když doba sledování je pro celkové zhodnocení zatím nedostatečná.

Intersticiální brachyterapie je poměrně zavedenou metodou po resekci sarkomů v dětské onkologii, kde má především odvrátit nutnost amputací končetin u pokročilejších sarkomů (110,111). Ojedinelé byl jako zdroj pro brachyterapii úspěšně použit také neutronový zářič californium 252 (112). Dobrý lokální efekt byl zaznamenán také při kombinaci brachyradioterapie a standardní teleradioterapie (113). U sarkomů měkkých tkání dospělých závisí rozvoj aplikací brachyterapie především na soustředění pacientů s touto diagnózou do center vybavených afterloadingem, avšak zejména funkční spolupráci chirurgů či ortopedů a radioterapeutů přímo na operačním sále, respektive již při plánování taktiky léčby (114). Podobně je i intraoperační teleradioterapie prováděna jen výjimečně na speciálně vybavených pracovištích (115).

Z dalších lokálních pomocných metod lze připomenout také kryochirurgickou destrukci neresekabilních ložisek, ať již pro paliaci nezvládnutelného exofytu nebo i jako peroperační doplnění operace v oblasti, kde resekce již není možná nebo hrozí poškozením velkých cév či nervů. Kryodestrukce může být nenáročnou a účinnou paliací, na zevním exofytu ji lze provádět bez znečistlivění, dobře staví difusní kapilární krvácení. V peroperačním použití je výhodou, že nepoškozuje stěnu velkých cév ani v případě, je-li zavzata přímo do sférického úseku zmrazené tkáně (iceballu). Neporoučuje ani nervové pochvy, takže axony v nich vedené mohou snadno regenerovat a nervový defekt může být pouze přechodný. Na druhé straně je však účinek standardních u nás užívaných kryochirurgických přístrojů limitován objemem tkáně pouze asi 3 cm do hloubky, výkony lze však při zevních aplikacích po odloučení nekrozy opakovat. Vpichové vícečetné kryody novějších kryochirurgických aparatur jsou schopny zajistit zmrazení i podstatně větších objemů tkáně, nejsou však mimo nádory jater a prostaty zatím širěji využívány.

Použití jiných koagulačních technik jako jsou elektrokoagulace, radiofrekvenční koagulace nebo laserová koagulační a evaporace není dosud u sarkomů měkkých tkání rozpracováno již proto, že nejsou-li tyto nádory soustředěny na specializovaném pracovišti, chybí obvykle také širší zkušenosti s indikací speciálních metod.

Systémová pooperační chemoterapie sarkomů je zjevně v neselektovaném podání nedostatečně účinná. Meta-analýza studií adjuvantní chemoterapie sice prokázala její přínos pro zlepšení výsledků dvouletého i pětiletého celkového přežití, kritéria ani režimy však nejsou dosud standardizovány. Je to obtížné také s ohledem na vysokou heterogenitu jak histogenetického, tak lokalizačního spektra těchto nádorů. Obecně převládá souhlas s indikací adjuvantní chemoterapie u sarkomů málo diferencovaných a infiltrativně rostoucích (116).

Zlepšení výsledků by snad mohla přinést chemoterapie stratifikovaná do skupin podle prediktorů chemorezistence. Známým, nicméně dosud málo využívaným nepřímým markerem chemorezistence vůči cytostatikům s velkou molekulou jako jsou antracykliny, inhibitory topoizomeráz, taxany a vinca alkaloidy, je aktivace transmembránové detoxikační pumpy reprezentované expresí produktu MDR genu P-glykoproteinu (p170) (117). Chemorezistenci sarkomů lze však predikovat také s využitím moderních isotopových vyšetření in vivo jako je 99mTc-MIBI scintigrafie (118). Radiofarmakum hexakis (2-methoxyisobutylisonitrile) technecium (Tc-MIBI) se v nádorech akumuluje a jeho eliminace z nádoru závisí na aktivitě P-glykoproteinové pumpy (119). Při dynamickém vyšetření

eliminace Tc-MIBI z nádoru byla prokázána dobrá korelace s odpovědí na léčbu antracykliny (93,118).

Další možností predikce efektu chemoterapie je aplikace přímých MTT testů chemorezistence in vitro v primokulturách jak je u nás zavedl pro klinický výzkum Hajdúch. Z jeho výsledků u našich 22 pacientů se sarkomy měkkých tkání vyplývá vysoký stupeň rezistence in vitro k doxorubicinu (80%), který je u sarkomů měkkých tkání nejčastěji klinicky užívaným cytostatikem. Naopak nízká rezistence pro aktinomycin D (0%), topotecan (0%), bleomycin (25%), cisplatinu (35%) ukazuje na potřebu individualizovaného přístupu na rozdíl od dosavadní paušalizace léčebných režimů (57). V experimentech i klinické praxi se již objevily zprávy odpovídající uvedeným výsledkům a poukazující například na dobré výsledky topotecanu (116, 120, 121, 122) nebo cisplatinu (124) u sarkomů. Je také potvrzována dobrá korelace mezi chemorezistencí in vitro a odpovědí in vivo (125). V naší skupině bylo 17 z 22 sarkomů citlivých alespoň na jedno testované cytostatikum, nicméně 5 (23%) vykazovalo polychemorezistenci na všechna testovaná cytostatika (57).

Předoperační regionální intraarteriální chemoterapie, která je proveditelná pouze u sarkomů končetin, případně jiných lokalit s definovaným a přístupným arteriálním zdrojem, nabízí jak možnost redukce a devitalizace nádorového ložiska tak i ověření citlivosti k danému cytostatiku in vivo (126-128). Výsledek této léčby zatím neumíme předpovědět z histologických charakteristik nádoru ani z úrovně vaskularizace nádoru. U jedné třetiny jsme ovšem pozorovali určitou regresí, výjimečně až výraznou nekrotizaci nádoru, které částečně ovlivnily i rozsah operačního výkonu. Naše omezené zkušenosti však vycházejí pouze z intraarteriální aplikace doxorubicinu, aniž jsme zkoušeli jiná cytostatika, která se v testech in vitro zdají být i účinnější.

Regionální chemoterapii lze dosáhnout v oblasti nádoru výrazně vyšších koncentrací cytostatika, takže jde vlastně o jakousi formu místně omezené vysokodávkované chemoterapie, která je prostě těžké systémové toxicity známé z celkové vysokodávkované chemoterapie vyžadující podporu hemopoetickými buňkami. Přesto je však do značné míry limitována jako systémová chemoterapie individuální primární nebo sekundární chemorezistencí nádoru (129).

Zlepšených výsledků regionální chemoterapie končetinových sarkomů doxorubicinem bylo dosaženo izolovanou hypertermickou perfuzí zvyšující teplotu v tumoru během působení cytostatik až na 40,5 st. C (126). Snaha kombinovat předoperační intrarteriální chemoterapii s předoperační radioterapií (10 x 3,5 Gy) sice umožnila vyhnout se amputaci až v 90% případů, byla však následována značnou morbiditou což poněkud znehodnocuje výsledky záchranných operací (128). V regionálním podání již byla u sarkomů zkoušena také genová terapie aplikací supresorového genu p53 na adenovirovém vektoru (130). U velké části sarkomů je protein p53, označovaný za strážce genomu, mutovaný nebo jinak dysfunkční, což jednak umožňuje vstupovat do cyklu buňkám s alterovaným genomem a jednak brání jejich přirozené eliminaci apoptózou. Tato situace je velmi nepříznivá pro účinky chemoterapie. Nádorové buňky s genomem poškozeným podáními cytostatiky nejen nezanikají, ale mohou generovat i nové agresivnější populace. Regionální podání adenoviru nesoucího funkční gen p53 vychází z představy možné reparace funkce p53 v nádorových buňkách in situ a vytvoření lepších podmínek pro následnou chemoterapii. Perspektivním přístupem se zdá také selektivní regionální aplikace combretastatinu, nového typu anti-angiogenních látek působících rychlé zhroucení cytoskeletu endoteliálních buněk, kolaps a uzávěr cévního řečiště v perfundované oblasti.

Organizační opatření

Je nesporné účelné soustřeďovat malignity s nízkou incidencí, v tomto případě sarkomy měkkých tkání, na pracoviště nebo do péče týmů, které mohou zajistit komplexní přístup a kvalifikované rozhodování, dále zkvalitňované průběžně rozvíjenou zkušeností celé kooperující skupiny odborníků. V brněnském regionu pracuje taková skupina již celá desetiletí. Vznikla zásluhou již zesnulého doc.Bozděcha při I.ortopedické klinice FN u sv. Anny v úzké součinnosti s onkology prim. Mechlem a prim. Konečným z

Onkologického ústavu na Žlutém kopci. V posledních dvou letech doznala pod vedením doc. Janíčka z I. ortopedické kliniky rozšíření, zintenzivnila svou činnost a kromě ortopedů, chemoterapeutů, radioterapeutů, všeobecných a hrudních chirurgů se na její práci podílejí také patologové, radiodiagnostici a dětské onkologové prakticky ze všech brněnských onkologických a onkochirurgických pracovišť. Indikační komise se schází každé 3 – 4 týdny a i přes relativně nízkou incidenci sarkomů ve srovnání s ostatními maligními nádory je na každé schůzce řešeno kolem dvaceti až třiceti případů odesílaných prakticky z celé Moravy. Dalším nezbytným krokem takto koncipované kooperace v počítačovém věku je přechod na parametrický onkologický záznam jak je navržen na internetových stránkách Univerzitého onkologického centra pod názvem SOR2000 (smart oncological record), aby zkušenosti mohly být zpracovány a vyhodnocovány v zájmu optimalizace léčby a zlepšování jejich výsledků. To je ostatně vlastním smyslem existence a práce onkologických kooperativních skupin. Dalším nezbytným úkolem kooperativní skupiny je přispívat k řešení kontroverzí, nejasností a indikací nově zaváděných metod, které se na diagnostické i terapeutické úrovni vyskytují, a právě tomuto cíli má přispět i následující přehled.

Závěr

Zatím bohužel platí, že o celkové léčebné taktice u nemocných se sarkomy měkkých tkání rozhodují nejvíce lokální podmínky, zkušenosti a možnosti pracovišť, a relativně méně celková koncepce léčby těchto závažných onemocnění, která by byla vedena prognostickými parametry a prediktory léčebného efektu, a využívala celého spektra léčebných možností. Podobně jako u jiných onkologických diagnóz zatím chybí jednotný parametrický onkologický záznam, který by umožňoval hodnotit léčebné výsledky a srovnávat různé postupy. Sarkomy měkkých tkání jsou relativně méně časté a umožňují soustředění do několika komplexně vybavených center, jejichž příkladem může být činnost brněnské skupiny pracovišť pro diagnostiku a léčbu sarkomů měkkých tkání soustředěných v rámci Univerzitého onkologického centra (<http://www.uoc.muni.cz>).

Zejména pokrok v oblastech subcelulární diagnostiky a analýzy výsledků léčby je náročnějším i naléhavějším úkolem než nahodilá a nesystémová aplikace dílčích terapeutických novinek.

Práce byla podpořena granty IGA MZ CR NM14-3 a MSMT CR J07/98-141100003.

Literatura:

- Weiss SW, Sobin LH.: Histological typing of soft tissue tumours. 2nd edition: WHO International Classification of Tumours. Springer Verlag, Berlin, Germany 1994
- Trojani M, Contesso G, Coindre JM et al.: Soft tissue sarcomas of adults: study of pathological prognostic variables and definition of a histopatho
- Angervall L, Kindblom LG, Merck C.: Myxofibrosarcoma, a study of 30 cases, *Acta Pathol Microbiol Scand(A)*, 85, 1977, 127-140
- Angervall L, Kindblom LG, Rydholm A et al.: The diagnosis and prognosis of soft tissue tumors. *Semin Diagn Pathol*, 3, 1986, 240-258
- Brooks JJ: The significance of double phenotypic pattern markers in human sarcomas. A new model of mesenchymal differentiation. *Am J Pathol*, 125, 1986, 113-123
- Costa MJ, Weiss SW.: Angiomatoid malignant fibrous histiocytoma. A follow-up study of 108 cases with evaluation of possible histologic predictors of outcome. *Am J Surg*, 14, 1990, 1126-1132
- Fletcher CDM.: Pleomorphic malignant fibrous histiocytoma: fact or fiction? A critical reappraisal based on 159 tumors diagnosed as pleomorphic sarcomas. *Am J Surg Pathol*, 16, 1992, 213-228
- Meis JM: „Dedifferentiation“ in bone and soft tissue tumors: a histological indicator of tumor progression. In: *Pathol Annual 1991, Part I* (eds.: Rosen PP and Fechner RE) Appelton and Lange, Norwalk 1991, 37-62
- Meis JM, Enzinger FM: Chondroid lipoma: a unique tumor simulating liposarcoma and myxoid chondrosarcoma. *Am J Surg Pathol*, 17, 1993, 1103-1112
- Santa Cruz DJ, Kyriakos M.: Aneurysmal fibrous histiocytoma of the skin. *Cancer*, 47, 1981, 2053-2061
- Weiss SW, Enzinger FM.: Myxoid variant of malignant fibrous histiocytoma. 39, 1977, 1672-1689.
- Costa J, Wesley RA, Glatstein E et al.: The grading of soft tissue sarcomas: results of a clinicohistopathological correlation in a series of 163 cases. *Cancer*, 53, 1984, 530-541
- Guillou L, Coindre JM, Bonichon F et al.: Comparative study of the National Cancer Institute and French Federation of Cancer Centers Sarcoma Group grading system in a population of 410 adult patients with soft tissue sarcoma. *J Clin Oncol*, 15, 1997, 350-362
- Adam Z, Doubek M, Mayer J, Vorlíček J: REAL klasifikace maligních lymfoproliferativních nemocí, jejich imunofenotypické znaky a klinická charakteristika. *Klinická onkologie*, 11, 1998, Suppl., 2-16
- Coindre JM, Trojani M, Contesso G.: Reproducibility of a histopathologic grading system for adult soft tissue sarcoma. *Cancer*, 58, 1986, 306-309
- Cany L, Stoeckle E, Coindre JM et al.: Prognostic factors in superficial adult soft tissue sarcomas: analysis of a series of 105 patients. *J Surg Oncol*, 71, 1999, 4-9
- Singer S, Corson JM, Gonin R et al.: Prognostic factors predictive of survival and local recurrence for extremity soft tissue sarcoma. *Am Surg*, 219, 1994, 165-173
- Association of directors of anatomic and surgical pathology: Recommendation for reporting soft tissue sarcomas. *Am J Clin Pathol*, 111, 1999, 594-598
- Meis-Kindblom JM, Bjerkehaug B, Böhling T et al.: Morphologic review of 1000 soft tissue sarcomas from the Scandinavian Sarcoma Group Register. *Acta Orthop Scand (Suppl 285)*, 70, 1999, 18-26
- Busam KJ, Fletcher CDM.: The clinical role of molecular genetics in soft tissue tumor pathology. *Cancer Meta Rev*, 16, 1997, 207-227
- Xiao S, Renshaw A, Cibas ES et al.: Novel fluorescence in situ hybridisation approaches to solid tumors. *Am J Pathol*, 147, 1995, 896-904
- Talati A, Pervaz S: Soft tissue sarcomas: pattern diagnosis or entity. *JPM A J Pak Med Assoc*, 48, 1998, 272-275
- Singer S: New diagnostic modalities in soft tissue sarcoma. *Semin Surg Oncol*, 17, 1999, 11-22
- Dockhorn-Dworniczak B, Schafer KL, Blasius S et al.: Assessment of molecular genetic detection of chromosome translocations in the differential diagnosis of pediatric sarcomas. *Klin Padiatr* 209, 1997, 156-164
- Aurias A, Rimbaut C, Buffe D et al.: Translocation involving chromosome 22 in Ewing's sarcoma: a cytogenetic study of four fresh tumors. *Cancer Genet Cytogenet*, 12, 1984, 21-29
- Jeon IS, Davis JN, Braun BS et al.: A variant Ewing's sarcoma translocation(7;22) fuses the EWS gene to the ETS and ETV1. *Oncogene*, 10, 1995, 1229-1234
- Noguera R: Cytogenetics and tissue culture of small round cell tumors of bone and soft tissue. *Semin Diagn Pathol*, 13, 1996, 171-183
- Shapiro DN, Sublett JE, Li B et al.: Fusion of PAX3 to a member of the forkhead family of transcription factors in human alveolar rhabdomyosarcoma. *Cancer Research*, 53, 1993, 5108-5112
- Scrabble H, Witte D, Shimada H et al.: Molecular differential pathology of rhabdomyosarcoma. *Genes Chrom Cancer*, 1, 1989, 23-35
- Thorner P, Squire J, Chilton-MacNeill S et al.: Is the EWS/FLI-1 fusion transcript specific for Ewing's and peripheral primitive neuroectodermal tumor? *Am J Pathol*, 148, 1996, 1125-1138
- Biegel JA, Conrad K, Brooks JJ: Translocation (11;22)(p13;q12): primary change in intraabdominal desmoplastic small round cell tumor. *Genes Chromosome Cancer* 7, 1993, 119-121
- Argatoff LH, O'Connell LX, Mathers JA et al.: Detection of EWS/WT1 gene fusion by reverse transcriptase-polymerase chain reaction in the diagnosis of desmoplastic small round cell tumor. *Am J Surg Pathol*, 20, 1996, 406-412
- Limon J, Mrozek K, Mandahl A et al.: Cytogenetics of synovial sarcoma: presentation of ten cases and review of the literature. *Genes Chromosome Cancer*, 3, 1991, 338-345
- Clark J, Rocques PJ, Crew AJ et al.: Identification of novel genes SYT a SSX involved in t(X;18)(p11.2;q 11.2) translocation found in human synovial sarcoma. *Nat Genet*, 7, 1994, 502-508
- Iyengar V, Linenberger AS, Kerman S et al.: Synovial sarcoma of the heart. Correlation with cytogenetic findings. *Arch Pathol Lab Med*, 119, 1995, 1080-1082
- Roberts CA, Seemayer TA, Neff JR et al.: Translocation (X;18) in primary synovial sarcoma of the lung. *Cancer Genet Cytogenet*, 88, 1996, 49-52
- Crozat A, Aman P, Mandahl A et al.: Fusion of CHOP to a novel RNA-binding protein in myxoid liposarcoma. *Nature* 363, 1993, 640-644
- Enzinger FM, Shiraki M: Extraskletal myxoid chondrosarcoma. An analysis of 34 cases. *Huma Pathol* 3, 1972, 421-435
- Bernitzke S, Van de Ven W, Bullerdiek J: Cytogenetic and molecular analysis of aggressive angiosarcoma. *Am J Pathol*, 147, 1995, 580-585
- Granados R, Cibas ES, Fletcher JA.: Cytogenetic analysis of effusions from malignant mesothelioma. A diagnostic adjunct to cytology. *Acta Cytol*, 38, 1994, 711-717
- Bridge JA, Seekantaiah C, Neff R et al.: Cytogenetic findings in clear cell sarcoma of tendons and aponeuroses. Malignant melanoma of soft parts. *Cancer Genet Cytogenet*, 52, 1991, 101-106
- El-Rifai W, Sarlomo-Rikala M, Miettinen M, Knuutila S, Andersson LC: DNA copy number losses in chromosome 14: an early change in gastrointestinal stromal tumors. *Cancer Res* 56, 1996, 3230-3233
- Katenkamp D, Mentzel T, Kosmehl H: CD34 detection—an immunohistochemical contribution to differential diagnosis of soft tissue tumors. *Pathologie* 17, 1996, 195-201
- Hirota S, Isozaki K, Moriyama Y et al.: Gain-of-function mutations of c-kit in human gastrointestinal stromal tumors. *Science* 279, 1998, 577-580
- Plaat BEC, Muntinghe FLH, Molenaar WM et al.: Clinical outcome of patients with previously untreated soft tissue sarcomas in relation to tumor grade, DNA ploidy and karyotype. *Int.J.Cancer (Pred.Oncol.)*, 74, 1997, 396-402
- Markhede G, Angervall L, Stener B.: A multivariate analysis of the prognosis after surgical treatment of malignant soft tissue tumors. *Cancer*, 49, 1982, 1721-1733
- Heslin MJ, Lewis JJ, Nadler E et al.: Prognostic factors associated with long-term survival for retroperitoneal sarcoma: implications for management. *J Clin Oncol*, 15, 1997, 2832-2839
- Gustafson P: Soft tissue sarcoma: epidemiology and prognosis in 508 patients. *Acta Orthop Scand*, 65, 1994 (Suppl 259) 1-31
- Rydholm A, Rooser B.: Surgical margins for soft tissue sarcoma. *J Bone Joint Surg (Am)*, 69, 1987, 1074-1078
- Sastre-Garau S, Coindre JM, Leroyer A et al.: Predictive factors for complete removal of soft tissue sarcomas: a retrospective analysis in a series of 592 cases. *J Surg Oncol*, 65, 1997, 175-182
- Bauer HK, Kreibitz A, Tribukait B.: DNA content prognostic in soft tissue sarcoma: 102 patients followed for 1-10 years. *Acta Orthop*
- Alho A, Skjeldal S, Melvik JE et al.: The clinical importance of DNA synthesis and aneuploidy in bone and soft tissue tumors. *Anticancer Res* 13, 1993, 2383-2387

53. el-Naggar AK, Garcia GM: Epithelioid sarcoma: flow cytometric study of DNA content and regional DNA heterogeneity. *Cancer*, 74, 1994, 3227-3233
54. Alvegard TA, Berg NO, Baldetrop B et al.: Cellular DNA content and prognosis of high grade soft tissue sarcoma: the Scandinavian Sarcoma Group Experience. *J Clin Pathol*, 8, 1990, 538-547
55. Stock C, Ambros IM, Mann G et al.: Detection of 1p36 deletions in paraffin sections of neuroblastoma tissues. *Genes Chromosom Cancer* 61, 1993, 1-9
56. Calonje E, Fletcher CDM: Immunohistochemistry and DNA flow cytometry in soft tissue sarcomas. *Hematol Oncol Clin North Amer*, 9, 1995, 657-675
57. Žaloudík J et al.: Biomarkery pro optimalizaci léčby sarkomů měkkých tkání. Závěrečná zpráva grantového projektu NM14-3 IGA MZ ČR. Brno 2000
58. Shapiro DN, Parham DM, Douglas EC et al.: Relationship of tumor cell ploidy to histologic subtype and treatment outcome in children and adolescent with unresectable rhabdomyosarcoma. *J Clin Oncol*, 9, 1991, 159-166
59. Kihara S, Nelsen-Cannarek A, Kirsch WM et al.: A comparative study of apoptosis and cell proliferation in infantile and adult fibrosarcomas. *Am J Clin Pathol*, 106, 1996, 493-497
60. Levine AJ: The p53 tumor-suppressor gene. *N Engl J Med*, 326, 1992, 1350-1352
61. Blasenbren S, Baretton GB, Bender C et al.: TP53 gene aberrations in chondromatous neoplasms: correlation with immunohistochemical p53 accumulation and MDM2 expression. *Verh Dtsch Ges Pathol*, 82, 1998, 284-289
62. Drobňák M, Latres E, Pollack D et al.: Prognostic implication of p53 overexpression and high proliferation index of Ki67 in adult soft-tissue sarcomas. *J Natl Cancer Inst*, 86, 1994, 549-554
63. Holmgren L, Jackson G, Arbiser J.: p53 induces angiogenesis-restricted dormancy in a mouse fibrosarcoma. *Oncogene*, 17, 1998, 819-824
64. Zietz, C, Rossle, M, Haas, C et al.: MDM-2 oncoprotein overexpression, p53 gene mutation and VEGF up-regulation in angiosarcomas. *Am J Pathology*, 153, 1998, 1425-1433
65. Barrios C, Castresana JS, Kreicbergs A: Clinicopathologic correlations and short-term prognosis in musculoskeletal sarcoma with c-myc oncogene amplification. *Am J Clin Oncol*, 17, 1994, 273-276
66. Royds JA, Robinson MH, Stephenson TJ, Rees RC, Fisher C: The association between nm23 gene expression and survival in patients with sarcomas. *Br J Cancer* 75, 1997, 1195-1200
67. Hashimoto M, Ohsawa M, Ohnishi A, Naka N, Hirota S, Kitamura Y, Aozasa K: Expression of vascular endothelial growth factor and its receptor mRNA in angiosarcoma. *Lab Invest* 73, 1995, 859-863
68. Tomlinson J, Barsky SH, Nelson S et al.: Different patterns of angiogenesis in sarcomas and carcinomas. *Clin Cancer Res* 5, 1999, 3516-3522
69. Emoto M, Iwasaki H, Ishiguro M et al.: Angiogenesis in carcinosarcomas of the uterus: differences in the microvessel density and expression of vascular endothelial growth factor between the epithelial and mesenchymal elements. *Hum Pathol*, 30, 1999, 1232-1241
70. Verheul HM, Hoekman K, Lupu F et al.: Platelet and coagulation activation with vascular endothelial growth factor generation in soft tissue sarcomas. *Clin Cancer Res* 6, 2000, 166-171
72. Zhang Y, Deng Y, Luther T et al.: Tissue factor controls the balance of angiogenic and antiangiogenic properties of tumor cells in mice. *J Clin Invest* 94, 1994, 1320-1327
71. Mori A, Arii S, Furutani M et al.: Vascular endothelial growth factor-induced tumor angiogenesis and tumorigenicity in relation to metastasis in a HT1080 human fibrosarcoma cell model. *Int J Cancer*, 80, 1999, 738-743
73. Angelov L, Salhia B, Roncari L et al.: Inhibition of angiogenesis by blocking activation of the vascular endothelial growth factor receptor 2 leads to decreased growth of neurogenic sarcomas. *Cancer Research*, 59, 1999, 5536-5541
74. Borgstrom P, Hillan KJ, Sriramarao P, Ferrara A: Complete inhibition of angiogenesis and growth of microtumors by anti-vascular endothelial growth factor neutralizing antibody: novel concepts of angiostatic therapy from intravital videomicroscopy. *Cancer Res* 56, 1996, 4032-4039
75. Presta LG, Chen H, O'Connor SJ, Chisholm V, Meng YG, Krummen L, Winkler M, Ferrara A: Humanization of an anti-vascular endothelial growth factor monoclonal antibody for the therapy of solid tumors and other disorders. *Cancer Res* 1997 Oct 15; 57(20):4593-4599
76. Schweigerer L, Neufeld G, Mergia A et al.: Basic fibroblast growth factor in human rhabdomyosarcoma cells: implications for the proliferation and neovascularization of myoblast-derived tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 74, 1987, 842-846
77. Hansen S, Grabau DA, Sorensen FB et al.: Vascular grading of angiogenesis: prognostic significance in breast cancer. *Br J Cancer*, 82, 2000, 339-347
78. Peichev M, Naiyer AJ, Pereira D et al.: Expression of VEGFR-2 and AC133 by circulating human CD34+ cells identifies a population of functional endothelial precursors. *Blood*, 95, 2000, 952-958
79. Chiba Y, Taniguchi T, Matsuyama K et al.: Tumor angiogenesis, apoptosis, and p53 oncogene in stage I lung adenocarcinoma. *Surg Today* 29, 1999, 1148-1153
80. Nordmark M, Hoyer M, Keller J et al.: The relationship between tumor oxygenation and cell proliferation in human soft tissue sarcomas. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 35, 1996, 701-708
81. Talač R, Horniak J, Žaloudík J et al.: Neinvazivní stanovení perfuze jaterních metastáz kolorektálního karcinomu pomocí Power Dopplera. Miniinvazivní terapie, 3, 1998, 54-58
82. Taylor JS, Tofts PS, Port R et al.: MR imaging of tumor microcirculation: promise for the new millennium. *J Magn Reson Imaging*, 10, 1999, 903-907
83. Lee SH, Jang LL, Lee JY et al.: Immunohistochemical analysis of Fas ligand expression in sarcomas. *APMIS*, 106, 1998, 1035-1040
84. Koutny HU, Lehmbecher MM, Channock SJ et al.: Simultaneous expression of Fas and nonfunctional Fas ligand in Ewing's sarcoma. *Cancer Res*, 58, 1998, 5842-5849
85. Mechtersheimer G, Staudter M, Majdic O, Dorken B, Moldenhauer G, Moller P: Expression of HLA-A,B,C, beta 2-microglobulin (beta2-m), HLA-DR, -DP, -DQ and of HLA-D-associated invariant chain (Ii) in soft-tissue tumors. *Int J Cancer* 46, 1990, 813-823
86. Swanson PE, Wick MR: HLA-DR (Ia-like) reactivity in tumors of bone and soft tissue: an immunohistochemical comparison of monoclonal antibodies LN3 and LK8D3 in routinely processed specimens. *Mod Pathol* 3, 1990, 113-119
87. Hochhauser D, Schnieders B, Ercikan-Abali E et al.: Effect of cyclin D1 overexpression on drug sensitivity in a human fibrosarcoma cell line. *J Natl Cancer Inst*, 88, 1996, 1269-1275
88. Kusuzaki K, Hashiguchi S, Hirata M et al.: Response of DNA ploidy to chemotherapy in primary and metastatic lesions in human osteosarcomas. *Cancer Lett*, 138, 1999, 159-165
89. Nakanishi H, Myoui A, Ochi T et al.: P-glycoprotein expression in soft-tissue sarcomas. *J Cancer Res Clin Oncol*, 123, 1997, 352-356
90. Rosier RN, O'Keefe RJ, Teot LA et al.: P-glycoprotein expression in cartilaginous tumors. *J Surg Oncol*, 65, 1997, 95-105
91. Prados J, Melguizo C, Fernandez A et al.: Inverse expression of mdrl and c-myc genes in a rhabdomyosarcoma cell line resistant to actinomycin D. *J Pathol*, 180, 1996, 85-89
92. Cowie FJ, Pritchard-Jones K, Renshaw J et al.: Multidrug resistance modulation in rhabdomyosarcoma and neuroblastoma cell lines. *Int J Oncol* 12, 1998, 1143-1149
93. Soderlund V, Larsson SA, Bauer HCF et al.: Use of 99m-MIBI scintigraphy in the evaluation of the response of osteosarcoma to chemotherapy. *Eur J Nucl Med*, 24, 1995, 511-515
98. Levine EA, Holzmayer T, Bacus S et al.: Evaluation of newer prognostic markers for adult soft tissue sarcomas. *J Clin Oncol*, 15, 1997, 3249-3257
99. Kern DH, Weisenthal LM: Highly specific prediction of antineoplastic drug resistance with an in vitro assay using suprapharmacologic drug exposures. *J Natl Cancer Inst*, 82, 1990, 582-584
100. Dendy PP, Bozman G, Wheeler TK.: In vitro screening test for human malignant tumors before chemotherapy. *Lancet*, 2, 1970, 68-72
101. Carmichael J, DeGraff WG, Gazdara AF et al.: Evaluation of a tetrazolium-based semiautomated colorimetric assay: assessment of chemosensitivity testing. *Cancer Res*, 47, 1987, 936-942
102. Barth RJ, Merino MJ, Solomon D et al.: A prospective study of the value of core needle and fine needle aspiration in the diagnosis of soft tissue masses. *Surgery*, 112, 1992, 536-543
103. Kilpatrick SE, Geisinger KR: Soft-tissue sarcomas: the usefulness and limitations of fine needle aspiration biopsies (review). *Am J Clin Pathol*, 110, 1998, 50-68
104. Varma DGK: Optimal radiologic imaging of soft tissue sarcomas. *Semin. Surg Oncol*, 17, 1999, 2-10
105. Langstein HN, Robb GL: Reconstructive approaches in soft tissue sarcomas. *Semin Surg Oncol*, 17, 1999, 52-65
106. Wylie JP, O'Sullivan B, Catton C: Contemporary radiotherapy for soft tissue sarcoma. *Semin Surg Oncol*, 17, 1999, 33-46
107. Calais G: Role of radiotherapy in soft tissue sarcoma. *Cancer Radiotherapy* 1, 1997, 457-461
108. Chaudhary AJ, Laskar S, Badhwar R: Interstitial brachytherapy in soft tissue sarcomas. The Tata Memorial Hospital experience. *Strahlenther Onkol*, 174, 1998, 522-528
109. Koizumi M, Inoue T, Yamazaki H et al.: Perioperative fractionated high-dose rate brachytherapy for malignant bone and soft tissue tumors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 43, 1999, 989-993
110. Nag S, Martinez-Monge F, Ruymann F et al.: Innovation in the management of soft tissue sarcomas in infants and young children: high-dose-rate brachytherapy. *J Clin Oncol*, 15, 1997, 3075-3084
111. Nag S, Fernandes PS, Martinez-Monge R et al.: Use of brachytherapy to preserve function in children with soft tissue sarcomas. *Oncology*, 13, 1999, 361-369
112. Fontanesi M, Zalupski M, Chuba P et al.: Californium 252 in the treatment of soft tissue sarcoma. In: Wierzbicki JG (ed.): *Isotope for 21st Century Radiotherapy*, Kluwer Academic Publishers, Netherlands 1997, 203-207
113. O'Connor NJ, Pritchard DJ, Gunderson JJ.: Integration of limb-sparing surgery, brachytherapy and external beam irradiation in the treatment of soft tissue sarcomas. *Clin Orthop Relat Res*, 289, 1993, 73-80
114. Pisters PWT, Harison LB, Leung DHY et al.: Long term results of a prospective random trial of adjuvant brachytherapy in soft tissue sarcoma. *J Clin Oncol*, 14, 1996, 859-868
115. Sindelar WF, Kinsella TJ, Chen PW: Intraoperative radiotherapy in retroperitoneal sarcomas. Final results of a prospective randomized trial. *Arch Surgery*, 128, 1993, 402-410
116. Patel SR, Benjamin RS: New chemotherapeutic strategies for soft tissue sarcomas. *Semin Surg Oncol*, 17, 1999, 47-51
117. Hoffmann J, Schmidt-Peter P, Hansch W, Naundorf H et al.: Anticancer drug sensitivity and expression of multidrug resistance markers in early passage human sarcomas. *Clin Cancer Res*, 5, 1999, 2198-2204
118. Fujii H, Nakamura K, Kubo A et al.: 99mTc-MIBI scintigraphy as an indicator of the chemosensitivity of anthracyclines in patients with breast cancer. *Anticancer Res*, 18, 1998, 4601-4605
119. Caner B, Kitapci M, Aras T et al.: Increased accumulation of hexakis (2-methoxyisobutylisonitrile) technetium in osteosarcoma and its metastatic lymph nodes. *J Nucl Med*, 32, 1991, 1977-1978
120. Van Oosterom AT, Verweij J: New drugs for the treatment of sarcomas. *Hematol Oncol Clin North Amer*, 9, 1995, 909-925
121. Bramwell VH, Eisenhauer EA, Blackstein M et al.: Phase II study of topotecan in patients with recurrent metastatic soft tissue sarcoma. *Ann Oncol*, 6, 1995, 847-849
122. Thompson J, George EO, Poquette CA et al.: Synergy of topotecan in combination with vincristine for treatment of pediatric solid tumor xenografts. *Clin Cancer Res* 5, 1999, 3617-3631
123. Seki K, Yoshikawa H, Shiiki K et al.: Cisplatin specifically induces apoptosis via sequential activation of caspase-8, -3 and -6 in osteosarcoma. *Cancer Chemother Pharmacol*, 45, 2000, 199-206
124. Pawlik CA, Houghton PJ, Stewart CF et al.: Effective schedules of exposure of medulloblastoma and rhabdomyosarcoma xenografts to topotecan correlate with in vitro assays. *Clin Cancer Res*, 4, 1998, 1995-2002
126. Rossi CR, Vecchiato A, Foletto M et al.: Phase II study on neoadjuvant hyperthermic-antiblastic perfusion with doxorubicin in patients with intermediate or high grade limb sarcomas. *Cancer*, 73, 1994, 2140-2146
127. Wanebo HJ, Temple WJ, Popp MB et al.: Preoperative regional therapy for extremity sarcoma. A multicenter update. *Cancer*, 75, 1995, 2299-2306
128. Nijhuis PH, Pras E, Sleijfer DT et al.: Long-term results of preoperative intra-arterial doxorubicin combined with neoadjuvant radiotherapy, followed by extensive surgical resection for locally advanced soft tissue sarcomas of the extremities. *Radiother Oncol*, 51, 1999, 15-19
129. Pisters PWT, Patel SR, Varma DGK et al.: Preoperative chemotherapy for stage IIIB extremity soft tissue sarcoma: long-term results from a single institution. *J Clin Oncol*, 15, 1997, 3481-3487
130. Milas M, Feig B, Yu D et al.: Isolated limb perfusion in the sarcoma bearing rat: a novel preclinical gene delivery system. *Clin Cancer Res* 3, 1997, 2197-2204