

VYDÁVÁ  
ČESKÁ  
LÉKAŘSKÁ SPOLEČNOST  
J. E. PURKYNĚ

V NAKLADATELSTVÍ  
ApS BRNO, SPOL. S R. O.

Redakce:  
Masarykův  
onkologický ústav  
Brno

Žlutý kopec č. 7  
656 53 Brno

Sekretář redakce:  
ing. Zdeněk Bouša

Grafická a technická úprava:  
Bohuslav Havlíček

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

Vychází 6krát ročně

Expedici na základě roční objednávky  
vyřizuje redakce

Podávání novinových zásilek  
povoleno Oblastní správou pošt Brno  
čj: P/2-3057/94  
ze dne 6. 9. 1994

F 5158 Mič 46-772  
ISSN 0862-495 X

INTERNET – vstupní adresa:  
<http://www.mou.cz/klinicka.onkologie/onko.htm>

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:

|                 |                |
|-----------------|----------------|
| BEDNAŘÍK OTAKAR | SHEARD MICHAEL |
| MAYER JIŘÍ      | KOCÁK IVO      |
| ČOUPEK PETR     | NĚMEC JAROSLAV |
|                 | ŽALOUdÍK JAN   |

## REDAKČNÍ RADA

|                              |                            |
|------------------------------|----------------------------|
| ADAM ZDENĚK, Brno            | KOVAŘÍK JAN, Brno          |
| BABUŠÍKOVÁ OLGA, Bratislava  | KOZA IVAN, Bratislava      |
| BEDNAŘÍK OTAKAR, Brno        | LAGINOVÁ VIERA, Bratislava |
| BEŠKA FRANTIŠEK, Ostrava     | MAYER JIŘÍ, Brno           |
| BILDER JOSEF, Brno           | MECHL ZDENĚK, Brno         |
| ČOUPEK PETR, Brno            | NĚMEC JAROSLAV, Brno       |
| DRBAL JOSEF, Brno            | ONDRUŠ DALIBOR, Bratislava |
| ECKHARDT SANDOR,<br>Budapešť | PAČOVSKÝ ZDENĚK, Brno      |
| FAIT VUK, Brno               | PLEŠKO IVAN, Bratislava    |
| CHODOUNSKÝ ZDENĚK,<br>Praha  | PETRUŽELKA LUBOŠ, Praha    |
| JURGA LUDOVIT, Trnava        | REJTHAR ALEŠ, Brno         |
| KALLAY JOZEF, Bratislava     | SIRACKÝ JÁN, Bratislava    |
| KAUŠITZ JURAJ, Bratislava    | SPURNÝ VLADIMÍR, Brno      |
| KLASTERSKÝ JAN, Brusel       | UJHÁZY VILIAM, Bratislava  |
| KLENER PAVEL, Praha          | VORLÍČEK JIŘÍ, Brno        |
| KOCÁK IVO, Brno              | VYZULA ROSTISLAV, Brno     |
| KOUTECKÝ JOSEF, Praha        | WAGNEROVÁ MÁRIA, Košice    |
|                              | ŽALOUdÍK JAN, Brno         |

**OBSAH****Přehled**

Adam Z., Mayer J., Hájek R., Vášová I., Vorlíček J.

Terapie mnohočetného myelomu: zhodnocení přínosu vysokodávkované chemoterapie interferonu ALFA a bisfosfonátů ..... 35

Kulhavý M., Zámečník J.

Konformní radioterapie - naděje a současná realita ..... 45

Kozubík A., Hofmanová J.

Význam nenasycených mastných kyselin v rozvoji a chemoprophylaxi nádorů kolorekta ..... 51

Vagunda V., Veselý K., Pochmon D.

Stanovení apoptotického a mitotického indexu u NON-Hodgkin's lymphomas: methodological study ..... 56

**Původní práce**

Vagunda V., Kalabis J., Pochmon D., Petráková K., Koukalová H., Vagundová M., Drbal J., Havráňková L.

Apoptotický a mitotický index u B lymfomů: analýza prognostických faktorů u 53 pacientů se 7letým sledováním ..... 58

Odrážka K., Vaňásek J., Vaculíková M., Zouhar M., Kadečka D.

Konformní versus konvenční radioterapie karcinomu prostaty: dozimetrické porovnání s využitím objemových histogramů ..... 61

**Kazuistika**

Gaja A., Fraňková H., Churý Z., Hejlová N., Soška V.

Některé méně obvyklé formy plazmocyтому ..... 66

**Zpráva**

Maisnar V.

Mnohočetný myelom, Evropská škola hematologie, Paříž 12.-16. září 1998 ..... 70

**Informace**

- rozloučení s Doc. MUDr. Janem KLIMO, CSc. .... 72

- univerzitní onkologické centrum v Brně ..... 44

- Nadační fond Dr. Paula Janssena - vypisuje soutěž o „Hynkovu cenu“ ..... 50

- Děkan lékařské fakulty MU v Brně, vypisuje konkurs na 2 stipendijní místa ..... 55

- informace o XXIII. onkologickém sjezdu v Brně ve dnech 7.-9. 5. 1999 ..... 60

- sdělení redakce - technický doplněk pokynů pro autory ..... 65

**CONTENTS****Review**

Adam Z., Mayer J., Hájek R., Vášová I., Vorlíček J.

Therapy of multiple myeloma: The effect of high-dose chemotherapy, interferon ALPHA and bisphosphonates ..... 35

Kulhavý M., Zámečník J.

Conformal radiotherapy - hope and present reality ..... 45

Kozubík A., Hofmanová J.

The importance of polyunsaturated fatty acids for colon cancer promotion and chemoprophylaxis ..... 51

Vagunda V., Veselý K., Pochmon D.

Assesment of apoptotic and mitotic indices in malignant Non-Hodgkin's lymphomas:

A methodological study ..... 56

**Original papers**

Vagunda V., Kalabis J., Pochmon D., Petráková K., Koukalová H., Vagundová M., Drbal J., Havráňková L.

Apoptotic and mitotic indexes in B lymphomas: Prognostic factor analysis in 53 patients

with 7 year follow - up ..... 58

Odrážka K., Vaňásek J., Vaculíková M., Zouhar M., Kadečka D.

Conformal VS conventional radiotherapy of prostate cancer: Dosimetric comparison using dose-volume histograms ..... 61

**Casuistik**

Gaja A., Fraňková H., Churý Z., Hejlová N., Soška V.

The unusual forms of plasmocytoma ..... 66

**Report**Multiple myeloma, European school of haematology, Paris, 12<sup>th</sup>-16<sup>th</sup> september 1998 ..... 70**Information**

- University oncologic center Brno ..... 44

- Dr. Paul Janssen's fund price for the best publication on the hematologic topic in 1998 ..... 50

- The dean of the Medical Faculty of the Masaryk University in Brno launches a competition for two fellowships ..... 55

- Information on the 23<sup>rd</sup> Brno annual oncology meeting and 20<sup>th</sup> OECl scientific meeting, May 7<sup>th</sup>-9<sup>th</sup> 1999 ..... 60

## TERAPIE MNOHOČETNÉHO MYELOMU: ZHODNOCENÍ PŘÍNOSU VYSOKODÁVKOVANÉ CHEMOTERAPIE, INTERFERONU ALFA A BISFOSFONÁTŮ

## THERAPY OF MULTIPLE MYELOMA: THE EFFECT OF HIGH-DOSE CHEMOTHERAPY, INTERFERON ALPHA AND BISPHOSPHONATES

ADAM Z., MAYER J., HÁJEK R., VÁŠOVÁ I., VORLÍČEK J.

II. INTERNÍ, HEMATOONKOLOGICKÁ KLINIKA FNŠP BRNO, BOHUNICE

**Souhrn:** Medián celkového přežití pacientů s mnohočetným myelomem je 3 roky. Modifikace konvenční chemoterapie zásadně neovlivnila medián přežití. Léčba vysokodávkovanou chemoterapií s autologní transplantací krvetvorné tkáně dosáhla vyššího počtu kompletních remisí a prodloužila celkové přežití. Proto se tento způsob léčby mnohočetného myelomu rychle rozšířil. Následující text shrnuje výsledky klinických studií. Francouzská randomizovaná prospektivní studie a arkansaské studie (srovnání výsledků vysokodávkované chemoterapie s historickou kontrolní skupinou léčenou konvenční chemoterapií) prokazují prodloužení průměrného přežití o 15 a 14 měsíců. V textu jsou dále diskutovány metody vysokodávkované chemoterapie, role interferonu alfa a bisfosfonátů.

**Klíčová slova:** mnohočetný myelom - Autologní transplantace - Interferon alfa - Bisfosfonáty.

**Summary:** The median survival of conventionally treated patients with multiple myeloma is 3 years. Modification of conventional chemotherapy has failed to show an improved survival in most randomized trials. Therapy with dose-escalating alkylating agents induced higher remission rates than conventional treatment. If followed by autologous hematopoietic progenitor cell transplantation, the hematotoxicity of the described dose escalated treatment could be reduced. Results of trials with high dose therapy supported by autologous bone marrow or peripheral blood stem cells are summarized and discussed. The randomized French myeloma trial and the results published by the Arkansas group (comparison of high-dose treated group with historical control group treated with conventional chemotherapy) showed a difference of 15 and 14 months in median survival between conventionally and high-dose treated groups. The method of high-dose chemotherapy as well as the role of interferon alfa and bisphosphonates for patients with multiple myeloma are reviewed.

**Key words:** Multiple myeloma - Autologous transplantation - Interferon alpha - Bisphosphonates.

### 1. Úvod

Mnohočetný myelom je jednou z mnoha lymfoproliferativních nemocí řazených REAL klasifikací do skupiny ne Hodgkinsonských lymfomů. Biologii a léčbu této nemoci bylo v české literatuře věnováno dosti místa, poslední podrobný přehled byl publikován v časopise Vnitřní Lékařství (Ščudla, 1997). Hlavním cílem našeho přehledu je zhodnotit přínos vysokodávkované chemoterapie s podporou autologní transplantace a uvést některá novější data o možnostech udržovací léčby. Text je zaměřen na praxi, předkládá údaje, které mohou pomoci při rozhodování o léčbě konkrétního pacienta. V rámci kompletnosti textu připomeneme v úvodu, před analýzou výše uvedených třech otázek základní principy léčby mnohočetného myelomu

#### 1.1. Kdy začít pacienta léčit?

Mnohočetný myelom, podobně jako jiné lymfoproliferativní nemoci nízkého stupně malignity, je dostupnými prostředky nevyléčitelný. Proto je nutno připomenout, že zahájení chemoterapie není indikováno v počáteční fázi nemoci. Prvopočáteční bezpříznakové období může trvat roky a občas může dojít ke spontánní remisí. Předčasné zahájení chemoterapie by pacientovi neprospělo, spíše naopak. Proto u mnohočetného myelomu (podobně jako u jiných nízké maligních lymfoproliferativních chorob) je chemoterapie indikována, až se nemoc začne projevovat symptomy.

Indikací k zahájení léčby mnohočetného myelomu je stanovení klinického stadia II anebo III dle Durieho a Salmona, viz tabulka 1.

Tabulka 1.

Klinická stadia mnohočetného myelomu dle Durieho a Salmona

|                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|-----------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>I. stadium</b>     | Jsou splněny <u>všechny</u> níže uvedené podmínky:<br>1. Koncentrace hemoglobinu >100 g/l<br>2. Koncentrace Ca do 3 mmol/l<br>3. Normální kostní struktura anebo solitární kostní ložisko plazmocytomu.<br>4. Relativně nízká koncentrace M-Ig:<br>a) M-IgG < 50 g/l<br>b) M-IgA < 30 g/l<br>c) Exkrece lehkých řetězců v moči do 4 g/24 hod. |
| <b>II. stadium</b>    | Nejsou splněny podmínky prvního ani třetího stadia                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| <b>III. stadium</b>   | Je splněna <u>alespoň jedna</u> z následujících podmínek:<br>1. Koncentrace hemoglobinu < 85 g/l<br>2. Zvýšená koncentrace Ca nad 3 mmol/l<br>3. Vícečetná osteolytická ložiska<br>4. Vysoké koncentrace M-Ig:<br>a) M-IgG > 70 g<br>b) M-IgA > 50<br>c) Vyloučení více než 12 g lehkých řetězců močí za 24 hodin                             |
| <b>Subklasifikace</b> | A. Normální funkce ledvin.<br>B. Selhávání ledvin se zvýšenou koncentrací kreatininu                                                                                                                                                                                                                                                          |

Zahajovat léčbu u pacientů v I. klinickém stadiu se doporučuje pouze v případě pravděpodobné časné progresy nemoci. V tabulce 2 uvádíme námi používaná prognostická kritéria pro časnou progresi nemoci u pacientů v klinickém stadiu I.

**Tabulka 2.**  
Rizikové faktory pro časnou progresi I. klinického stadia (Facon, 1995)

|    |                                                                |
|----|----------------------------------------------------------------|
| 1. | Koncentrace hemoglobinu pod 120 g/l                            |
| 2. | Koncentrace M-IgG > 30 g/l anebo koncentrace M-IgA > 25 g/l    |
| 3. | Počet plazmocytů v kostní dřeni > 25 %                         |
|    | Progrese je pravděpodobná, jsou-li splněny dvě ze tří podmínek |

M-IgG = monoklonální imunoglobulin typu IgG  
M-IgA = monoklonální imunoglobulin typu IgA

Až bude objevena léčba s kurativním potenciálem pro pacienty s mnohočetným myelomem, bude vyčkávací přístup u bezpříznakových pacientů opuštěn.

## 1.2. Komplexní terapie mnohočetného myelomu

Léčba mnohočetného myelomu vyžaduje na rozdíl od jiných lymfoproliferativních onemocnění důsledný komplexní přístup, zahrnující cytostatickou terapii, radioterapii, intenzivní podpůrnou léčbu (bisfosfonáty, gamaglobuliny) a ortopedické konzervativní i operační léčení. Léčbu lze provádět převážně ambulantně do té doby, než nastanou závažnější komplikace vyžadující specializované nemocniční léčby. Nyní stručně k významu jednotlivých modalit léčby.

## 1.3 Radioterapie

Radioterapie je nedílnou součástí komplexní léčby mnohočetného myelomu. Takzvaná kurativní dávka, která se pohybuje kolem 30 - 40 Gy, je schopna zničit velké množství myelomových buněk v ozářeném ložisku. Destrukce myelomových buněk znamená snížení stimulace osteoklastů a snížení jejich osteolytické aktivity. Zastaví se tak progresse osteolýzy a nastoupí reparační pochody způsobující mnohdy rentgenově patrnou osteosklerózu a zpevnění kosti. Mimoto má radioterapie svůj vlastní analgetický účinek a to i v nižších dávkách. Se snižováním dávek klesá cytotoxický vliv na myelomové buňky, ale analgetický efekt zůstává zachován. Není-li tedy možné použít takzvanou kurativní dávku, je vhodné alespoň paliativní, analgetické ozáření.

**Co ozařovat?** Pokud je na rentgenovém snímku patrné větší osteolytické ložisko v nosném skeletu, považujeme za vhodné je ozářit, byť by ještě nebylo bolestivé. Cílem je zabránit progresi ložiska a tím patologické fraktury, která by omezila hybnost pacienta. Ložiska mimo nosný skelet ozařujeme, pokud jsou bolestivá. **Kdy ozařovat?** Je-li plánován sběr kmenových hemopoetických buněk, je vhodné radioterapii odložit až po jejich sběru a provést ji ještě před vysokodávkovanou chemoterapií s autologní transplantací. V případě nutnosti provést ozáření ještě před sběrem kmenových hemopoetických buněk z periferní krve, je vhodné použít malého ozařovacího pole. Ozáření větší oblasti, v níž probíhá krvetvorba, zmenší výtěžek sběru kmenových hemopoetických buněk.

## 1.4. Ortopedická léčba

S ortopedem konzultujeme každou patologickou frakturu. V případě komprese obratlů může jedině ortoped rozhodnout, je-li dostačující zevní fixace ortézou, anebo je-li nutné operační zpevnění. Dojde-li k patologické fraktuře končetiny, měla by se vždy upřednostnit vnitřní fixace před zevní, pokud je její provedení technicky možné. Po zhojení operační rány po vnitřní fixaci kosti zpravidla následuje radioterapie na ložisko osteolýzy. Myelomové buňky jsou na ozáření citlivější než osteocyty, takže po ozáření je naděje, že převáží osteoneogeneza nad osteolýzou.

## 1.5. Standardní chemoterapie

Základními léky pro léčbu mnohočetného myelomu jsou alkylační cytostatika a glukokortikoidy. Alkylační cytostatika ničí

myelomové buňky poškozením jejich nukleových kyselin. Glukokortikoidy ničí myelomové buňky indukci jejich apoptotické smrti. Klasickým léčebným postupem, používaným po desetiletí, je perorální monoterapie melfalanem (Alkeran) v obvyklé úhrnné dávce 1 mg/kg váhy rozdělené 5 či 7 dnů s následující měsíční pauzou. K tomu navíc nison 1 - 2 mg/kg po 7 dní. Protože tento standardní postup stále občas používán, připomínáme, že se nesmí opomíjet kontrolovat dvacátý den od podání Alkeranu krevní obraz a příští dávku upravit tak, aby počet leukocytů klesal na hodnoty mezi 2,0 až 1,5 x 10<sup>9</sup>/l. Kontrolní krevní obraz nás buď informuje o biologické aktivitě podané dávky, o její účinnosti či nedostatečnosti a o nutnosti zvýšení anebo snížení perorální dávky Alkeranu v dalším cyklu. Dle míry leukopenie upravovaná dávka se u našich pacientů pohybovala od až do 200 % výše uvedené doporučené dávky (1 mg/kg). Cílem je velmi nekonstantní vstřebávání Alkeranu ze zažívacího traktu.

Od nitrožilní polychemoterapie se očekávalo zásadní prodloužení přežití pacientů s mnohočetným myelomem. V předchozích desetiletích byla v mnoha prospektivních randomizovaných studiích srovnávána různá schémata polychemoterapie se zlatým standardem, za který je považována léčba melfalanem a prednisonem. Zkušenosti z těchto studií lze následovně shrnout: léčebný účinek nitrožilně podávané polychemoterapie nastupuje mnohem rychleji než u perorální monoterapie, nevede však ke statisticky významnému prodloužení přežití.

Gregory se spoluautory provedl metaanalýzu všech publikovaných studií srovnávajících konvenční polychemoterapii s monoterapií alkeranem a prednisonem a vyvodil z ní následující konstatování: „melfalan a prednison je vhodný pro pacienty s dobrou prognózou a naopak nevhodný pro pacienty se špatnou prognózou, pro něž je vhodnější nitrožilní polychemoterapie“ (Gregory, 1992). Z toho se odvíjí doporučení pro standardní léčbu: u pacientů s nepříznivými prognostickými faktory a u pacientů s nepříjemnými příznaky nemoci upřednostnit polychemoterapii před monoterapií. Rychlejší nástup účinku polychemoterapie znamená rychlé zlepšení kvality života. Mimoto agresivní formy jsou monoterapií hůře ovlivnitelné než polychemoterapií. Pokud se zhorší funkce ledvin v důsledku nefrotoxicity lehkých řetězců, je rovněž nutno podat agresivní chemoterapii k co nejrychlejšímu potlačení jejich produkce. Při selhání funkce ledvin používáme obvykle režim VAD (vincristin, adriamycin, dexamethazon), jehož dávky není nutno upravovat v závislosti na funkci ledvin. Je-li pacient asymptomatický a bez negativních prognostických faktorů, je perorální léčba Alkeranem dostatečná, pokud ovšem není pacient směřován k vysokodávkované chemoterapii s podporou autologní transplantace. Klasická chemoterapie prodloužila medián přežití z 1,5 na 3 - 4 roky (Gregory, 1992).

## 2. Vysokodávkovaná chemoterapie s podporou autologní transplantace krvetvorných buněk

Autologní transplantace krvetvorných buněk odstranila prahovou bariéru, která bránila dalšímu zvyšování dávek cytostatik a umožnila zvyšovat jejich dávku až k nové, zatím nepřekročené hranici, kterou je jejich nehematologická (orgánová) toxicita. Přehledy zaměřené na vysokodávkovanou chemoterapii byly již v české literatuře opakovaně publikovány (Mayer a Vorlíček, 1995 a 1997, Koza, 1997).

Po desetiletí klinického zkoušení je vysokodávkovaná chemoterapie s autologní transplantací považována za standardní léčbu pro vhodné pacienty s mnohočetným myelomem. Melfalan, který byl prvním úspěšným lékem pro tuto chorobu a který se stal zlatým standardem, s nímž byly porovnávány jiné způsoby konvenční chemoterapie, neztratil vůbec nic ze své pozice. Monoterapie vysokou dávkou melfalanu 200 mg/m<sup>2</sup> je nejpoužívanější předtransplantační režim. Byly samozřejmě



mě testovány mnohalékové předtransplantační režimy i jejich kombinace s celotělovým ozářením. Kombinované režimy měly však více časných i pozdních nežádoucích účinků. Výsledný léčebný efekt kombinace celotělového ozáření a chemoterapie nebyl vyšší než efekt pouhé chemoterapie, kombinace s celotělovým ozářením však byla výrazně toxičtější (Goldschmidt, 1997). Předtransplantační režim s 200 mg/m<sup>2</sup> je nyní celosvětově považován za nejlépe tolerovaný a nejvhodnější předtransplantační režim pro pacienty s mnohočetným myelomem.

Léčbu mnohočetného myelomu s pomocí vysokodávkované chemoterapie lze rozčlenit na následující fáze:

1. Indukční chemoterapie,
2. Stimulační léčba se sběrem kmenových buněk,
3. Vlastní vysokodávkovaná chemoterapie s podporou autologní transplantace,
4. Udržovací léčba,
5. Léčba relapsu.

V dalším textu se zmíníme o prvních 4 fázích, léčbě relapsu jsme věnovali samostatný článek (Adam, 1998).

## 2.1. Indukční chemoterapie

Cílem indukční chemoterapie je zmenšit myelomovou masu a nepoškodit přitom kmenové hemopoetické buňky a umožnit tak jejich úspěšný sběr.

### 2.1.1. Jaký režim zvolit pro indukční léčbu?

Nečastěji je používán režim VAD, obsahující čtyřdenní kontinuální infúzi adriamycinu (9 mg/m<sup>2</sup>/den) a vincristinu (0,5 mg/m<sup>2</sup>/den) a opakované vysoké dávky dexamethazonu (40 mg 1. až 4., 10. až 13. a 20. až 23. den). Cykly VAD se opakují ve čtyřtydenních intervalech. Výhodou VAD režimu je vysoká účinnost, rychlý nástup účinku, nízká kardiotoxicita kontinuálně podávaného adriamycinu ve srovnání s jeho bolusovou aplikací. Barlogie udává průměrný poločas poklesu M-Ig u chemosenzitivních pacientů léčených chemoterapií VAD 0,9 měsíce s rozmezím 0,3 - 1,6 měsíce (Barlogie, 1984). Dle našich předchozích zkušeností tento režim dosáhl maximálního poklesu M-Ig v průměru po 3,3 měsících (Adam, 1994).

Nevýhodou režimu VAD je kanylace centrální žíly a vše co je s tím spojené, neboť kontinuální infúzi adriamycinu a vincristinu nelze podat do periferní žíly. Režim VAD má však i další slabé stránky. Nezralé klonální buňky produkují interleukin 6, který má antiapoptotický účinek, schopný rušit apoptotický vliv dexamethazonu na tyto buňky. Ničivý účinek chemoterapie VAD působí tedy hlavně na vyzrálé myelomové buňky a méně již na prekursorovou populaci, z níž se vyvíjejí zralé myelomové buňky. Proto, ačkoliv efekt chemoterapie VAD rychle nastupuje a je výrazný, nevedla sama tato léčba k prodloužení přežití ve srovnání s jinými způsoby konvenční léčby (Barlogie, 1997).

Pro komplikace spojené s kanylací centrální žíly holandská lékařská skupina testovala modifikaci chemoterapie VAD s bolusovou aplikací adriamycinu a vincristinu. Konstatovali, že i tento způsob léčby je účinný, i když jejich studie nebyla randomizovaná a měla pouze jedno rameno s bolusovou aplikací (Segeren, 1997). Randomizované srovnání bolusového versus kontinuálního VAD zatím nebylo publikováno. V další plánované klinické studii s vysokodávkovanou chemoterapií plánují holandská lékařská skupina injekční formou chemoterapii VAD (Lokhorst, 1998). V německé studii ze stejného důvodu připouští provedení indukční chemoterapie jak režimem VAD, tak ambulantně aplikovatelným režimem VCAP (vincristin 1 mg i.v. 1. den, doxorubicin 25 mg/m<sup>2</sup> 1. den, cyklofosfamid 100 mg/m<sup>2</sup> p.o. 1. - 4. den a prednison 100 mg 1. až 4. den). Francouzská studie dokonce připouštěla v rámci indukční léčby režimy VMCP-VBAP (vincristin, melfalan, cyklofosfamid, prednison - vincristin BCNU, doxorubicin, prednison). Domníváme se, že případná nepatrně nižší účinnost bolusové formy režimu VAD by při následné vysokodávkované che-

moterapii neměla mít zásadní vliv na výsledek léčby. Proto u pacientů, u nichž je kontinuální podávání VAD spojeno se závažnými komplikacemi, provádíme bolusovou aplikaci.

Z hlediska výtěžku separace kmenových hemopoetických buněk jsou obě modifikace režimu VAD (kontinuální nebo bolusová) jistě z uvedených režimů nejvhodnější. Za přijatelný považujeme i režim VCAP, který obsahuje minimální dávku cyklofosfamidu, nikoliv však jiné režimy s vyšší dávkou alkylačních cytostatik. Z hlediska kvality života je jistě výhodnější režim VID (vincristin, idarubicin, dexamethazon) s perorální aplikací idarubicinu než režim VAD s aplikací do centrální žíly, avšak je značně dražší. Režim VID používají k indukční léčbě před sběrem kmenových buněk například italští autoři (Patriarca, 1998).

### 2.1.2. Kolik cyklů indukční léčby aplikovat?

Optimální počet cyklů indukční chemoterapie není stanoven. Skupina kolem Barlogieho standardně používá 4 VAD režimy, francouzská studie IFM 90 uvádí 4 - 6 cyklů indukční léčby. Multicentrická studie z Heidelbergu doporučuje takový počet cyklů, který dosáhne fáze platu, jejich počet však nesmí přesáhnout 6. Pak teprve následuje sběr kmenových buněk. Určení termínu pro sběr kmenových hemopoetických buněk vychází z teoretických postulátů:

- a) Čím dříve se ke sběru přistoupí (čím menší předlécenost), tím lepší výtěžek sběru z hlediska kvantity a kvality hemopoetických buněk.
- b) Čím menší je redukce masy myelomových buněk, tím větší je myelomová kontaminace koncentráту hemopoetických buněk.

Vycházejíce z těchto postulátů je ve většině studií doporučováno provést sběr kmenových buněk do půl roku od zahájení indukční léčby.

## 2.2. Stimulační chemoterapie a sběr kmenových buněk

K dispozici je hodně stimulačních režimů a jsou i velké variace v dávkách leukocytárních růstových faktorů. Jejich přehled uvádí Demirer, 1996. Nejvíce jsou stále používány u myelomu různé vysoké dávky cyklofosfamidu. Po aplikaci stimulační dávky cyklofosfamidu a růstových faktorů dochází i ke vzestupu počtu myelomových progenitorů v periferní krvi, jejich vzestup je však opožděn o několik dní za vzestupem CD34+ buněk. Optimální je proto provést a dokončit sběr kmenových buněk v prvních dvou dnech po jejich vzestupu (Gazit, 1995). Kmenové hemopoetické buňky lze získat po dostačující dávce leukocytárních růstových faktorů i bez cyklofosfamidu (Bensinger, 1993, Desikan, 1996, 1998). Metodou kvantitativní PCR, bylo však zjištěno, že při podání samotných růstových faktorů obsahoval sběr více myelomových buněk v přepočtu na CD34+ buňky, než při použití kombinace cyklofosfamidu a leukocytárních růstových faktorů (Cremmer, 1998).

Jednorázová vysoká dávka cyklofosfamidu má dobrý stimulační efekt, ale protimyelomový efekt je menší než při rozložení stejné dávky cyklofosfamidu do více dní. Proto zřejmě holandská hemato-onkologická skupina HOVON ve své studii podává dva VAD cykly do periferní žíly, 2 cykly středně vysoké dávky melfalanu (70 mg/m<sup>2</sup>) s podporou leukocytárních růstových faktorů. Po první středně vysoké dávce melfalanu se provede sběr kmenových hemopoetických buněk a poté jsou pacienti randomizováni do větve s autologní transplantací a následnou udržovací léčbou, anebo po druhém středně dávkovaném melfalanu následuje již jen udržovací léčba interferonem alfa. Leukopenie a trombocytopenie trvá po uvedené střední dávce melfalanu kolem 8 dnů (Lokhorst, 1998). Heidelbergské centrum používá pro stimulaci stále monoterapii cyklofosfamidem nebo ifosfamidem, centrum v Tübingen preferuje kombinovaný režim (ifosfamid 2500 mg/m<sup>2</sup> den 1-3, epirubicin 100 mg/m<sup>2</sup> den 1-3 a etoposid 150 mg/m<sup>2</sup> den 1-3.

Autoři z Tübingen tvrdí, že tímto stimulačním režimem dosahují vyšších výtěžků než dříve dosahovali cyklofosfamidem (Straka, ústní sdělení).

Stimulační chemoterapie má tedy dva cíle. Prvním je dosažení maximálního sběru hemopoetických buněk, druhým je redukce myelomových buněk. Který z mnoha stimulačních režimů nejlépe splní tyto cíle, ukáží až další roky.

## 2.3 Vysokodávkovaná chemoterapie s podporou autologních hemopoetických buněk

### 2.3.1. Kdy provést vysokodávkovanou chemoterapii?

Ve většině studií následuje vysokodávkovaná chemoterapie ihned po sběru kmenových hemopoetických buněk. Barlogie v rámci takzvané „total therapy“ vložil mezi stimulační a transplantační léčbu ještě režim EDAP (etoposid, dexamethazon, cytosin-arabinosid a cisplatinu). Tento režim však značně zvýšil toxicitu celého postupu a v současnosti není na tomto pracovišti běžně používán. V některých německých centrech (Heidelberg) vkládají po sběru kmenových buněk při nedostatečné léčebné odpovědi ještě několik cyklů VBMCP (neboli M2 protokol). Cílem je maximální léčebná odpověď dosažitelná klasickou chemoterapií. Pak teprve následuje autotransplantační léčba.

Vysokodávkovanou chemoterapii lze však také odložit až do relapsu po remisi navozené standardní chemoterapií. To dokazuje další francouzská studie srovnávající časné provedení autotransplantační léčby s jejím provedením v relapsu nemoci. Mezi oběma skupinami nebylo signifikantního rozdílu v celkovém přežití (Ferland, 1995). Většina autorů se však snaží již v počátku nemoci dosáhnout maximální léčebnou odpověď a tedy provést vysokodávkovanou chemoterapii brzy po sběru kmenových hemopoetických buněk.

Podat pacientům s nedostatečnou léčebnou odpovědí po sběru kmenových buněk několik cyklů relativně dobře tolerované chemoterapie VBMCP, ještě před vysokodávkovanou chemoterapií, se jeví velmi logické. Podání chemoterapie EDAP před autotransplantací není pro její toxicitu obecně přijato. Musíme konstatovat, že neznáme přesnou odpověď na otázku, jsou-li další cykly standardní chemoterapie, podávané po sběru kmenových buněk ještě před vlastní vysokodávkovanou chemoterapií přínosem, neboť tato otázka nebyla studována prospektivně randomizovaně.

### 2.3.2. Jaké předtransplantační režimy je možno použít a jak velké je riziko autologní transplantace?

Přehled vysokodávkovaných režimů používaných u pacientů s diagnózou myelom i četnost jejich komplikací uvádějí Jagannath, 1997 a Kovacs, 1997. Nejpoužívanější jsou dva režimy, melfalan 200 mg/m<sup>2</sup> anebo melfalan 140 mg/m<sup>2</sup> a celotělové ozáření. Efektivita a tolerance režimů melfalan 200 mg/m<sup>2</sup> versus melfalan 140 mg/m<sup>2</sup> a celotělového ozáření u chemosenzitivních pacientů byla srovnána v randomizované studii. Uvedené režimy se signifikantně nelišily v počtu léčebných odpovědí, režim s celotělovým ozářením měl však více nežádoucích účinků (Goldschmidt, 1997).

Předtransplantační monoterapie melfalanem je ze všech režimů nejlépe tolerována. Centrum v Arkansasu udává celkem 3% umrtí v souvislosti s tandemovou transplantací (Barlogie, 1997). Podobně ani v jiných studiích není mortalita spojená s autotransplantační léčbou nově diagnostikovaných pacientů odlišná, kolísá od 2 do 3% při použití vysoké dávky melfalanu. Centrum v Heidelbergu udává při tandemové transplantaci s výše uvedenou dávkou melfalanu mortalitu jen 1,5% (Goldschmidt, 1998). Lékaři z Boloně udávají dokonce nulovou mortalitu po první autologní transplantaci po 200 mg/m<sup>2</sup> melfalanu, ta se však po druhé transplantaci s kombinovaným režimem melfalan a busulfan zvýšila na 5% (Cavo, 1998).

Méně často byly testovány režimy s busulfanem v monoterapii, nebo kombinace s cyklofosfamidem a thiotepou. Tyto

režimy nepředstihly první dva svojí účinností, předstihly je však svojí toxicitou. Při použití agresivnějších kombinovaných předtransplantačních režimů se zvýšila s léčbou spojená mortalita v průměru na 11 %, jak uvádí v přehledu Jagannath, 1997. Autoři ze Seattlu testovali režim BUCY (busulfan a cyklofosfamid) a u některých pacientů jej kombinovali s celotělovým ozářením. Dosáhli 24 % mortality. Uvádějí, že pacienti s myelomem z nejasných příčin tolerovali režim BUCY podstatně hůře než jiní nemocní (Bensinger, 1996). Admiraal udává v souvislosti s režimem BUCY a autologní transplantací 14 % úmrtí (Admiraal, 1998).

Melfalan 200 mg/m<sup>2</sup> je v současnosti považován za velmi účinný a přitom nejlépe tolerovaný předtransplantační režim. Lze říci, že představuje standardní transplantační režim pro pacienty s mnohočetným myelomem.

Z nově navržených režimů považujeme za vhodné zmínit se o kombinaci melfalanu a etoposidu, který použili izraelské lékaři a kterým dosáhli 24 kompletních remisí ve skupině 28 pacientů. Předtransplantační režim sestával z aplikace 60 mg/m<sup>2</sup> melfalanu po 3 dny a etoposidu 600 mg/m<sup>2</sup> podávaného ve 4 hodinové infuzi den -5, -4 a -3. Tři z těchto pacientů však měli II. stupeň venookluzivní nemoci jater (Hardan 1998).

#### 2.3.2.1. Je možno dále zvýšit dávku melfalanu?

Je samozřejmě otázkou, zda oněch 200 mg/m<sup>2</sup> melfalanu představuje maximum, které lze pacientům nabídnout. Testována byla dávka 220 mg/m<sup>2</sup>. Mukositida byla po této dávce výrazně větší, čtvrtého stupně WHO klasifikace dosáhla u 64 % léčebných. Soubor pacientů, na kterém byla tato dávka testována, byl však malý, takže nelze srovnávat účinnosti. Lze pouze konstatovat, že tuto dávku je možno aplikovat, ale že nežádoucí účinky jsou větší než po 200 mg/m<sup>2</sup> (Moreau, 1998).

#### 2.3.2.2. Vzácné nežádoucí účinky vysokých dávek melfalanu

Ačkoliv je tolerance uvedené dávky melfalanu velmi dobrá, přesto u některých pacientů může dojít k život ohrožujícím komplikacím. Způsobuje to interindividuální variabilita v jeho metabolismu a tedy i toleranci.

Ke vzácným komplikacím patří těžké encefalopatie. Byli popsáni dva pacienti s renální insuficiencí, kteří po vysoké dávce melfalanu, 200 mg/m<sup>2</sup> upadli v době obnovení krevtvorby do těžkého komatu s křečemi. Další komplikací byla závažná hemoragická mukositis. Na vzniku encefalopatie se zřejmě podílela změna farmakokinetiky melfalanu vlivem renální insuficience (Schuh, 1998). Ve zprávách o projevech předávkování melfalanu, které se objevily v posledních letech, dominovaly vždy poruchy vědomí až koma a také krácení z gastrointestinálního traktu.

#### 2.3.3. Jaký vliv má autotransplantační léčba na délku přežití?

To je základní otázka, na kterou musíme odpovědět jak pacientovi, tak i sobě, indikujeme-li vysokodávkovanou chemoterapii. Nejpresnější pro hodnocení přínosu jakékoliv léčby jsou prospektivní randomizované studie, v nichž jsou pacienti rozdělováni do dvou odlišně léčených skupin. Rozdělení musí být přitom takové, aby obě skupiny byly pokud možno srovnatelné nejen věkem, ale i stadiem nemoci a prognostickými faktory. Takovou je francouzská IFM 90 studie, srovnávající klasickou chemoterapii VMCP (vincristin, melfalan, cyklofosfamid, prednison) s jedním cyklem vysokodávkované autotransplantační chemoterapie. Do obou větví této studie bylo randomizováno celkem 200 pacientů s nově diagnostikovaným onemocněním. Konvenčně léčená skupina dostávala po 12 měsících střídavě polychemoterapii VMCP VBAP v třítydenních intervalech (18 cyklů) a pak udržovací léčbu interferonem alfa. Skupina s vysokodávkovanou chemoterapií dostala 4-6 cyklů chemoterapie VMCP a VBAP a následovala vysokodávkovaná chemoterapie, melfalan 140 mg/m<sup>2</sup> a celotělové

**Tabulka 3.**

Studie INF 90: autotransplantační versus klasická chemoterapie (Attal a kol., 1997)

| Hodnocený parametr                               | Autotransplantační léčba | Klasická chemoterapie |
|--------------------------------------------------|--------------------------|-----------------------|
| Medián bezpříznakového přežití (remise)          | 28 měsíců                | 18 měsíců             |
| Pravděpodobnost 6-letého bezpříznakového přežití | 24 %                     | 15 %                  |
| Medián celkového přežití                         | 57 měsíců                | 42 měsíců             |
| Pravděpodobnost 6-letého celkového přežití       | 43 %                     | 21 %                  |

ozáření 8 Gy s podporou autologní transplantace kostní dřeně. Udržovací léčba interferonem alfa byla aplikována až do známek relapsu. Poslední průběžná analýza této velké studie byla provedena v únoru 1997. Výsledky této analýzy (tabulka 3) byly poprvé zveřejněny na konferenci o myelomu v Bostonu v červnu 1997 a publikovány formou abstraktu. Autotransplantační léčba v této studii prodloužila medián přežití o 15 měsíců. Kompletní remise po vysokodávkované chemoterapii dosáhlo 22 % pacientů (Attal, 1997).

Další centrum, které má dostatečný počet pacientů pro srovnání délky přežití po klasické a vysokodávkované chemoterapii, je hematologické pracoviště v Arkansasu, USA. Vysokodávkovanou chemoterapii s autologní transplantací zde léčili do konce roku 1997 celkem 542 pacientů. Lékaři z Arkansasu propagují provedení dvou po sobě následujících (tandemových) vysokodávkovaných chemoterapií. Uvádějí, že druhá transplantace zvýšila počet kompletních remisí, což je nejpodstatnější prognostický faktor pro délku přežití. Při hodnocení 231 nově diagnostikovaných pacientů konstatovali postupně se zvyšující počet kompletních remisí (CR): 5 % CR po 3 VAD cyklech, 17 % CR po ukončení sběru kmenových buněk, 30 % CR po první autotransplantaci a 48 % CR po druhé autotransplantaci. První autologní transplantaci absolvovalo 84 % a druhou transplantaci 71 % z oněch původních 231 pacientů (Jagannath, 1997). V roce 1996 uváděli autoři z Arkansasu 24 % kompletních remisí po první a 43 % kompletních remisí po druhé autotransplantační léčbě (Vesole, 1996). Podobný počet kompletních remisí po tandemové transplantaci (44 %) udávají i autoři z Heidelbergu (Goldschmidt, 1998). Z uvedených pěti set pacientů léčených v Arkansasu bylo vybráno ke srovnávací analýze celkem 123 nově diagnostikovaných nemocných, kteří byli zařazeni do autotransplantačního protokolu s tandemovou transplantací (Total Therapy = 4 cykly VAD, sběr kmenových buněk po stimulační dávce cyklofosfamid, 1 cyklus EDAP a 2 cykly vysokodávkované chemoterapie, první autotransplantace po melfalanu, 200 mg/m<sup>2</sup> druhá autotransplantace buď po stejné dávce melfalanu, nebo po 140 mg/m<sup>2</sup> v kombinaci s celotělovým ozářením) Pro srovnání byl vybrán shodný počet pacientů se stejnými prognostickými parametry, kteří byli dříve léčeni klasickou (konvenční) chemoterapií v rámci SWOG studií. Jde o srovnání s takzvanou historickou skupinou. Výsledky srovnání jsou uvedeny v tabulce 4. Tandemová autotransplantační léčba (Total Therapy) prodloužila medián přežití o 14 měsíců.

**Tabulka 4.**

Srovnání výsledků tandemové autotransplantace se standardní chemoterapií (Barlogie, 1997)

| Hodnocený parametr                                | Autotransplantační léčba s následující aplikací interferonu alfa | Standardní terapie v rámci SWOG studií, bez udržovací léčby interferonem |
|---------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|
| Medián bezpříznakového intervalu (od konce léčby) | 49 měsíců                                                        | 22 měsíců                                                                |
| Medián celkové přežití (od zahájení léčby)        | 62 měsíců                                                        | 48 měsíců                                                                |

### 2.3.4. Jeden nebo dva cykly vysokodávkované chemoterapie?

Vysoký počet kompletních remisí dosažený tandemovou transplantací byl tak sugestivní, že se tato léčba rychle rozšířila do mnoha center, bez dalšího ověřování randomizovanými studiemi a mnozí odborníci ji považují v současnosti za nejlepší standard. Francouzští hematologové pohotově zareagovali na výsledky z Arkansasu a v roce 1994 zahájili další studii (IFM 94), která má odpovědět na otázku, zda je tandemová autotransplantace lepší než jeden cyklus autotransplantační léčby. Do studie IFM 94 bylo již přijato 400 pacientů. Celkem 200 pacientů bylo již dostatečně dlouho sledováno a vyhodnoceno. První vysokodávkovaná chemoterapie obsahuje melfalan 140 mg/m<sup>2</sup> a celotělové ozáření 8Gy. Druhá vysokodávkovaná chemoterapie obsahuje pouze Alkeran 140 mg/m<sup>2</sup>. Mezi skupinami s jedním a dvěma cykly autotransplantační léčby nebylo shledáno statisticky významného rozdílu. Pravděpodobnosti dvouletého bezpříznakového a celkového přežití byly 54% a 71% po jedné versus 57% a 67% po dvou transplantacích (Attal, 1998). Počet léčebných odpovědí v obou skupinách znázorňuje tabulka 5.

**Tabulka 5.**

Léčebná odpověď po jedné versus po dvou vysokodávkovaných chemoterapiích (Attal, 1998)

| Léčba                   | Kompletní remise (CR) | Velmi dobrá PR | Parciální remise (PR) | Minimální odpověď | Progrese nemoci |
|-------------------------|-----------------------|----------------|-----------------------|-------------------|-----------------|
| Jedna autotransplantace | 32 %                  | 5 %            | 43 %                  | 12 %              | 8 %             |
| Dvě autotransplantace   | 33 %                  | 10 %           | 41 %                  | 3 %               | 13 %            |

Jsou dva cykly melfalanu 200 mg/m<sup>2</sup> výhodnější než jeden cyklus? Na tuto otázku lze odpovědět pouze spekulativně, neboť nejsou publikovány výsledky žádné velké randomizované studie, zaměřené na tuto otázku. Zastánci tandemové transplantace sice argumentují výsledky IMF 90 studie, prokazující nadřazenost autotransplantace nad konvenční chemoterapií, zároveň ale odmítají zevšeobecnit výsledky IMF 94 studie neprokazující přínos druhého cyklu autotransplantační léčby. Tvrdí, že v INF 94 je použita suboptimální dávka melfalanu v druhém cyklu léčby a že dosažení kompletní remise (CR) je zásadním prognostickým faktorem pro délku přežití a počet CR je při tandemové transplantaci jasně vyšší.

Odpůrci paušálního provádění tandemové transplantace zase argumentují: řídíme-li se výsledky studie IMF 90, měli bychom přijmout i výsledky studie IMF 94. Po tandemové autotransplantační léčbě je pozorován vyšší počet kompletních remisí než po jednom cyklu vysokodávkované chemoterapie. Je také známo, že dosažení kompletní remise je dobrým prognostickým faktorem. Tato fakta však zdaleka nedokazují, že z tandemové transplantace budou mít užitek všichni pacienti a že její provedení bude spojeno s dalším prodloužením života. Tento průkaz může přinést jedině velká randomizovaná prospektivní studie. Ačkoliv arkansaská studie má vyšší počet kompletních remisí než francouzská studie IMF 90, obě studie uvádějí přibližně shodné prodloužení celkového přežití proti klasické léčbě, o 14 a 15 měsíců, viz tabulky 3 a 4. Arkansaská studie má delší přežití jak v konvenčně léčené skupině, tak v autotransplantačně léčené skupině. Domníváme se, že tento rozdíl souvisí s určitým výběrem pacientů v amerických studiích, který je dán tím, že k léčbě přicházejí pacienti s určitým socioekonomickým zajištěním a schopností přilepšit na léčbu do Arkansasu třeba z New Yorku či Los Angeles. Doufáme, že toto dilema bude brzy rozřešeno prospektivní klinickou studií. Na základě uvedených dat zastáváme názor, že provedení tandemové transplantace by mělo být výběrové. Tandemovou transplantaci provádíme jen u pacientů s nedostatečnou léčebnou odpovědí na první cyklus léčby. To znamená u pacientů, u nichž koncentrace monoklonálního imunoglobulinu v séru nepoklesla pod 75% výchozí hodnoty do

6 měsíců od první a kteří první cyklus tolerovali bez větších komplikací. Šestiměsíční hranici jsme si stanovili na základě práce anglických autorů popisujících pozvolný pokles M-Ig u některých pacientů (Singhal, 1995).

### 2.3.5. Lze podat vysokodávkovanou chemoterapii i pacientům s renální insuficiencí?

Renální insuficience ani dialýza již není kontraindikací vysokodávkované chemoterapie s autologní transplantací. Léčba pacientů s renální insuficiencí vysokou dávkou melfalanu byla v literatuře opakovaně popsána a bylo konstatováno, že tato léčba je proveditelná i u těchto pacientů, ale že se musí počítat s výraznějšími nežádoucími účinky, tedy hlavně s dlouhodobější mukosítidou. První farmakokinetická studie hodnotící aplikaci melfalanu (100 mg/m<sup>2</sup> dva dny po sobě) byla publikována autory z Arkansasu v roce 1996. Uvádějí v ní, že nenalezli statisticky významné rozdíly ve farmakokinetice melfalanu a v toleranci léčby mezi pacienty s renální insuficiencí a pacienty s normální funkcí ledvin. Poločas melfalanu u pacientů s renální insuficiencí byl 1,1 hodiny. U obou skupin pacientů nepozorovali rozdíly v intenzitě poškození sliznic chemoterapií. Zároveň však konstatovali značnou interindividuální variabilitu v metabolismu a tedy farmakokinetice melfalanu. Rozdíl v hodnotách plazmatického poločasu i plochy pod křivkou (AUC = area under curve) mezi pacientem s nejnižší a nejvyšší hodnotou dosáhl desetinásobku. Rozdíl melfalanové clearance mezi pacienty s nejvyšší a nejnižší hodnotou dosáhl pětinašobku. Melfalan byl rychle metabolizován i u pacientů s renální insuficiencí, medián terminálního poločasu byl 69 minut. Pro očištění od jakéhokoliv léku se běžně vyžaduje interval 5 poločasů. To znamená, že i u pacientů s renální insuficiencí lze bezpečně podat transplantát 24 hodin po infuzi melfalanu (Tricot, 1996).

V roce 1997 však již totéž pracoviště udává signifikantně vyšší incidenci závažné mukosítidy u pacientů s renální insuficiencí (Mehta, 1997). Na konferenci EBMT (European Group for Blood and Marrow Transplantation) byly uvedeny francouzskými autory odlišné farmakokinetické údaje získané u 7 pacientů, kteří podstoupili léčbu vysokou dávkou melfalanu 140 mg/m<sup>2</sup> anebo 200 mg/m<sup>2</sup>. Naměřené hodnoty byly srovnány s hodnotami pacientů s normální funkcí ledvin. Bylo konstatováno, že došlo jak k prodloužení poločasu, tak ke zvětšení plochy pod křivkou. Sérový poločas se v průměru prodloužil z 1,19 na 3,94 hodiny. Plocha pod křivkou u (AUC - area under curve) se při podání 140 mg/m<sup>2</sup> z 9,79 na 19,59 a při aplikaci 200 mg/m<sup>2</sup> ze 14,98 na 23,38 mg/l/hod. Tomu odpovídal i komplikovanější klinický průběh s mnohem výraznější mukosítidou (Abdelkefi, 1998).

Ve Švýcarském transplantčním centru podali 200 mg/m<sup>2</sup> melfalanu dvěma pacientům a oba měli značně komplikovaný průběh (mimo těžké a dlouhotrvající mukositis došlo u jednoho k encefalopatii a u druhého k selhání jater (Kovacsovics, 1997).

Na základě těchto publikovaných zkušeností a s přihlédnutím ke starším farmakokinetickým studiím uvádějícím zpomalení plazmatické clearance při renální insuficienci (Osterborg, 1989) soudíme, že spíše francouzské než arkansaské farmakokinetické údaje se blíží pravdě a tedy u pacientů se závažnou renální insuficiencí považujeme za vhodné dávku melfalanu redukovat přibližně o jednu třetinu. Na našem pracovišti jsme provedli zatím jen jednu autologní transplantaci při renální insuficienci s výborným výsledkem. Pacient dostal 200 mg/m<sup>2</sup> melfalanu, následkem byla sice těžká a dlouho trvající mukositida, ale i výrazný tumorredukční účinek. Pacient je více než 18 měsíců v remisi. Podrobnosti o průběhu transplantace u tohoto pacienta publikovala Krejčí, 1997.

### 2.3.6. Je přínosem pozitivní selekce hemopoetických buněk?

Pozitivní selekce hemopoetických buněk je v posledních letech v popředí zájmu. Zatím nebyly publikovány žádné rozsáhlej-

**Tabulka 6.**

Srovnání výsledků vysokodávkované chemoterapie s podporou autologní kostní dřeně (BM), periferních kmenových buněk (PB) a selektovaných CD34+ buněk (Harrousseau, 1998).

| Hodnocený parametr             | BM<br>n=37 | PBSC<br>n=57 | CD34+<br>n=35 |
|--------------------------------|------------|--------------|---------------|
| Medián trvání neutropenie      | 11,4       | 10           | 11            |
| Medián počtu transfuzí EM      | 2,9        | 3,0          | 2,5           |
| Medián počtu trombokoncentrátů | 6,3        | 4,5          | 5,5           |
| CR - VGPR                      | 50 %       | 62 %         | 49 %          |
| 2-leté bezpříznakové přežití   | 42 %       | 63 %         | 50 %          |
| 2-let celkové přežití          | 80 %       | 70 %         | 83 %          |

ší informace hodnotící tento přístup z hlediska délky přežití. Autoři z Finska porovnávají výsledky pozitivní selekce CD34+ buněk s neselektovaným autotransplantátem v malém souboru pacientů. Během roku relabovali po autologním selektovaném transplantátu 4 z 13 pacientů (31 %), zatímco po neselektovaném transplantátu to bylo 11 z 20 (55 %) (Remes, 1997). Jde však o velmi malá čísla. Největší soubor pro srovnání zřejmili opět Francouzi. Neprokázali žádné výhody selekce CD34+ buněk. Data zobrazuje tabulka 6. Není bez zajímavosti, že v případě CD34+ selekce a následující transplantace bylo konstatováno přetrvávání imunosuprese u 20 pacientů po dlouhou dobu a komplikovanější potransplantační průběh (Siegel, 1997).

### 2.3.7. Shrnutí úlohy vysokodávkované chemoterapie

Vysokodávkovanou chemoterapii s transplantací autologní hemopoetických buněk je možné dosáhnout vyšší počet kompletních remisí a prodloužit průměrné přežití o více než 1 rok ve srovnání s výsledky konvenční léčby.

Na otázku, zda provést tandemovou, či jen jednu transplantaci, není jednoznačná odpověď. Naše pracoviště proto na základě rozboru uvedených studií provádí standardně pouze jedinou vysokodávkovanou chemoterapii a další indikuje pouze v případě nedostatečné léčebné odpovědi, tedy při redukci M-Ig o méně než o 75 %.

## 3. Udržovací léčba v remisi nemoci

### 3.1. Udržovací interferonová léčba po standardní chemoterapii

Udržovací léčba interferonem alfa v remisi mnohočetného myelomu je používána více než 10 let. Podávání interferonu alfa u mnohočetného myelomu již byla věnována celá řada klinických studií. Metaanalýza všech studií vyhodnocených roku 1995 publikoval Ludwig, 1995. Při analýze podskupiny konstatoval, že významného prodloužení bezpříznakové a celkového přežití dosáhli pouze pacienti v klinické stadiu I a II, tedy s nepokročilou nemocí. Aktualizovaná metaanalýza byla zveřejněna na workshopu o myelomu v Bostonu. Shrnuje údaje z 8 klinických studií (929 pacientů) a uvádí, že interferonová udržovací léčba prodloužila průměrné přežití o 5 měsíců a bezpříznakové přežití o 6 měsíců (Ludwig, 1997). Nutno říci, že výsledky jednotlivých studií hodnotících udržovací léčbu jsou silně rozporuplné. Italská a kanadská studie například hodnotí interferon alfa velmi pozitivně (Maldelli, 1990; Browman, 1995), německá studie neprokázala přínos interferonu alfa (Peest, 1995) a skandinávská studie nepochybně pozitivní výsledek, prokazující prodloužení bezpříznakového intervalu při stejném celkovém přežití (West, 1995). V roce 1998 proběhla diskuze o významu udržovací léčby interferonem alfa u mnohočetného myelomu. Prodloužení průměrné délky remise i celkového přežití vlivem udržovací léčby interferonem alfa je stále patrné, prodloužení přežití však obnáší jen několik měsíců. Ludwig doporučuje limitovat udržovací léčbu interferonem pro pacienty s malou zbytkovou nemocí, neboli podávat jej jen pacientům v kompletní remisi ať již dosažené kom-

venční či vysokodávkovanou chemoterapií. Léčba interferonem alfa má totiž nejen svoji ekonomickou stránku, ale i mírně zhoršuje kvalitu života pacienta. Proto Ludwig své doporučuje podávat interferon alfa jen té skupině pacientů, která z něj bude mít největší efekt (Browman, 1998, Ludwig, 1998, Zulian, 1998).

### 3.2. Udržovací léčba kombinací interferonu alfa a glukokortikoidů

Z novějších prací považujeme za vhodné upozornit na studii SWOG (South-West Oncology Group) srovnávající udržovací léčbu interferonem alfa (3 miliony jednotek s.c. večer, třikrát týdně) a kombinací této dávky interferonu alfa s 50 mg prednisonu po klasické chemoterapii. Prednison byl podáván následující ráno po injekci interferonu alfa. Medián remise obou skupin byl 9 versus 19 měsíců ( $p = 0,008$ ) a medián přežití 46 versus 57 měsíců, ( $p = 0,36$ ). Aplikace prednisonu po dobu remise byla z hlediska délky remise i celkového přežití přínosem, a proto další SWOG studie budou hodnotit různé dávky prednisonu (50 a 10 mg) (Salmon, 1998).

Podobně ve Španělské studii byla srovnávána kombinovaná udržovací léčba (interferon alfa 3x týdně 3 miliony jednotek a dexamethazon 40 mg p.o. 4 dny po sobě v měsíčních intervalech) s monoterapií interferonem alfa. Pacienti s kombinovanou udržovací léčbou měli medián trvání remise delší o 7 měsíců (Boccardo, 1997).

Je otázka, zda zásadní zlepšení, které je zde popsáno v rámci s kombinovanou udržovací léčbou, bylo způsobeno hlavně kortikoidy, anebo synergizmem kortikoidů a interferonu alfa. Porovnání udržovací léčby monoterapie interferonem alfa a monoterapie dexamethazonem provedl zatím jedině Alexanian. Výsledek obou postupů nebyl signifikantně odlišný, medián trvání remise udržované interferonem alfa byl 15 měsíců, medián dexamethazonem udržované remise byl 11 měsíců (Alexanian, 1997).

Z dosavadních zkušeností (publikovaných klinických studií) lze tedy za optimální udržovací léčbu považovat kombinaci interferonu alfa a glukokortikoidů.

### 3.3. Má chemoterapie místo v udržovací léčbě?

Udržovací léčba melfalanem v remisi po klasické chemoterapii byla již zkoušena před mnoha lety a nepřinesla pacientům prospěch (Belch, 1988). Ani konsolidace remise velkoobjemovým ozářením neprodloužila přežití (Mackenzie 1992). Idea udržovací chemoterapie, tentokrát v kombinaci s interferonem alfa, se opět vrací. Výsledky první studie, hodnotící kombinovanou udržovací léčbu interferonem alfa a cyklickou aplikací chemoterapie VAD, melfalanu anebo cyklofosfamidů s prednisonem neprokázaly žádný signifikantní rozdíl obou způsobů udržovací léčby, kombinace interferonu s chemoterapií byla hůře tolerována než samotný interferon alfa. (Zervas, 1996). Udržovací chemoterapie v remisi navozené vysokodávkovanou chemoterapií je teprve ve fázi klinického zkoušení (Ramiah, 1997).

### 3.4. Udržovací léčba po vysokodávkované chemoterapii

Efektivita interferonu alfa je tím větší, čím menší je residuální maligní choroba. To platí nejen pro mnohočetný myelom, ale i pro chronickou myeloidní leukémii či folikulární lymfomy. Právě proto je očekáván největší přínos interferonu alfa po vysokodávkované chemoterapii.

V rámci Evropského transplantčního registru byla provedena analýza pacientů s mnohočetným myelomem po vysokodávkované chemoterapii s autologní transplantací krevtvořných buněk, u nichž následovala anebo nenásledovala udržovací léčba interferonem alfa. Celkové přežití bylo statisticky významně delší ve skupině s interferonem alfa,  $p = 0,0009$  (Bjorkstrand, 1998). Jde však o retrospektivní srovnání, což má vždy menší výpovědní hodnotu než srovnání prospektivní. Prospektivně se touto otázkou zabývala jedině anglická stu-

die z Royal Marsden Hospital. Délka bezpříznakového přežití byla ve skupině s interferonem alfa 46 měsíců, ve skupině bez interferonu alfa jen 27 měsíců. Rozdíly v délce bezpříznakového přežití i celkového přežití byly statisticky významné při mediánu sledování 52 měsíců. Při hodnocení v roce 1998 se křivky přežití opět spojily, neboť již zemřela většina pacientů z obou skupin (Powles, 1998).

Interferon alfa je tedy stále podáván jako standardní udržovací léčba po vysokodávkované chemoterapii a autologní transplantaci. V případě alogenní transplantace není na použití interferonu alfa jednotný názor. Jsou obavy, že může akcelarovat GVHD, nicméně jsou také zprávy, že jej lze použít i po alogenní transplantaci, po ukončení podávání cyklosporinu (Byrne, 1998). O alogenních transplantacích u mnohočetného myelomu se zmiňujeme v článku věnovanému léčbě relapsu (Adam, 1998).

### 4. Bisfosfonáty

#### 4.1. Vliv bisfosfonátů na kvalitu života pacientů s mnohočetným myelomem

Difúzní či ložisková osteolýza a patologické fraktury jsou klasickým příznakem mnohočetného myelomu. Osteolýzu způsobují osteoklasty, jejichž proliferace a aktivita je stimulována cytokiny produkovanými myelomovými buňkami (Roodman, 1997). Bisfosfonáty zasahují rušivě do této aktivity, inhibují aktivitu osteoklastů, inhibují tvorbu interleukinu-6 buňkami stomatu kostní dřene a mají i přímý vliv na myelomové buňky (Niesvizky, 1997).

Zmenšení počtu patologických fraktur a zlepšení kvality života vlivem dlouhodobého podávání bisfosfonátů bylo popsáno ve všech čtyřech velkých prospektivních randomizovaných klinických studiích. V prvních třech studiích, ve finské (2400 mg p.o. denně, Lahtinen, 1992 a Laakso, 1994) v německé (1600 mg p.o. denně, Heim, 1995) a v anglické (1600 mg p.o. denně McCloskey, 1996 a 1998) byla testována perorální forma clodronatu. Ve čtvrté studii, provedené v USA, byla testována pravidelná nitrožilní aplikace pamidronatu (90 mg 1x měsíčně, Berenson, 1996, 1998). Souhrnná práce o významu bisfosfonátů pro pacienty s mnohočetným myelomem vyšla v roce 1997 v časopise Cancer (Berenson, 1997). Všechny citované studie potvrzují kladný vliv bisfosfonátů na kvalitu života, finové stále považují za optimální denní dávku 2400 mg (Jantunen, 1995), ostatní se spokojí s 1600 mg denně.

Účinnost bisfosfonátů je největší, pokud jsou podávány od počáteční fáze nemoci. To znamená že jejich aplikace by se měla zahájit ihned po stanovení diagnózy, tedy v době, kdy osteolytické projevy na skeletu ještě nejsou vůbec patrné, anebo jsou jen diskrétní a kdy není přítomna žádná osteoporóza (McCloskey, 1998, Mundy, 1998).

Z dalších publikovaných zkušeností považujeme za vhodné upozornit na práci německých autorů, kteří si dali za cíl najít vhodnou nitrožilní dávku clodronatu pro dlouhodobou léčbu. Uvádějí, že i.v. aplikace 1800 mg clodronatu v měsíčních intervalech snížila na normu původně zvýšené ukazatele osteolytické aktivity (Peest, 1996). Podání vysokých dávek bisfosfonátů nitrožilně má nejen inhibiční vliv na osteolýzu, ale byl pozorován také analgetický účinek. Analgetický účinek jednorázové i.v. aplikace 1500 mg clodronatu popisuje Ernst, 1997 a jednorázové i.v. aplikace 120 mg pamidronatu, opakované ve čtyřtýdenních intervalech publikoval Coleman, 1997. Vedlejší nežádoucí účinky bisfosfonátů jsou minimální (Adami, 1996, Johnson, 1988).

Novými preparáty ze skupiny bisfosfonátů jsou zolendronat a ibandronat. Ibandronat je registrován v České republice a podobně jako jiné bisfosfonáty je určen k léčbě hyperkalcémie a k paliativní léčbě maligních osteolytických procesů. V České republice je distribuován pod názvem Bondronat. Ibandronat byl intenzivně zkoušen v preklinické fázi (Bauss, 1997) a byly již také publikovány klinické zkušenosti s tímto preparátem. Pro zvládnutí hyperkalcémie se doporučuje jednorázové nitrožilní podání 4 nebo 6 mg. Mezi oběma dávkami

mi nebylo rozdílu v počtu zvládnutých hyperkalcémií. Použití dávky se však lišily délkou normokalcemického intervalu, který trval po 4 mg průměrně 18 dní a po 6 mg průměrně 26 dní. Maximální pokles kalcémie byl pozorován 5. až 7. den. Pro dlouhodobé léčení pacientů s maligní osteolytickou chorobou jsou doporučovány 4 mg ibandronatu měsíčně (Buckhardt, 1997).

#### 4.2. Vliv bisfosfonátů na délku života u pacientů s mnohočetným myelomem

Nedávno bylo zjištěno, že bisfosfonáty mají schopnost in vitro (v buněčných kulturách) indukovat apoptotickou smrt myelomových buněk (Croucher, 1997; Shipmann 1997). Bisfosfonáty dále inhibují v osteoblastech a dalších buňkách stromatu kostní dřeně tvorbu interleukinu-6, faktoru stimulačního proliferaci myelomových buněk (Girasole, 1998). Objevení přímého i nepřímého antimyelomového efektu bisfosfonátů dává naději, že by tyto léky mohly příznivě ovlivnit nejen kvalitu života nemocných, ale že mají také potenciál prodloužit délku přežití (Aparicio, 1998). Potvrzují to klinické studie?

První dvě klinické studie, testující perorální léčbu clodronatem (finská a německá) neměly za cíl hodnotit jeho vliv na délku přežití a publikované výsledky neobsahují analýzu vlivu clodronatu na délku přežití. Třetí a největší doposud provedená klinická studie hodnotící perorální clodronat je z Anglie a ta již obsahuje i hodnocení vlivu clodronatu na délku přežití. Její výsledky byly poprvé zveřejněny v roce 1996 formou abstraktu a in extenso v roce 1998. V anglické prospektivní randomizované studii (536 pacientů) zlepšila léčba clodronatem (1600 mg p.o. denně) kvalitu života ve všech podskupinách pacientů. V podskupině pacientů, kteří neměli žádnou patologickou frakturu obratle při vstupu do studie (tedy při časné zahájení podávání clodronatu), bylo zjištěno statisticky významné prodloužení mediánu přežití na 1362 dní, zatímco ve stejné definované podskupině pacientů s placebem byl medián přežití jen 1094 dní. To znamená, že pokud se začalo s podáváním clodronatu u pacientů s minimálním postižením kostí, byl medián délky přežití prodloužen o 3/4 roku při lepší kvalitě života (McCloskey, 1996).

Podrobné vyhodnocení studie bylo publikováno v roce 1998. Opět byl potvrzen statisticky významný rozdíl délky přežití v závislosti na léčbě clodronatem či placebem ve výše uvedené podskupině s časně zahájenou léčbou (v době kdy ještě nedošlo k patologickým frakturám). Stejně tak redukce počtu pato-

logických fraktur byla nejvyšší u pacientů, kteří clodronat začali užívat ještě ve stadiu bez osteolytického poškození páteře. Při srovnání medianu přežití všech pacientů dostávajících clodronat anebo placebo již statisticky výrazný rozdíl nebyl patrný. Výsledky shrnuje tabulka č. 7 (McCloskey, 1998).

V americké prospektivní randomizované studii bylo testováno pravidelné podávání pamidronatu (90 mg i.v. 1x za měsíc). Do studie byli přijímáni pouze pacienti s osteolytickými ložisky, splňující kritéria III. klinického stadia dle Durieho a Salmona a dále museli být již minimálně dva měsíce léčení chemoterapií. Při analýze celých skupin nebyl patrný statisticky významný vliv pamidronatu na délku přežití (medián přežití 26 měsíců s pamidronatem a 24 měsíců s placebem). Při rozčlenění pacientů na podskupinu dostávající chemoterapii první linie a podskupinu dostávající léčbu druhé a další linie (po selhání chemoterapie první linie), se objevily statisticky významné rozdíly v délce přežití. Medián přežití pacientů léčených chemoterapií druhé a další linie, dostávajících pamidronat, byl 21 měsíců, zatímco stejně definovaná podskupina s placebem měla medián přežití jen 14 měsíců. Výsledky shrnuje tabulka č. 8. (Berenson, 1997, 1998).

Proto například pracoviště profesora Slavina v Jeruzalémě používá po vysokodávkované chemoterapii kombinovanou udržovací léčbu, interferon alfa 3 - 5 mil jednotek třikrát týdně a 90 mg pamidronatu jedenkrát měsíčně. Domnívají se, že kombinovaná udržovací léčba (interferon a pamidronat) přispěje k prodloužení remise nemoci (Ackerstein, 1998).

#### 5. Nové způsoby léčby

Novým léčebným postupem, který byl poprvé publikován v roce 1997, je dlouhodobé podávání antibiotika clarithromycinu, který se jinak používá u MALT lymfomů k eradikaci bacila *Helicobacter pylori*. U 6 ze 30 pacientů tato léčba vedla k poklesu koncentrace M-Ig nejméně o 75% (Durie, 1997). Jde však první zprávu, takže bude nutné vyčkat dalšího ověření před širším použitím tohoto postupu.

#### 6. Souhrn

Vysokodávkovaná chemoterapie má potenciál dosáhnout většího počtu kompletních remisí a v průměru prodlouží délku života o 15 měsíců.

Udržovací léčba interferonem alfa má u pacientů po autologní transplantaci pozitivní vliv na délku bezpříznakového období díky zásadní redukci maligní nemoci zřejmě i na délku přežití. Dle posledních studií kombinace interferonu alfa s glukokortikoidy má lepší účinek než udržovací monoterapie interferonem alfa.

Bisfosfonáty v dostatečných dávkách zlepšují nejen kvalitu života, ale také přispívají i k prodloužení délky přežití.

**Tabulka 7.**

Výsledky studie hodnotící vliv clodronatu (1600 mg/den p.o.)  
McCloskey E. V. et al. Ann. Oncol., 1996, roč. 7, Suppl. 5, Abstr. č. 4120.  
a British J. Haematol., 1998, roč. 100 s. 317 - 325.

| Studie                 | n   | Pacienti při zahájení léčby clodronatem měli alespoň jednu patologickou frakturu obratle n=237                                                                           | Pacienti při zahájení léčby clodronatem neměli ani jednu patologickou frakturu obratle n=156                                                                                                            |
|------------------------|-----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| McCloskey, 1996 a 1997 | 536 | clodronat statisticky významně snížil počet patologických fraktur obratlů a dalších kostí a zmenšil bolesti, obě skupiny se nelišily statisticky významně délkou přežití | clodronat nejen zmenšil počet patologických fraktur, ale statisticky významně prodloužil přežití, p=0,05 Medián přežití pacientů s clodronatem = 1362 dní Medián přežití pacientů bez clodronatu = 1094 |

**Tabulka 8.**

Výsledky studie hodnotící vliv pamidronatu (90 mg i.v. 1x za 4 týdny).  
Berenson, J. R., Bisphosphonates in multiple myeloma. Cancer 1997, roč. 80, s. 1661 - 1667.

| Studie         | n   | Medián celkového přežití všech pacientů pamidronat versus placebo | Medián celkového přežití pacientů, kteří při zahájení studie dostávali chemoterapii druhé či další linie pamidronat versus placebo |
|----------------|-----|-------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Berenson, 1997 | 392 | 26 měsíců versus 24 měsíců rozdíl nesignifikantní                 | 21 měsíců versus 14 měsíců p=0,041 (signifikantní)                                                                                 |



- Abdelkefi, A., Maloisel, F., Liu, K. L. et al. High-dose melphalan and autologous stem cell transplantation for myeloma patients with severe renal failure: Pharmacokinetic study: correlation between biology and clinics. *Bone Marrow Transplantation*, 1998, roč. 21, Suppl. 1, s. 202A, Abstr. č. 705.
- Ackersten, A., Nagler, A., Naparstek, E. et al. Long-term immunotherapy with interferon alpha for multiple myeloma following autologous stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplantation*, 1998, roč. 21, Suppl. 1, s. 203A, Abstr. č. 708.
- Adam, Z., Elbl, L., Vorlíček, J. a kol. Nižší kardiotoxicita adriamycinu při kontinuálním podávání u nemocných s refrakterním mnohočetným myelomem, léčných cyklofosfamidem, vincristinem, adriamycinem a dexamethazonem (C-VAD). *Vnitřní Lék.*, 1994, roč. 40, č. 8, s. 506 - 512.
- Adam, Z., Hájek, R., Mayer, J., Krejčí, M. et al. Relaps mnohočetného myelomu - jaké možnosti máme? *Klinická onkologie* 1998, v tisku.
- Adami, S., Zamberlan, N. et al. Adverse effects of bisphosphonates. A comparative review. *Drug Safety*, 1996, roč. 14, č. 3, s. 158 - 170.
- Admiraal, G. C., de Kreuk, A. M., Jonkhoff, A. R. et al. High-dose melphalan and G-CSF stimulated whole blood rescue followed by busulfan/cyclophosphamide (BUCY) and autologous peripheral blood or bone marrow stem cell transplantation in multiple myeloma. *Bone Marrow Transplantation*, 1998, roč. 21, Suppl. 1, s. 201A, Abstr. č. 698.
- Alexanian, R., Weber, D., Dimopoulos, M. et al. Limited primary therapy for multiple myeloma followed by maintenance with alpha interferon or dexamethasone. *Blood*, 1997, roč. 90, č. 10, Suppl. 1, s. 355A, Abstr. č. 1585.
- Aparicio, A., Gardner, A., Tu, Y. et al. In vitro cytoreductive effects on multiple myeloma cells induced by bisphosphonates. *Leukemia*, 1988, roč. 12, s. 220 - 229.
- Attal, M., Harousseau, J. L. Standard versus autologous transplantation in multiple myeloma. *Hematol. Oncol. Clin. North Amer.* 1997, roč. 11, s. 133 - 146.
- Attal, M., Harousseau, J. L., Stoppa, A. M. et al. High dose therapy in multiple myeloma. An update analysis of the IFM 90 protocol. *Blood*, 90, 1997, 10, Suppl. 1, Part 2, s. 417A, Abstr. č. 1858.
- Attal, M., Payen, C., Facon, T. et al. High dose therapy in multiple myeloma: the experience of the Intergroupe Français du Myélome (IFM). *International Workshop on Multiple Myeloma*, Boston, 1997, Abstr.
- Attal, M., Payen, C., Facon, T. et al. Single versus double transplant in myeloma: A randomized trial of the Intergroupe Français du Myélome (IFM). *Bone Marrow Transplantation* 1998, roč. 21, Suppl. 1, s. 206A, Abstr. č. 718.
- Barlogie, B. Advances in therapy of multiple myeloma: Lessons from acute leukemia. *Clin. Cancer Res.*, 1997, roč. 3, s. 2605 - 2613.
- Barlogie, B., Jagannath, S., Vesole, D. H. et al. Superiority of tandem autologous transplantation over standard therapy for previously untreated multiple myeloma. *Blood*, 1997, roč. 89, č. 3, s. 789 - 793.
- Barlogie, B., Smith, L., Alexanian, R. Effective treatment of advanced multiple myeloma refractory to alkylating agents. *N. Engl. J. Med.*, 1984, roč. 310, č. 21, s. 1353 - 1356.
- Bauss, F. Ibandronate in malignant bone disease and osteoporosis. Preclinical results. *Onkologie*, 1997, roč. 20, č. 3, s. 204 - 208.
- Belch, A., Schellley, W., Bersagel, D. et al. A randomized trial of maintenance versus no maintenance melphalan and prednisone in responding myeloma patients. *Brit. J. Cancer*, 1988, roč. 57, s. 94 - 99.
- Bensinger, W., Rowley, S. D., Demire, R. et al. High dose therapy followed by autologous hematopoietic stem cell infusion for patients with multiple myeloma. *J. Clin. Oncol.*, 1996, roč. 14, č. 5, s. 1447 - 1456.
- Bensinger, W., Singer, J., Appelbaum, F. et al. Autologous transplantation with peripheral blood mononuclear cells collected after administration of recombinant granulocyte stimulating factor. *Blood*, 1993, roč. 81, s. 3158 - 3163.
- Buckhardt, P. Ibandronate in oncology. *Cancer*, 1997, roč. 80, č. 8, Suppl., s. 1696 - 1698.
- Berenson, J. R. Bisphosphonates in multiple myeloma. *Cancer*, 1997, roč. 80, s. 1661 - 1667.
- Berenson, J. R. Long-term pamidronate treatment of advanced multiple myeloma patients reduces skeletal events. *J. Clin. Oncol.*, 1998, roč. 16, č. 2, s. 593 - 602.
- Berenson, J. R., Lichtenstein, A., Porter, L. et al. Efficacy of pamidronate in reducing skeletal events in patients with advanced multiple myeloma. *N. Engl. J. Med.*, 1996, roč. 334, č. 5, s. 488 - 493.
- Bjorkstrand, B., Svensson, H., Ljungman, J. et al. Alpha interferon treatment after autologous stem cell transplantation in multiple myeloma. A retrospective case-matched analysis. *Bone Marrow Transplantation*, 1998, roč. 21, Suppl. 1, s. 208A, Abstr. č. 729.
- Boccadoro, M., Argentino, C., Avvisati, L. et al. Melphalan and prednisone followed by interferon alpha plus dexamethasone maintenance therapy improves remission duration of myeloma patients. *Blood*, 1997, vol. 90, no 10, Suppl. 1, s. 355A, Abstr. č. 1586.
- Browman, G. P. Current controversies in cancer. Should alpha interferon be included as standard treatment in multiple myeloma? *Arbiter Eur. J. Cancer*, 1998, roč. 34, č. 1, s. 22 - 24.
- Browman, G. P., Bersagel, D., Sichi, D. et al. Randomized trial of interferon maintenance in multiple myeloma: A study of the National Cancer Institute of Canada Clinical Trial Group. *J. Clin. Oncol.*, 1995, roč. 13, č. 9, s. 2354 - 2360.
- Byrne, J. L., Haynes, A. P., Russell, N. H. et al. Interferon alpha as adjuvant therapy following allogeneic transplantation for multiple myeloma. *Bone Marrow Transplantation*, 1998, roč. 21, Suppl. 1, s. 206A, Abstr. č. 719.
- Cavo, M., Benni, M., Lemoli, R. M. et al. Double autologous transplantation with PBPC for multiple myeloma. *Bone Marrow Transplantation*, 1998, roč. 21, Suppl. 1, s. 212A, Abstr. č. 745.
- Coleman, R., Purohit, O. P., Vinholes, J. J. et al. High dose pamidronate. Clinical and biochemical effects in metastatic bone disease. *Cancer*, 1997, roč. 80, s. 1686 - 1690.
- Cremer, F. W., Kiel, K., Wallmeier, M. et al. Leukapheresis products in multiple myeloma: lower tumor load after mobilization with cyclophosphamide plus G-CSF compared to G-CSF alone. *Bone Marrow Transplantation*, 1998, roč. 21, Suppl. 1, s. 208A, Abstr. č. 726.
- Croucher, P. I. et al. Bisphosphonates induce apoptosis in human myeloma cells. *Brit. J. Haematol.*, 1997, roč. 98, č. 3, s. 665 - 672.
- Demire, T., Buckner, C. D., Gooley, T. et al. Factors influencing collection of peripheral blood stem cells in patients with multiple myeloma. *Bone Marrow Transplantation*, 1996, roč. 17, s. 937 - 941.
- Desikan, K. R., Barlogie, B., Jagannath, S. et al. Comparable engraftment kinetics following peripheral blood stem cell infusion mobilized with granulocyte-colony stimulating factor with or without cyclophosphamide in multiple myeloma. *J. Clin. Oncol.*, 1998, roč. 16, č. 4, s. 1547 - 1553.
- Desikan, K. R., Jagannath, S., Diegel, D. et al. Post transplantation engraftment kinetics and toxicities in multiple myeloma patients are comparable following mobilization of PBSC with G-CSF without high dose cyclophosphamide. *Blood*, 1996, roč. 88, s. 679A.
- Durie, B. G. M., Salmon, S. E. A clinical staging system for multiple myeloma. Correlation of measured myeloma cell mass with presenting clinical features, response to treatment and survival. *Cancer*, 1975, roč. 36, s. 842 - 854.
- Durie, B. G. M., Villarete, L., Farvard, M. et al. Claritromycin (Biaxin) as primary treatment for myeloma. *Blood*, 1997, roč. 90, č. 10, Suppl. 1, s. 579A, Abstr. č. 2578.
- Ernst, S. D., Brasher, P., Hagen, N. et al. A randomized controlled trial of intravenous clodronate in patients with metastatic bone disease and pain. *J. Pain Symptom Management*, 1997, roč. 13, č. 6, s. 319 - 326.
- Facon, T., Menard, J. F., Michaux, L. et al. Prognostic factors in low tumour mass asymptomatic multiple myeloma. *Amer. J. Hematol.*, 1995, roč. 48, s. 71 - 75.
- Ferland, J. P., Ravaut, P., Chevret, S. et al. High dose therapy and autologous stem cell transplantation versus conventional chemotherapy with high dose therapy rescue in multiple myeloma. Results of prospective randomized trial. *Blood*, 1995, roč. 86, Suppl. 1, s. 205A.
- Gazit, Y., Tian, E., Barlogie, B. et al. Differential mobilization of myeloma cells and normal hematopoietic stem cells in multiple myeloma following treatment with cyclophosphamide and granulocyte-macrophage colony stimulating factor. *Blood*, 1995, roč. 87, s. 805 - 811.
- Girasole, G. Bisphosphonates inhibit IL-6 production by human osteoblast-like cells. *Scand. J. Rheumatol.*, 1998, roč. 27, č. 1, s. 38 - 41.
- Goldschmidt, H., Hegenbart, U., Wallmeier, M. et al. High-dose therapy with peripheral blood progenitor cell transplantation in multiple myeloma. *Ann. Oncol.*, 1997, roč. 8, s. 243 - 246.
- Goldschmidt, H., Hegenbart, U., Wallmeier, M. et al. High-dose therapy with peripheral blood progenitor cell transplantation in multiple myeloma. *Ann. Oncol.*, 1997, roč. 8, s. 243 - 246.
- Goldschmidt, H., Martin, H., Hegenbart, U. et al. Tandem autologous transplantation for multiple myeloma: first results of a german multicentre study. *Bone Marrow Transplant*, 21, 1998, roč. 21, Suppl. 1, s. 207A, Abstr. č. 724.
- Gregory, W. M., Richards, M. A., Malpas, J. S. Combination chemotherapy versus melphalan and prednisolone in the treatment of multiple myeloma: an overview of published trials. *J. Clin. Oncol.*, 1992, roč. 82, s. 334 - 342.
- Hardan, I., Avigdor, A., Attias, D. et al. High dose melphalan and etoposide with autologous stem cell support for newly diagnosed multiple myeloma patients - a phase II study. *Bone Marrow Transplantation*, 1998, roč. 21, Suppl. 1, s. 205A, Abstr. č. 716.
- Harousseau, J. L., Attal, M., Payen, C. et al. Bone marrow versus peripheral blood versus CD34+ progenitors as the source of stem cell for autologous transplantation in multiple myeloma. *Bone Marrow Transplantation*, 1998, roč. 21, Suppl. 1, s. 205A, Abstr. č. 714.
- Heim, M. E., Clemens, M. R., Queisser, W. et al. Prospective randomized trial of dichloromethylene bisphosphonate (clodronate) in patients with multiple myeloma. *Onkologie*, 1995, vol. 18, s. 439-448.
- Jagannath, S., Tricot, G., Barlogie, B. Autotransplant in multiple myeloma: pushing the envelope. *Hematol. Oncol. Clinics North Amer.*, 1997, roč. 11, č. 2, s. 363-381.
- Johnson, M. J. Symptomatic hypocalcemia with oral clodronate. *J. Pain Symptom Management*, 1998, roč. 15, č. 2, s. 140 - 142.
- Jantunen, E., Lahtinen, R., Laakso, M. Use of clodronate in multiple myeloma. *Leukemia Lymphoma*, 1995, roč. 19, s. 207 - 211.
- Kovacs, T. J. Autologous bone marrow transplantation following high-dose melphalan is associated with very high toxicity in multiple myeloma with chronic renal failure. 6th International Workshop on Multiple Myeloma, 1997, Boston, June 14 - 18, Abstr.
- Kovacs, T., Delaly, A. Intensive treatment strategies in multiple myeloma. *Semin. Hematol.*, 1997, roč. 34, č. 1, Suppl. 1, s. 49 - 60.
- Koza, V., Indrák, K., Ivašková, E. et al. Indikace k alogenním a autologním transplantacím krve a kostní dřeně. *Praktický Lékař*, 1977, roč. 77, č. 10, s. 471 - 481.
- Krejčí, M., Doubek, M., Adam, Z. et al. Autologní transplantace periferních hematopoietických buněk u nemocného s mnohočetným myelomem a renální insuficiencí. *Vnitřní Lék.* 1997, roč. 43, č. 11, s. 756 - 758.
- Laakso, M., Lahtinen, R., Virkkunen, P. et al. Subgroup and cost-benefit analysis of the Finnish multicentre trial of clodronate in multiple myeloma. *Brit. J. Haematol.*, 1994, roč. 87, s. 725 - 729.
- Lahtinen, R., Laakso, M., Palva, I. et al. Randomised, placebo-controlled multicentre trial of clodronate in multiple myeloma. *Lancet*, 1992, roč. 340, č. 8827, s. 1049 - 1052.
- Lokhorst, H. M., Sonneveld, P., Cornelissen, J. J. et al. VAD and intermediate-dose melphalan induction therapy followed by stem cell transplantation in multiple myeloma: Results of a phase II and preliminary results of a randomised phase III study. *Bone Marrow Transplantation*, 1998, roč. 21, Suppl. 1, s. 203A, Abstr. č. 709.
- Ludwig, H. Current controversies in cancer. Should alpha interferon be included as standard treatment in multiple myeloma? *Pro Eur. J. Cancer*, 1998, roč. 34, č. 1, s. 12 - 24.
- Ludwig, H., Cohen, A. M., Polliack, A. et al. Interferon alpha for induction and maintenance in multiple myeloma: Results of two randomised trials and summary of other studies. *Ann. Oncol.*, 1995, roč. 6, s. 467 - 476.
- Ludwig, H. Role of interferon alpha. VI. International workshop on multiple myeloma, Boston, 14 - 18.6. 1997, Abstr.
- Malpas, J. S., Bersagel, D. E., Kyle, R. A. *Myeloma: Biology and management*. Oxford, New York Tokyo, 1995, Oxford university press, 581 s.
- Mayer, J., Vorlíček, J. Transplantace kmenových krvetvorných buněk periferní krve. *Vnitřní Lék.* 1995, roč. 41, č. 4, s. 258 - 270.

- Mandelli, F., Avvisati, G., Amadori, S. et al. Maintenance treatment with recombinant interferon alpha2b in patients with multiple myeloma responding to conventional induction chemotherapy. *N. Engl. J. Med.*, 1990, roč. 322, s. 1430 - 1434.
- Mayer, J., Vorlíček, J. Transplantace kmenových buněk periferní krve. Část 1 - 3. *Vnitřní Lék.*, 41, 1995, č. 4, s. 258 - 270.
- Mayer, J., Vorlíček, J. Vysokodávkovaná chemoterapie s transplantací kmenových krvetvorných buněk v komplexní léčbě zhoubných nádorů. Brno, Masarykova univerzita 1977, 70s.
- McCloskey, E. V., MacLennan, I. C. M., Drayson, M. et al. Effect of clodronate on morbidity and mortality in myelomatosis. *Ann. Oncol.*, 1996, roč. 7, Suppl. 5, Abstr. č. 4120.
- McCloskey, E. V., MacLennan, I. C. M., Drayson, M. et al. A randomized trial of the effect of clodronate on skeletal morbidity in multiple myeloma. *Brit. J. Haematol.*, 1998, roč. 100, s. 317 - 325.
- Meckenzie, M. R., Wold, H., George, C. et al. Consolidation hemibody radiation following induction combination chemotherapy in high tumor burden multiple myeloma. *J. Clin. Oncol.*, 1992, roč. 10, s. 1769 - 1774.
- Mehta, J., Ayers, D., Mattox, J. et al. High-dose melphalan and autotransplant in myeloma with renal impairment: a matched pair comparison with patients without renal failure. *Blood*, 1997, roč. 90, č. 10, Suppl. 1, s. 419A, Abstr. č. 1863.
- Moreau, P., Milpied, N., Kergueris, M. F. et al. Pilot study of 220 mg/m<sup>2</sup> followed by autologous stem cell transplantation in 22 patients with advanced multiple myeloma. *Bone Marrow Transplant.*, 1998, roč. 21, Suppl. 1, s. 205A, Abstr. č. 715.
- Mundy, G. R. Myeloma bone disease. *Eur. J. Cancer*, 34, 1998, 2, s. 246 - 251.
- Niesvizky, R., Warrel, R. P. Pathophysiology and management of bone disease in multiple myeloma. *Cancer Investigations*, 1997, roč. 15, č. 1, s. 85 - 90.
- Osterborg, A., Ehrsson, H., Eksborg, S. et al. Pharmacokinetics of oral melphalan in relation to renal function in multiple myeloma patients. *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.*
- Patriarca, F., Fanin, R., Infanti, L. et al. Autologous stem cell transplantation in multiple myeloma: A single centre experience in 34 cases. *Bone Marrow Transplantation*, 1998, roč. 21, Suppl. 1, s. 199A, Abstr. č. 692.
- Peest, D., Deicher, H., Fett, W. et al. Pyridinium cross-links in multiple myeloma: Correlation with clinical parameters and use for monitoring of intravenous clodronate therapy. A pilot study of German Myeloma Treatment Group (GMTG). *Eur. J. Cancer*, 1996, roč. 32A, č. 12, s. 2053 - 2057.
- Peest, D., Deicher, R., Coldewey, R. et al. A comparison of polychemotherapy and melphalan prednisone for primary remission induction and interferon alpha for maintenance treatment, in multiple myeloma. A prospective trial of the German Myeloma Treatment Group. *Eur. J. Cancer*, roč. 31A, č. 2, s. 146 - 151. 1995, roč. 25, s. 899 - 903.
- Powles, R., Cunningham, D., Malpas, J. et al. A randomised trial of maintenance interferon following high-dose chemotherapy in multiple myeloma: Results of 51/2 years after the accrual of the last patient. *Bone Marrow Transplantation*, 1998, roč. 21, Suppl. 1, s. 209A, Abstr. č. 733.
- Ramiah, V., Powles, K., Sumpter, N. et al. A randomised trial of short course consolidation chemotherapy (MRC UKALL X) following high-dose chemotherapy in multiple myeloma. *Blood*, 1997, roč. 90, č. 10, Suppl. 1, s. 407A, Abstr. č. 4578.
- Remes, K., Pelliniemi, T. T., Italia, M. et al. Engraftment and response duration in myeloma patients after CD34+ selected vs unselected ABCT. *Bone Marrow Transplantation*, 1998, roč. 21, Suppl. 1, s. 202A, Abstr. č. 702.
- Roodman, D. Mechanisms of bone lesions in multiple myeloma and lymphoma. *Cancer*, 1997, roč. 80, s. 1557 - 1563.
- Salmon, S. E., Crowley, J. J., Balcerzak, P. et al. Interferon versus interferon plus prednisone remission maintenance therapy for multiple myeloma: A Southwest Oncology Group study. *J. Clin. Oncol.*, 1998, roč. 16, č. 3, s. 890 - 896.
- Ščudla, V. Pokroky v léčbě mnohotného myelomu. *Vnitřní Lék.*, 1997, roč. 43, č. 8, s. 529 - 536.
- Segeren, C. M., Van der Holt, B., Sonneveld, S. et al. VAD administered as intravenous push injection as first line treatment in stage II/III multiple myeloma. *Blood*, 1997, roč. 90, č. 10, Suppl. 1A, 356A, abstr. č. 1591.
- Shipman, C. M., Rogers, M. J., Apperley, J. F. et al. Bisphosphonates induce apoptosis in human myeloma cell lines. A novel anti-tumour activity. *Brit. J. Haematol.*, 1997, roč. 98, s. 665 - 672.
- Schuh, A. H., Littlewood, T. J., Haydon, P. et al. Encephalopathy and haemorrhagic mucositis after high-dose melphalan with peripheral blood stem cell rescue in two patients with impaired renal function. *Bone Marrow Transplantation*, 1998, roč. 21, Suppl. 1, s. 202A, Abstr. č. 703.
- Siegel, D., Mehta, J., Anaissie, E. et al. Prolonged immunosuppression after CD34+ or CD34+/Thy-1+/Lin- selected autologous peripheral blood stem cell transplantation for multiple myeloma. *Blood*, 1997, roč. 90, č. 10 Suppl. 1, s. 112A, Abstrakt č. 487.
- Singhal, S., Powles, R., Milan, S. et al. Kinetics of paraprotein after autografting for multiple myeloma. *Bone Marrow Transplant.*, 1995, roč. 16, s. 537 - 540.
- Tricot, G., Alberts, D. S., Johnson, C. et al. Safety of autotransplants with high-dose melphalan in renal failure: A pharmacokinetic and toxicity study. *Clin. Cancer Res.*, 1996, roč. 2, s. 947 - 952.
- Vesole, D. H., Tricot, G., Jagannath, S. et al. Autotransplants in multiple myeloma: what have we learned? *Blood*, 1996, roč. 88, č. 3, s. 838 - 847.
- Westin, J., Rodjer, S., Turesson, I. et al. Interferon alpha-2b versus no maintenance therapy during plateau phase in multiple myeloma: a randomized study. *Brit. J. Haematol.*, 1995, 89, s. 561 - 568.
- Zervas, K., Pouli, A., Perifanis, V. et al. Maintenance therapy with interferon alpha versus interferon alpha plus chemotherapy in multiple myeloma. *Eur. J. Haematol.*, 1996, roč. 57, s. 142 - 148.
- Zulian, G. B. Current controversies in cancer. Should alpha interferon be included as standard treatment in multiple myeloma? *Contra Eur. J. Cancer*, 1998, roč. 34, č. 1, s. 18 - 22.

## informace

### Univerzitní onkologické centrum Brno

Chceme-li dosáhnout potřebných výsledků v onkologické péči, mezinárodně akceptovaných standardů její organizace a zajištění pokrok v klinické onkologii, je nutné: 1) kvalifikované rozhodování onkologicky orientovaných specialistů řady medicínských oborů o optimálním diagnosticko-léčebném postupu a dalším zajištění nemocného, 2) provázet tyto specializace s vyhraněnými onkologickými disciplínami jako jsou radioterapie, protinádorová chemoterapie a onkologická paliativní medicína, 3) umožnit dostupnost a návaznost teoretických a preklinických oborů s onkologickou problematikou na jednotlivé specializace klinické onkologie, 4) poskytovat přehledné informace o komplexních onkologických službách odborné i laické veřejnosti.

Vynechání nebo nedostatečnost kteréhokoli z uvedených čtyř pilířů současné onkologie brání dosažení nebo udržení potřebné kvality a širší onkologických služeb, univerzitního vzdělávání v onkologii i konkurenceschopnosti při získávání odborných akreditací, grantové podpory a nabídek k odborné spolupráci tuzemské i zahraniční. Protože neexistuje univerzální onkolog a obor klinické onkologie je reprezentován širokým souborem onkologicky orientovaných specialistů, nelze zajistit komplexní onkologický přístup v rámci jednoho pracoviště, nýbrž pouze vzájemnou funkční provázanost jednotlivých subjektů.

Na brněnské univerzitě a ve fakultních nemocnicích jsme dospěli k názoru, že přes značnou klinickou, výzkumnou, vzdělávací a expertní kapacitu pro boj se zhoubnými nádory v Brně a okolí existují rezervy ve vzájemném poznání svých záměrů,

v uvědomění si a rozvinutí možností kooperujících pracovišť a týmů a v provázanosti onkologických činností.

Na základě ujednání vedení lékařské fakulty Masarykovy univerzity v Brně s řediteli Fakultní nemocnice Brno a Fakultní nemocnice U sv. Anny, s podporou děkanů přírodovědecké fakulty a fakulty informatiky MU, ředitelky Biofyzikálního ústavu AV ČR a ředitelů nemocnic U Milosrdných bratří a Brno-venkov bylo po schválení Vědeckou radou LF a MU, Akademickým senátem LF MU a řadě přípravných prací rozhodnuto zřídit s platností od 1. ledna 1999 Univerzitní onkologické centrum v Brně jako funkční celek spojující specializované týmy z klinik, oddělení a laboratoří pro poskytování onkologických služeb v celé širší klinické problematice, pro výuku onkologie a vybrané oblasti výzkumu zhoubných novotvarů. Od počátku roku 1999 bylo také na LF MU v Brně schváleno postgraduální studium v oboru onkologie. Horizontální způsob koordinace práce v rámci UOC nikterak nenarušuje vertikální řízení, kompetence a vnitřní pravidla zúčastněných pracovišť. Cílem je dosáhnout způsobu práce, který usnadní orientaci lékařům i onkologicky nemocným, umožní formulovat společné programy a vystupovat navenek jako homogenní interdisciplinární tým onkologicky profilovaných odborníků s akreditací Masarykovy univerzity v Brně.

O koncepci Univerzitního onkologického centra (UOC), strukturu a nabídku jeho klinických služeb, rámcových programech a jeho činnosti získají zájemci informaci na internetových stránkách na adrese: <http://www.med.muni.cz/uoc/>

Koordináční rada UOC Brno



# KONFORMNÍ RADIOTERAPIE – NADĚJE A SOUČASNÁ REALITA

## CONFORMAL RADIOTHERAPY – HOPE AND PRESENT REALITY

KULHAVÝ M.\*, ZÁMEČNÍK J.\*\*

\* RADIOTERAPEUTICKÁ A ONKOLOGICKÁ KLINIKA FAKULTNÍ NEMOCNICE KRÁLOVSKÉ VINOHRADY

\*\* ÚSTAV RADIACNÍ ONKOLOGIE, PRAHA 8

**Souhrn:** Autoři uvádějí základní pojmy, indikace, dosavadní klinické výsledky, stejně jako koncepční omezení třídimenzionální konformní radioterapie. Zdůrazňují, že při zavádění a použití této techniky do široké klinické praxe je nutno zohlednit mnoho požadavků komplexní povahy.

**Klíčová slova:** konformní radioterapie, třídimenzionální plánování léčby

**Summary:** Basic terms, indications, present clinical results as well as conceptional constraints of three-dimensional conformal radiotherapy are presented. The authors highlight the complexity of requirements which are necessary to be taken into account while introducing this technique into wide clinical practice.

**Keywords:** conformal radiotherapy, three-dimensional treatment planning

### Úvod

Třídimenzionální konformní radioterapie (3DCRT) je často zmiňována jako nadějný prostředek ke zlepšení léčebných výsledků při léčbě maligních onemocnění. Vzhledem k tomu, že jde o termín poměrně nový, považujeme za užitečné informovat o problematice, současných možnostech a dosavadních výsledcích použití této metody. Úvodní nadšení, které téměř pravidelně provází uvedení nové metody do praxe, je často doprovázeno částečnou slepotou vůči problémům, tuto novou metodu zákonitě provázejícím. Po „procitnutí“ je zřejmá tendence k přehnané kritice, popřípadě odsouzení nového léčebného způsobu. K vyváženému stanovisku se často bohužel dospěje až po poměrně dlouhé době. Tuto dobu je v zájmu nemocných, zdravotnického personálu i celého systému zdravotnictví záhodno zkrátit na minimum. Do konformní radioterapie jsou vkládány velké naděje. Jelikož je však její realizace spojena s nemalými problémy a náklady, je nutno zodpovědně uvážit, jestli jsou na základě dosavadních znalostí a zkušeností tato očekávání v blízké budoucnosti reálná<sup>1</sup>.

### Definice a příčiny vzniku 3DCRT

Přes poměrně dlouhé období vývoje 3DCRT jednoznačná definice 3DCRT zatím není k dispozici<sup>2</sup>. Důvodem je to, že přechod do komplikovanější „standardní“ radioterapie ke 3DCRT je plynulý a nejednoznačný. Při použití kolika polí se tedy už jedná o konformní radioterapii? Jak měřit komfortu ozařovacího plánu? Pokusy, vyvinout jednoduché měřítko, tzv. „index konformity“ nejsou zatím zcela uspokojivé<sup>3</sup>. Pro klinické použití je navíc nutno doplnit tento kvocient predikcí biologického efektu (tumour control probability- TCP a normal tissue complication probability-NTCP).

Za dostatečnou definici 3DCRT pro potřeby tohoto textu nabízejme: *Technika radioterapie, při které je třídimenzionálně definovaný cílový objem homogenně ozařen vysokou dávkou, přičemž okolní zdravé tkáně jsou vystaveny podstatně menší dávce záření. Oblast prudkého spádu dávky těsně sleduje cílový objem.*

Příčinou uvedení 3DCRT do praxe je pokus o zvýšení účinku radioterapie eskalací dávky při zachovaném nebo zlepšeném terapeutickém indexu<sup>4,5</sup>. Není těžké pochopit i pro neodborníka, že při zvyšování dávky záření je efekt léčby, v tomto případě zabití maligních buněk, větší. Snad mimo extrémně radiosenzitivních tumorů byla eskalace dávky opakovaně prokázána jako žádoucí při radioterapii mnoha tumorů.

Lokální, popřípadě lokoregionální kontrola je (kromě hemoblastóz) prvním předpokladem vyléčení dosud negeneralizovaných malignit. Pro omezenou účinnost systémové terapie se na chemo- nebo hormonoterapii bohužel nelze spolehnout při eliminaci lokoregionální choroby. Skutečně účinná lokoregionální terapie přitom ve většině případů zlepšuje lokální/lokoregionální kontrolu, snižuje incidenci vzdálených metastáz, prodlužuje celkové přežití a zlepšuje kvalitu života.

Zvýšení dávky záření samo o sobě není žádným problémem. Překážkou eskalace dávky je incidence závažných toxických projevů radioterapie při aplikaci velmi vysokých dávek záření. Vzhledem k tomu, že různé zdravé tkáně mají různou determinovanou i – např. na základě radiobiologických poznatků – ovlivnitelnou radiosenzitivitu (bližší rozbor je mimo rámec tohoto sdělení), je definice „velmi vysoké dávky“ obtížná.

V dalším textu vycházíme pro srozumitelnost z toho, že u omezeně radiosenzitivních tumorů je při stejné nebo alespoň po únosnou míru zvýšené toxicitě v zásadě žádoucí zvýšit dávku záření. Toxicitou rozumíme poškození zdravé tkáně, kritických orgánů a velikostí prozářeného objemu.

### Podmínky pro vývoj 3DCRT

Koncept 3DCRT byl umožněn především pokrokem v inženýrství a počítačové technice – viz. tab. 1.

První podmínkou pro uplatnění třídimenzionálního konceptu ozařování bylo zavedení „třetího rozměru“ do praxe diagnostických zobrazovacích technik<sup>6</sup>. Radioterapie zprvu reagovala pouze přijetím této zpřesněné diagnostiky do svých dvou-dimenzionálních úvah, popřípadě tyto informace zahrnovala do tzv. pseudotřídimenzionálního plánování radioterapie.

**Tabulka 1.**  
Technické prostředky pro plánování 3DCRT

|                                                                                |
|--------------------------------------------------------------------------------|
| CT, MRI, PET                                                                   |
| rychlé grafické stanice                                                        |
| multileaf kolimátory                                                           |
| možnost „beam's eye view“                                                      |
| histogramy dávka-objem                                                         |
| on-line zobrazovače ozařovaného pole (electronic portal imaging devices-EPIDs) |
| nové algoritmy distribuce dávky                                                |
| automatické ozařovače, ovládané počítačem                                      |

Teprve zavedením nových plánovacích systémů byla umožněna plná implementace třetího rozměru do plánování ozařování.

Počítače hrají zásadní roli při vývoji a praxi moderního plánování radioterapie. Podobně jako byl zpětně urychlen vývoj počítačové techniky samotnými počítači, pokračoval závratně rychle i vývoj plánovacích systémů. Problémy se projevily teprve se zpožděním, po předběžném vyhodnocení prvních zkušeností. V čem se liší standardní, „klasické“ ozařování od 3DCRT? Už při určení cílového objemu a rizikových orgánů/struktur jsou zřetelné rozdíly v přísném zhodnocení třetího rozměru a zvýšeném důrazu na přesnost. Tato přesnost není samoúčelná, nýbrž je naprosto nezbytná. Prudký spád dávky v relativně těsné blízkosti cílového objemu totiž při prostorových odchylkách v aplikaci záření, které by jinak sotva byly klinicky významné, prudce mění terapeutický index. Negativní dopad oproti „standardní“ radioterapii v takovém případě může být hned dvojitý: 1. část cílového objemu je ozařena výrazněji suboptimální dávkou (zvýšené riziko až jistota persistence tumoru), 2. část zdravých tkání je ozařena vyšší dávkou, než v nejhorším případě nepřesné „klasické“ radioterapie, protože jsme zvýšili dávku záření (viz výše).

## Příprava a provedení konformní radioterapie

### Předpoklady

Pracoviště, které chce provádět 3DCRT, musí mít k dispozici vhodné technické vybavení. Protože v zásadě platí, že úroveň požadované „konformity“ se může pracoviště od pracoviště podstatně lišit podle finanční i personální situace a spektra malignit léčených pacientů, je i nutné přístrojové vybavení variabilní<sup>7</sup>. Za základní součásti plánovacího systému je nutno pokládat především speciální, popřípadě upravený CT přístroj, eventuálně MR, 3DCRT plánovací počítač a program pro výpočet histogramů dávka-objem (DVH). Některé ukazatele, které je při výběru vhodných přístrojů třeba dodržet, jsou uvedeny v tab. 2. Např. nutnost přiřazení Hounsfieldových jednotek prakticky vylučuje jiný než on-line nebo pseudo-on-line přenos obrazových dat mezi CT/MR přístrojem a plánovacím počítačem. Je nutné mít na zřeteli, že vzhledem k rychlému spádu dávky a úzkému „bezpečnostnímu lemu“ je třeba vzít

**Tabulka 2.**  
Požadavky na plánovací systém 3DCRT

|                                                                                   |
|-----------------------------------------------------------------------------------|
| Fixace pacienta v poloze, identické s ozařovací polohou                           |
| Volumetrické snímky cílového objemu a rizikových orgánů                           |
| Přesně paralelní vrstvy                                                           |
| Ortogonalita k podélné ose                                                        |
| Konstantní tloušťka vrstev                                                        |
| Přesně odpovídající a konstantní faktor zvětšení                                  |
| Linearita v ose X, Y i Z                                                          |
| Automatické přiřazení Hounsfieldových jednotek                                    |
| On-line nebo srovnatelný přenos dat z CT nebo MR do plánovacího systému           |
| Zpracování dat a příprava třídídimenzionálního souboru údajů v plánovacím systému |

v úvahu i změny polohy a objemu tkání a orgánů s dýcháním a dalšími fyziologickými funkcemi, popřípadě následkem progresu nebo naopak zmenšování tumoru<sup>8</sup>. Dalším, často opomíjeným problémem je to, že CT a tím spíše MR snímky mohou být poměrně značně nepřesné i z hlediska linearity<sup>9, 10</sup>. Je zpravidla na radiačním fyzikovi na takové nebezpečí upozornit.

Pro exekutivní fázi třídídimenzionální teleterapie je samozřejmě moderní lineární urychlovač s příslušenstvím, který při správné obsluze zajistí bezchybnou aplikaci vytvořeného plánu na pacientovi.

Jelikož se u 3DCRT stále jedná do značné míry o experimentální metodu, předpokládá se i vývoj a přísné dodržování relevantních léčebných protokolů včetně pečlivé evidence výsledků a toxicity terapie.

Základní personální požadavky jsou uvedeny v tab. 3.

**Tabulka 3.**  
Základní personální předpoklady 3DCRT

|                                                  |
|--------------------------------------------------|
| Erudovaný radiační onkolog                       |
| Erudovaný fyzik                                  |
| Zkušené ozařovací laborantky                     |
| Technik                                          |
| Spolupracující specialisté – radiodiagnostika... |

### Stanovení cílového objemu a rizikových orgánů

Tuto část procesu musí v každém případě provádět radiační onkolog, jelikož jde o postup, který spojuje jak třídídimenzionální vidění, vlastní anatomické, fyziologické, patofyziologické i onkologické znalosti, stejně jako klinickou zkušenost. I když si lze částečně pomoci některými technickými finisami, jako např. kopírování a editování obrysů, rychlá 3D vizualizace některých anatomických poměrů..., jedná se o proceduru často velmi náročnou na čas<sup>11, 12</sup>. Čím přesnější chceme být, tím více řezů (a zakreslených objemů) v dané sekci musíme použít. Naopak při použití příliš „řídých“ řezů se může stát, že naší pozorností unikne část cílového objemu se všemi negativními následky. Nelze poskytnout přesné pokyny. Znalosti a zkušenost jsou hlavním vodítkem při požadavku dostatečné přesnosti a klinickým významem. Pro radiačního onkologa jistě není hanbou v nejasných případech požádat o pomoc radiodiagnostika při ozřejmění struktur na CT nebo MR řezu. Naštěstí jsou ve vývoji i klinickém zkoušení postupy automatizovaného rozpoznávání anatomických struktur, které snad v budoucnu dále zlehčí tento časově náročný postup<sup>13, 14</sup>.

### Vypracování ozařovacího plánu

#### Stanovení ozařovacích polí

Při určení, jakými poli budeme ozařovat, musíme stanovit několik ukazatelů jako např. velikost pole, umístění a úhel centrálního paprsku, vážení (zatížení jednotlivých polí), bloky... Často se jedná o rutinní proces, který je však nutno pro zavedení moderní techniky podstatně revidovat.

Základní integrální součástí vývoje moderních plánovacích systémů 3DCRT je umístění a tvarování svazku záření pomocí „beam's eye view“. Tato pomůcka podstatně usnadňuje, popřípadě umožňuje i non-koplanární umístění ozařovacích polí. Málo radiačních onkologů si po dlouholeté praxi s „klasickým“ plánováním uvědomuje, že při směřování polí není nutno vycházet z transverzální roviny, popřípadě komplikovaně polohovat pacienta, jako je tomu při standardní radioterapii např. v oblasti hypofýzy. Revize prakticky všech „standardních“ technik je nutná nejen z důvodu dosažitelnosti pokročilejší techniky, ale především proto, že v mnoha případech pracujeme se zvýšenou (alespoň biologicky) dávkou záření. I další faktory, jako např. stále častěji aplikovaná konkomitantní chemoterapie, mohou podstatně zvyšovat toxicitu a vyžadovat pokročilejší plánování ozařování.

Běžný postup při stanovování ozařovacích polí je založen na

technice pokusu a omylu, tedy postupným přibližování k přijatelnému řešení. Jde o časově náročnou a obtížnou činnost, zejména při větším počtu polí, blízkosti kritických struktur a komplikovaném tvaru cílového objemu. Řešením tohoto problému by mohlo být tzv. inverzní plánování, kdy jsou ozařovací pole odpovídajících vlastností vypočítána pomocí výkonných computerů a vhodných algoritmů přímo na základě klinicky indikované dávky v cílovém objemu a blízkých zdravých tkáních. Ukazuje se, že „automaticky“ vytvořené plány mohou být přinejmenším stejně kvalitní, někdy dokonce i lepší, než plány vyvinuté standardní metodou zkušeným radiačním onkologem a fyzikem<sup>15, 16</sup>. Obzvláště je tato metoda vhodná tam, kde lidský faktor do značné míry selhává pro komplikovanost problému – při použití multileaf kolimátoru v dynamickém modu<sup>17</sup>. Přesto není inverzní plánování vhodné v každé klinické situaci<sup>18</sup>.

Zajímavá je problematika bloků. Multileaf kolimátory podstatně zjednodušily a zrychlily jednak výrobu a klinické použití individuálních bloků, jednak byla jejich nasazením umožněna technika dynamického bloku a dynamický režim tzv. modulace intenzity v ozařovacím poli. Poznámka: I když se pojem *modulace intenzity v ozařovacím poli* běžně používá ve spojení s multileaf kolimátory, spíše by příslušel metodě modulace svazku záření blokem o variabilní tloušťce v závislosti na anatomických poměrech pacienta – tzv. field-integrated dose modification (FIDM)<sup>19, 20</sup>. Protože se ale FIDM (nesměšovat s jednoduchým klínem!) zatím příliš široce neujala, bude pojem modulace intenzity v ozařovacím poli zřejmě nadále spojen s 3DCRT.

I když lze konformní radioterapii provádět s klasicky zhotovenými, tedy litými bloky, je multileaf kolimátor v případě 3DCRT téměř ideálním prostředkem<sup>21</sup>. Obzvláště při použití většího počtu polí je individuální manuální zhotovení každého bloku velmi pracné<sup>22</sup>. Při vlastním ozařování je navíc nutno po ozaření každého pole otevřít ozařovnu a blok vyměnit, což značně snižuje „průchodnost“ radioterapeutického přístroje. 3DCRT, prováděná v dynamickém modu, je možná prakticky výhradně s multileaf kolimátory.

Ve fázi optimalizace, event. porovnání a výběr nejlepšího z navržených plánů je zvláště důležitá detailní znalost radio-tolerance rizikových struktur v oblasti nebo v těsné blízkosti cílového objemu. V této fázi jsou velmi cennou pomůckou histogramy dávka-objem. Umožňují přesnou kvantifikaci části cílového objemu i objemu rizikových orgánů, zatížených určitou dávkou. Biofyzikální modelování výsledků léčby, pro které jsou údaje DVH základním činitelem, umožnilo v některých případech přesnější odhad pravděpodobnosti eliminace tumoru i incidence toxicity<sup>23, 24, 25, 26</sup>.

#### **Stanovení dávky, frakcionace, rozložení v čase**

Jak už bylo uvedeno, je výše dávky, stejně jako frakcionace a celková délka ozařování často kompromisem mezi žádaným efektem a očekávanými nebo skutečně pozorovanými toxickými účinky terapie. Vzhledem k tomu, že je všechny aspekty ozařování nutno chápat komplexně, je často na konci plánovacího procesu nutno dávku/frakcionaci/čas modifikovat. Až tehdy je totiž známa míra zavzetí zdravých orgánů do cílového objemu.

#### **Aplikace plánu na konkrétním pacientovi – vlastní 3DCRT**

Jako první předpoklad úspěšné realizace optimalizovaného ozařovacího 3DCRT plánu je bezchybná a jednoznačně reprodukovatelná immobilizace. Jelikož se metody immobilizace liší podle orgánu nebo části těla, ve které se nachází cílový objem a dalších ukazatelů (technická a finanční náročnost, dostupnost, zkušenosti a preference pracoviště...) <sup>27</sup>, nebudeme se touto otázkou blíže zabírat.

Dalším stupněm procesu je přenesení plánu na pacienta, obvykle především stanovení projekcí izocentra. K tomu slouží referenční body, označené na pacientovi ve fázi prováděného plá-

novacího CT/MR a simulace<sup>28</sup>. Následuje event. zakreslení vstupních polí, ověření nastavení a pravidelné verifikace. V indikovaných případech dozimetrie *in vivo*.

#### **Potenciální problémy při použití 3DCRT**

##### **Stanovení cílového objemu**

Možná nejobtížnější problém při implementaci 3DCRT spočívá v přetrvávající nejistotě při stanovení cílového objemu. Základním krokem každé radioterapie je stanovení cílového objemu (velikosti, tvaru, topografických vztahů k okolí – lokalizace). I při stanovení cílového objemu u konformní radioterapie postupujeme od GTV (Gross Tumor Volume), tj. objem nádorového ložiska, který můžeme dostupnými vyšetřovacími metodami (palpace, CT, NMR aj.) s určitou mírou přesnosti stanovit. K tomuto objemu je nutno přičíst okraj (lem, margin) předpokládaného subklinického šíření nádoru objektivně nezjistitelného (bezpečnostní lem). To je klinický krok při předpisu ozařování. K tomuto klinickému cílovému objemu je nutno přičíst další zónu – z technického hlediska (nepřesnost výpočtu, změna v topografických vztazích k okolí jak vzniká při dýchání, peristaltice aj., pohyby pacienta a přesnost nastavení polí). Tak dostaneme PTV (Planning Treatment Volume). Při stanovení objemu kritických orgánů musíme rovněž přičíst technický lem.

Takže všechny výše uvedené parametry zvětší konečný cílový objem od GTV přes CTV až k PTV. Jsou to parametry s výhradou subjektivní, závislé na empirii a zkušenostech lékaře a fyzika, na pečlivosti a přesnosti nejen plánování a zaměření, ale též na každé reprodukci ozaření. Naproti tomu stojí vysoká technická přesnost 3DCRT. Vzhledem k omezeným diagnostickým zobrazovacím metodám před zavedením především CT a MRI do běžné praxe si radiační onkologové při stanovení cílového objemu často vypořádali normálními radiokontrastními anatomickými strukturami, většinou skeletem. Dodnes se i u seriózních autorů setkáváme s doporučeními, která se jednoznačně opírají o kostěné struktury<sup>29</sup>. V některých případech to má své dobré důvody. Subklinické šíření zatím spolehlivě nezobrazí žádná z uvedených metod a normální struktury nejsou často s dostatečnou přesností postižitelné – např. spádová lymfatika orgánů. Pakliže by toho další metody nakrásně i schopné byly, zůstává problém, jak tuto informaci s dostatečnou přesností přenést do 3-D systému, vhodného k plánování 3DCRT. Přesto – ať přímo nebo přeneseně – je CT a komplementární MR ve spojení s dalšími klinickými údaji nejdůležitějšími zdroji prostorových informací pro plánování 3DCRT<sup>10, 30</sup>. Výsledky dalších relevantních vyšetřovacích metod je samozřejmě nutno do zakreslovaného cílového objemu zakomponovat.

U normálních „kritických“ tkání a orgánů je situace příznivější především vzhledem k jejich relativně pravidelnému nebo alespoň dobře odhadnutelnému tvaru, velikosti a poloze.

Námítka, že při stanovení cílového objemu jde o proceduru manuální a náročnou na čas, je jen chabým argumentem. Pakliže neurochirurg věnuje několik hodin detailní práci jednému pacientovi, aby dosáhl nejlepšího výsledku, nevidíme důvod, proč by radiační onkolog nemohl nebo neměl vynaložit přinejmenším stejnou námahu při základní proceduře, která často rozhoduje o pacientově osudu. Dostupnost adekvátní techniky je zde samozřejmým předpokladem.

Částečné zjednodušení a zrychlení plánování může přinést použití standardizovaného plánu, který se pouze upraví podle individuálních poměrů pacienta – tzv. *class solution*<sup>1</sup>. Předpokladem úspěšné aplikace této techniky je podobnost anatomie tumoru i normálních struktur mezi jednotlivými pacienty.

Standardizace, jakkoliv komplikovaná a obtížná, je pro stanovení cílového objemu eminentně žádoucí. Vzhledem k prudkému spádu dávky v okolí cílového objemu mohou mít zásadní vliv na výsledky terapie i relativně malé změny ve stanovení PTV. Malá standardizace radioterapie, která je stálým

a z části oprávněným terčem kritiky ze strany ostatních onkologických specialistů, má další možnost k napravení reputace. Navíc standardizace zjednoduší porovnávání výsledků mezi pracovišti.

Velkým problémem při definici cílového objemu je nejistota, zdali jednou detailně zachycená anatomická situace (např. na CT a/nebo MRI) se může stát základem pro celou ozařovací sérii. Je známo, že mnoho tkání a orgánů podstatně mění během krátké (dýchání, sekrece, distenze...) nebo delší doby (edém, ztráta tukových zásob, odstranění překážky v dýchacích cestách a korekce atelektázy...) svůj tvar, velikost i lokalizaci. Pro ilustraci lze jmenovat extrémní případ, kdy se část tenkého střeva může během několika minut posunout mimo středně velký cílový objem. I při zachování všech zásadních kautel (přehled v6) je nutno mít toto riziko na zřeteli<sup>31</sup>. Pravidelné verifikace poskytují jen částečnou záruku správné aplikace. V indikovaných případech je nutno zobrazovací metody opakovat a plán změnit i v průběhu ozařovací série.

V mnoha klinických situacích je zřejmě vhodným východiskem z dilematu rizika nepřesného zakreslení cílových a rizikových objemů a potřebou aplikovat vysokou dávkou záření progresivní zmenšování cílového objemu během ozařovací série. Vysoká dávka je pak za dodržení přísných kautel 3DCRT aplikována do minimálního cílového objemu. Situace, která přímo volá po standardizaci.

### **Nebezpečí chybného nastavení**

Podobným kritickým faktorem správného provedení 3DCRT je přesná pozice pacienta/části tělesného objemu při každé frakci ozařování. U relativně pevných struktur (např. lebka, oblast ORL) je nastavení možné s malou tolerancí. Bezpochyby větší toleranci je nutno zohlednit např. v plicích nebo GIT. Tím je ovšem v těchto lokalizacích koncept 3DCRT částečně zpochybněn (viz výše). Pomocí snad mohou do určité míry být metody přesného a reprodukovatelného nastavení s použitím videotechniky<sup>32</sup>.

U automatizované radioterapie, kdy po počátečním nastavení pacienta do třidimenzionálního souřadnicového systému přebírá každé nastavení ozařovacích polí počítač, je každá nepřesnost o to závažnější.

### **Ověření správného nastavení na ozařovači (verifikace)<sup>33</sup>**

Dalším rizikovým faktorem mnoha složitějších plánů 3DCRT je obtížná verifikace. Klasický jednoduchý postup, tedy vizuální porovnání simulačních snímků se snímkem pořízenými vlastním ozařovacím přístrojem, často selhává. Důvodem je mnohdy velmi nesnadné vyhodnocování snímků v šikmých transverzálních a non-koplanárních projekcích. Dozimetrická verifikace je opět o úroveň složitější<sup>34</sup>.

### **Zvýšení ekvivalentní dávky**

Po rozšíření megavoltové radioterapie do široké praxe byla otázka ekvivalentní dávky odsunuta do pozadí<sup>35</sup>. K dosažení dostatečné hloubkové dávky při přijatelné toxicitě bylo totiž většinou možno použít menší počet ozařovacích polí. 3DCRT, která z důvodu strmého spádu dávky v okolí cílového objemu a dobrého sledování cílového objemu referenční izodózou často používá větší počet ozařovacích polí pod různým úhlem, někdy i non-koplanárně, má samozřejmě tendenci integrální dávku zvyšovat. Integrální dávka je důležitá především z hlediska zvýšení rizika radiačně indukovaných malignit. Proto se v poslední době zdůrazňuje, aby byl při implementaci 3DCRT brán v úvahu i tento faktor, především u fotonových svazků o energii nad 10 MV<sup>36</sup>.

### **Etika**

3DCRT s sebou samozřejmě přináší i několik specifických etických otázek. Bude po předběžném zjištění tolerance vyšší dávky eticky přijatelné randomizovat pacienty do skupiny s menší dávkou záření? Ale: neměla by být prospěšnost této

metody jednoznačně prokázána dříve, než se uplatní v široké praxi? Jsou zvýšené náklady obhájitelné? Jako v podobných případech, bude zřejmě i zde rozhodující bezchybná indikace a provedení techniky, stejně jako vysoké náklady, spojené se selháním protinádorové terapie<sup>37, 38</sup>. 3DCRT je zřejmě pouhým plýtváním prostředků u případů s vysokou pravděpodobností vývoje vzdálených metastáz, u velmi radiosenzitivních i velmi radiorezistentních tumorů.

### **Koncepční omezení 3DCRT**

I při bezchybném provedení má 3DCRT své jasné limity. Pakliže akceptujeme – ať už z jakéhokoliv důvodu – koncept bezpečnostního lemu (možná nepřesnost při stanovování cílového objemu, pravděpodobnost přítomnosti tumoru pod hranicí ditikovatelosti zobrazovacími metodami, změna objemu a tvaru orgánů, chyba nastavení...), nevyhneme se při stanovování cílového objemu a následném ozáření vysokou dávkou zavazetí zdravých orgánů v těsné blízkosti tumoru<sup>16, 39</sup>. To je vzhledem k předpokládanému menšímu objemu tkání zdravých orgánů, ozáření vysokou dávkou, většinou přijatelné v situacích, kdy je aplikovatelný koncept tzv. paralelní architektury tkání<sup>40</sup>. V situacích, kdy jde o opačný charakter rizikových struktur, je situace často velmi obtížná a dilema značné<sup>41</sup>.

### **Výběr maligních lézí, vhodných pro konformní radioterapii a výsledky klinických studií**

Protiklad subjektivního a objektivního vstupu při plánování konformní radioterapie předurčuje její klinické využití<sup>2</sup>. Týká se to zejména případů, kde lze marginální zvětšování cílového objemu minimalizovat zejména v klinickém kroku (subklinické šíření), ale i v technickém kroku (fixace pacienta, pohyby cílového objemu). Širší uplatnění 3DCRT se tedy zatím omezilo na léze, kde je přesné stanovení cílového objemu relativně snadné a spolehlivé – především tumory prostaty, CNS a oblasti ORL<sup>42, 43</sup>. Zde uvádíme jen několik příkladů klinických studií. Lze předpokládat, že se zvyšující se účinnosti systémové terapie, která by mohla efektivně postihnout i regionální chorobu, se aktivní indikační spektrum rozšíří.

Zdaleka převládají studie s 3DCRT karcinomu prostaty. A to hned z několika důvodů: vysoká incidence, relativně zřetelné ohraničení orgánu/tumoru, blízkost orgánů, snadno hodnotitelných z hlediska akutních i chronických účinků efektů záření a možnost biochemického sledování. U karcinomu prostaty proběhla celá řada studií, které se zaměřily především na hodnocení toxicity ve smyslu tzv. „dose-escalation study“ – viz tab. 4. I přes podstatné zvýšení celkové dávky (někdy přes 80 Gy) bylo v těchto studiích konstatováno nízké riziko vážných chronických komplikací, pouze do 3%. To dokonce vedlo Sandlera et al.<sup>54</sup> k dalšímu zvýšení dávky (i když v tomto případě hyperfrakcionací) až k „neslýchaným“ 87,4 Gy fyzikální dávky. Na výsledky kontrolovaných randomizovaných klinických studií, hodnotících lokální kontrolu a přežití si však budeme muset ještě nějakou dobu počkat. Než budou k dispozici, je nutno být na pozoru před překotnou redukcí cílového objemu<sup>44</sup>.

Radioterapie je u lokálně a lokoregionálně pokročilého nemalobuněčného karcinomu plic základní léčebnou metodou. Při aplikaci „standardních“ dávek jsou však výsledky neuspokojivé. Medián přežití se udává kolem 10 měsíců a pětileté přežití 5–10 %. Vlnu na tom nemá jen velká tendence k zakládání vzdálených metastáz, ale i velmi vysoké procento lokálního selhání. Arriagada et al. srovnávali ve své bezchybně provedené studii účinnost razantní kombinované chemoradioterapie se samostatným ozařováním<sup>45</sup>. Ačkoliv byla u skupiny, léčené kombinovanou terapií, zjištěna statisticky významně nižší incidence vzdálených metastáz (45% vs 67%,  $p < 0.001$ ), procento lokální kontroly bylo podobné (17% vs 15%). Zvýšení efektu lokální terapie je tedy u onemocnění s tak vysokou incidencí eminentně důležité.

Tabulka 4. Výsledky studií 3DCRT karcinomu prostaty

| Autor                                       | Soubor                  | Dávka (Gy)                      | Doba sledování (medián, měsíce) | Výsledek                                                   | Poznámka                                                  |
|---------------------------------------------|-------------------------|---------------------------------|---------------------------------|------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|
| Sandler HM et al, 1995 <sup>54</sup>        | 721 (537 T 1/T2)        | 59,4–80,4 (medián 68,4)         | 20,4                            | 3% Gr. 3/4 toxicita v 5 letech                             | Retrospektivní hodnocení                                  |
| Leibel et al., 1996 <sup>17</sup>           | 600                     | 64,8–66,6; 70,3; 75,6; 80,1     | 36                              | 3-y bNED 92% pro favourable group, 0,7% Gr. 3/4 toxicita   | Dose-escalation study                                     |
| Forman JD et al, 1996 <sup>56</sup>         | 49, „lokálně pokročilé“ | 78; 82,8 (obě hyperfrakcionace) | 20                              | 0% Gr. 3/4 toxicita                                        | Dose escalation study. Plánovaná eskalace dávky na 87,4Gy |
| Pollack A et al, 1996 <sup>56</sup>         | 60 (T2–T4)              | 78 vs 70                        | 36                              | 0% Gr. 3/4 toxicita                                        |                                                           |
| Zierhut et al., 1997 <sup>57</sup>          | 32 pts B2/C             | 63,9 +4,9                       | 20                              | 0% Gr. 3/4 toxicita. 1 relaps                              |                                                           |
| Fukunaga- Johnson et al, 1997 <sup>58</sup> | 707 (603 T1/T2)         | 69 (medián)                     | 36                              | 75%–84% 5-y bNED pro favourable group. 3% Gr. 3/4 toxicita | Retrospektivní hodnocení                                  |
| Pollack A et al, 1997 <sup>59</sup>         | 938 (T1–T4)             | 60–70 vs 74–78                  | 40                              | Evidentní závislost bNED na dávce                          |                                                           |

Komplikovaný a naprosto odlišný charakter a spektrum očekávané toxicity při ozařování plicní léze ve srovnání s tumorem prostaty zpochybnil výsledky klinických studií<sup>46</sup>. Aplikace inverzní metody plánování je obtížnější<sup>18</sup>. Sibley et al. aplikovali standardní dávku 60–70 Gy (medián 66 Gy) technikou 3DCRT u 37 pacientů stádia III<sup>47</sup>. Zjistili velmi dobrou toleranci – jen u 2 pacientů se vyvinula přechodná pneumonitida. V plánu je eskalace dávky. Tuto provedli důsledným způsobem Robertson et al<sup>48</sup>. Do oblasti makroskopického tumoru aplikovali až 92,4 Gy a v předběžné zprávě uvádějí, že se u žádného pacienta nevyvinuly klinické známky radiační pneumonitidy. Naopak Graham et al. varují před razantní eskalací dávky<sup>49</sup>. Zdá se, že odhady rizika komplikací jsou zásadně závislé na velikosti ozařovaného objemu<sup>50, 51</sup>.

U tumorů ORL oblasti je oproti karcinomu prostaty i plic situace technicky snažší z důvodu preciznější a jednodušší immobilizace. Stále ovšem přetrvává značná nejednotnost v indikacích a velikosti ozařovaného objemu při elektivní iradiaci krku. To je ovšem pro aplikaci konformní radioterapie zásadní nedostatek<sup>52</sup>. Nádory CNS jsou v mnoha případech dobře definované zobrazovacími metodami a zaměření může být velmi přesné. To vedlo k vývoji radiochirurgických technik, které se uplatňují jak

u benigních i maligních nádorových onemocnění, tak u cévních malformací. 3DCRT je však v mnoha případech u maligních tumorů vážným konkurentem radiochirurgie. Např. pouze u asi 20 % případů maligního astrocytomy je možno účinně aplikovat radiochirurgický přístup<sup>46</sup>. Jednorázové ozaření je evidentně nevýhodné z radiobiologického hlediska. Navíc pokrok ve fyzice a robotice do značné míry setřel technologické výhody radiochirurgie<sup>53</sup>. Klinické studie s 3DCRT u tumorů CNS jsou zatím v začátcích.

#### Závěr

Všeobecně je možno říci, že předběžné výsledky 3DCRT jsou slibné, avšak vzhledem k charakteru klinických studií v radioterapii je nutno ve většině případů označit za předběžné. Je nepochybné, že klíčem k úspěchu při aplikaci konformní radioterapie je široké erudice radiačního onkologa, podložená zkušeností v klasické moderní radioterapii. Solidní zázemí, především v týmu radiačních fyziků a zkušených ozařovacích laborantek, je nepostradatelné. Snaha o aplikaci 3DCRT bez těchto předpokladů je velice problematická, popřípadě zatížená vysokým rizikem poškození pacienta. Nezbytné jsou extenzivní preklinické i klinické testy.

#### Literatura

- Ling C. C., Fuks Z.: Conformal radiation treatment: a critical appraisal. *Eur. J. Cancer* 31, 1995, 799–803.
- Dahl O., Kardamakis D., Lind B., Rosewald J. C.: Current status of conformal radiotherapy. *Acta Oncol.* 35, 1996, 41–57.
- van't Riet A., Mak A. C., Moerland M. A., Elders L. H., van der Zee W. A.: Conformantion number to quantify the degree of conformality in brachytherapy and external beam irradiation: application to the prostate. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 37, 1997, 731–736.
- Vijayakumar S., Chen G. T.: Implementation of three dimensional conformal radiation therapy: prospects, oportunities, and challenges. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 33, 1995, 979–983.
- Levitt S. H., Khan F. M., Higgins P. D., Nierengarten M. B.: Cost-benefit analysis of 3D conformal radiation therapy. *Strahlenther. Onkol.* 173, 1997, 441–443.
- Glatstein E., Lichter A. S., Fraass B. A., van de Geijn J.: The Imaging Revolution and Radiation Oncology: Use of CT, Ultrasound, and NMR for Localization, Treatment Planning and Treatment Delivery. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 11, 1985, 299–314.
- Kolitsi Z., Dahl O., Van Loon R. et al.: Quality assurance in conformal radiotherapy: DYNARAD consensus report on practice guidelines. *Radiother. Oncol.* 45, 1997, 217–223.
- Kubo H. D., Hill B. C.: Respiration gated radiotherapy treatment: a technical study. *Phys. Med. Biol.* 41, 1996, 83–91.
- Schad L., Lott S., Schmitt F., Sturm V., Lorenz W. J.: Correction of Spatial Distortion in MR Imaging: A Prerequisite for Accurate Stereotaxy. *J. Comput. Assist. Tomogr.* 11, 1987, 499–505.

- Khoo V. S., Dearnaley D. P., Finnigan D. J., Padhani A., Tanner S. F., Leach M. O.: Magnetic resonance imaging (MRI): considerations and applications in radiotherapy treatment planning. *Radiother. Oncol.* 42, 1977, 1–15.
- Goitein M., Abrams M.: Multi-dimensional treatment planning: I. Delineation of anatomy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 9, 1983, 777–787.
- Dowsett R. J., Galvin J. M., Cheng E., Smith R., Epperson R., Harris R., Henze G., Needham M., Payne R., Peterson M. A. et al.: Contouring structures for 3-dimensional treatment planning. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 22, 1992, 1083–1088.
- Belshi R., Pontvert D., Rosenwald J. C., Gaboriaud G.: Automatic three-dimensional expansion of structures applied to determination of the clinical target volume in conformal radiotherapy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 37, 1997, 689–96.
- Fraass B. A., McShan D. L., Kessler M. L., Matrone G. M., Lewis J. D., Weaver T. A.: A computer-controlled conformal radiotherapy system. I: Overview. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 33, 1995, 1139–57.
- Oldham M., Neal A., Webb S.: A comparison of conventional 'forward planning' with inverse planning for 3D conformal radiotherapy of the prostate. *Radiother. Oncol.* 35, 1995, 248–62.
- Oldham M., Webb S.: The optimization and inherent limitations of 3D conformal radiotherapy treatment plans of the prostate. *Br. J. Radiol.* 68, 1995, 882–93.
- Leibel S., Zelefsky M., Kutcher G., Burman C., Kelson S., Fuks Z.: Three-dimensional conformal radiation for prostate cancer: interim results of a dose-escalation study. *Anti-Cancer Treatment Sixth International Congress, kongresová abstrakta*, s. 126. Paříž, 6. 2.–9. 2. 1996.
- Mohan R., Wang X., Jackson A. et al.: The potential and limitations of the inverse radiotherapy technique. *Radiother. Oncol.* 32, 1994, 232–248.



19. Brix F., Christiansten R., Hancken C.: Field-integrated dose modification. 1: Clinical significance of the procedure. *Strahlenther Onkol.* 163, 1987, 391-399.
20. Jensen J. M., Brix F., Hancken C., Hebbinghaus D.: Field-integrated dosage modification (FIDM). 2. The physical principles of the procedure. *Strahlenther Onkol.* 164, 1988, 85-90.
21. Brewster L., Mohan R., Mageras G., Burman C., Leibel S., Fuks Z.: Three dimensional conformal treatment planning with multileaf collimators. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 33, 1995, 1081-1089.
22. Fernandez E. M., Shentall G. S., Mayles W. P., Dearnaley D. P.: The acceptability of a multileaf collimator as a replacement for conventional blocks. *Radiation Oncol.* 36, 1995, 65-74.
23. Roach M., 3<sup>rd</sup>. Comparison of treatment techniques for conformal radiotherapy of the prostate using dose-volume histograms and normal tissue complication probabilities. *Radiation Oncol.* 40, 1996, 85-7.
24. Niemierko A., Urie M., Goitein M.: Optimization of 3DCRT radiation therapy with both physical and biological endpoints and constraints. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 23, 1992, 99-108.
25. Lyman J. T., Wolbarst, A. B.: Optimization of radiation therapy, III: A method of assessing complication probabilities from dose-volume histograms. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 13, 1987, 103-109.
26. Wang X. H., Mohan R., Jackson A., Leibel S. A., Fuks Z., Ling C. C.: Optimization of intensity-modulated 3D conformal treatment plans based on biological indices. *Radiation Oncol.* 37, 1995, 140-152.
27. Gerber R. L., Marks J. E., Purdy J. A.: The use of thermal plastic for immobilization. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 8, 1982, 1460-1462.
28. Cheng C. W., Chin L. M., Kijewski P. K.: A coordinate transfer of anatomical information from CT to treatment simulation. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 13, 1987, 1559-1569.
29. Russell A. H.: Contemporary radiation treatment planning for patients with cancer of the uterine cervix. *Semin. Oncol.* 21, 1994, 30-41.
30. Roach M. 3<sup>rd</sup>, Faillace Akazawa P., Malfatti C., Holland J., Hricak H.: Prostate volumes defined by magnetic resonance imaging and computerized tomographic scans for three-dimensional conformal radiotherapy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 35, 1996, 1011-8.
31. Rudat V., Schraube P., Oetzel D., Zierhut D., Flentje M., Wannenmacher M.: Combined error of patient positioning variability and prostate motion uncertainty in 3D conformal radiotherapy of localized prostate cancer. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 35, 1996, 1027-34.
32. Milliken B. D., Rubin S. J., Hamilton R. J., Johnson L. S., Chen G. T.: Performance of a video-imagesubtraction-based patient positioning system. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 38, 1997, 855-66.
33. Kessler M. L., McShan D. L., Fraass B. A.: A computer-controlled conformal radiotherapy system. III: Graphical simulation and monitoring of treatment delivery. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 33, 1995, 1173-80.
34. Wang X., Spiro S., LoSasso T., Stein J., Chui C. S., Mohan B.: Dosimetric verification of intensity modulated fields. *Med. Phys.* 23, 1996, 317-27.
35. Zámečník J.: *Radioterapie*. Avicenum, Praha 1982, 240-243.
36. Followill D., Geis P., Boyer A.: Estimates of whole body dose equivalent produced by beam intensity modulated conformal therapy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 38, 1997, 667-72.
37. Perez C. A., Michalski J., Ballard S., Drzymala R., Kobeissi B. J., Lockett M. A., Wasserman T. H.: Cost benefit of emerging technology in localized carcinoma of the prostate. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 39, 1997, 875-883.
38. Dale R. G., Jones B.: Radiobiologically based assessments of the net costs of fractionated radiotherapy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 36, 1996, 739-746.
39. Wachter S., Gerstner N., Dieckmann K., Stampfer M., Hawliczek R., Potter R.: Dreidimensional geplante kleinvolumige Konformations-bestrahlung des lokalen Prostatakarzinoms. *Strahlenther Onkol.* 173, 1997, 253-60.
40. Jackson A., Kutcher G. J., Yorke E. D.: Probability of radiation-induced complications for normal tissues with parallel architecture subject to non-uniform irradiation. *Med. Phys.* 20, 1993, 613-625.
41. Roach M. 3<sup>rd</sup>, Pickett B., Weil M., Verhey L.: The "critical volume tolerance method" for estimating the limits of dose escalation during three-dimensional conformal radiotherapy for prostate cancer. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 35, 1996, 1019-25.
42. Emami B., Purdy J. A., Simpson J. R., Harms W., Gerber R., Wippold J. F.: 3-D conformal radiotherapy in head and neck cancer. The Washington University experience. *Front. Radiat. Ther. Oncol.* 29, 1996, 207-20.
43. Marsh L., Eisbruch A., Watson B., Martel M. K.: Treatment planning for parotid sparing in the patient requiring bilateral neck irradiation. *Med. Dosim.* 21, 1996, 7-13.
44. Bonin S. R., Hanlon A. L., Lee W. R., Movsas B., al-Saleem T. I., Hanks G. E.: Evidence of increased failure in the treatment of prostate carcinoma patients who have perineural invasion treated with three-dimensional conformal radiation therapy. *Cancer* 79, 1997, 75-80.
45. Arriagada R., Le Chevalier T., Quoix E., Ruffie P., de Cremoux H., Douillard J. Y., Tarayer M., Pignon J. P., Laplanche A.: Effect of chemotherapy on locally advanced non-small cell lung carcinoma: a randomized study of 353 patients. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 20, 1991, 1183-90.
46. Robertson J. M., Kessler M. L., Lawrence T. S.: Clinical results of three-dimensional conformal irradiation. *J. Natl. Cancer. Inst.* 86, 1994, 968-974.
47. Sibley G. S., Mundt A. J., Shapiro C., Jacobs R., Chen G., Weichselbaum R., Vijayakumar S.: The treatment of stage III nonsmall cell lung cancer using high dose conformal radiotherapy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 33, 1995, 1001-7.
48. Robertson J. M., Ten Haken R. K., Hazuka M. B., Turrisi A. T., Martel M. K., Pu A. T., Littles J. F., Martinez F. J., Francis I. R., Quint L. E., Lichter A. S.: Dose escalation for non-small cell lung cancer using conformal radiation therapy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 37, 1997, 1079-1085.
49. Graham M. V., Purdy J. A., Emami B., Matthews J. W., Harms W. B.: Preliminary results of a prospective trial using three dimensional radiotherapy for lung cancer. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 33, 1995, 993-1000.
50. Armstrong J., Raben A., Zelefsky M., Burt M., Leibel S., Burman C., Kutcher G., Harrison L., Hahn C., Ginsberg R., Rusch V., Kris M., Fuks Z.: Promising survival with three-dimensional conformal radiation therapy for non-small cell lung cancer. *Radiation Oncol.* 44, 1997, 17-22.
51. Robertson J. M., Ten Haken R. K., Hazuka M. B., Turrisi A. T., Martel M. K., Pu A. T., Littles J. F., Martinez F. J., Francis I. R., Quint L. E., Lichter A. S.: Dose escalation for non-small cell lung cancer using conformal radiation therapy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 37, 1997, 1079-1085.
52. Nowak P., van Dieren E., van Sorsen de Koste J., van der Est H., Heijmen B., Levendag P.: Treatment portals for elective radiotherapy of the neck: an inventory in The Netherlands. *Radiation Oncol.* 43, 1997, 81-6.
53. Mehta M. P.: The physical, biologic, and clinical basis of radiosurgery. *Curr Probl. Cancer.* 19, 1995, 265-329.
54. Sandler H. M., McLaughlin P. W., Ten Haken R. K., Addison H., Forman J., Lichter A.: Three dimensional conformal radiotherapy for the treatment of prostate cancer: low risk of chronic rectal morbidity observed in a large series of patients. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 33, 1995, 797-801.
55. Forman J. D., Duclos M., Shamsa F., Porter A. T., Orton C.: Hyperfractionated conformal radiotherapy in locally advanced prostate cancer: results of a dose escalation study. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 33, 1996, 655-62.
56. Pollack A., Zagars G. K., Starkschall G., Childress C. H., Kopplin S., Boyer A. L., Rosen I. I.: Conventional vs. conformal radiotherapy for prostate cancer: preliminary results of dosimetry and acute toxicity. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 34, 1996, 555-64.
57. Zierhut D., Flentje M., Sroka Perez G., Rudat V., Engenhardt Cabillie R., Wannenmacher M.: Klinische Konformierende Strahlentherapie des lokalisierten Prostatakarzinoms: akute Toleranz und fruhe Wirksamkeit. *Strahlenther Onkol.* 173, 1997, 98-105.
58. Fukunaga Johnson N., Sandler H. M., McLaughlin P. W., Strawderman M. S., Grijalva K. H., Kish K. E., Lichter A. S.: Results of 3D conformal radiotherapy in the treatment of localized prostate cancer. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 38, 1997, 311-7.
59. Pollack A., Zagars G. K.: External beam radiotherapy dose response of prostate cancer. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 39, 1997, 1011-1018.

## informace

### NADAČNÍ FOND Dr. PAULA JANSSENA

vypisuje soutěž

o „Hynkovu cenu“ pro původní práci a „Heřmanského cenu“ pro monografii v oboru hematologie za rok 1998.

Do soutěže budou zařazeny všechny práce, které budou zaslány do sídla nadace nejpozději 30. 6. 1999 a budou splňovat tato kritéria:

- publikace v České republice či v zahraničí v roce 1998
- autor je občanem ČR

Zaslaná sdělení budou posouzena odbornou komisí jmenovanou výborem HS ČLS JEP. Při hodnocení bude přihlédnuto k aktuálnosti zpracované problematiky, přínosu pro další rozvoj bádání v oboru, originalitě myšlenek i formě zpracování.

Soutěž bude dotována celkovou částkou 50 000 Kč. V případě udělení obou cen bude tato částka rozdělena rovným dílem. Výsledky budou vyhlášeny na XII. Českém a Slovenském hematologickém a transfuziologickém sjezdu s mezinárodní účastí v Olomouci, 1.-4. září 1999.

Do soutěže lze zaslat jak jednotlivá časopisecká sdělení, tak i ucelený soubor prací, monografie, učebnice apod., pokud vyhovují výše uvedeným podmínkám.

Zájemce o účast v soutěži prosíme, aby svá sdělení zasílali do sídla nadace na adresu:

MUDr. Otakar Obr, CSc.

Janssen – Cilag

Na Radosti 399

155 25 Praha 5 – Zličín



# VÝZNAM NENASYCENÝCH MASTNÝCH KYSELIN V ROZVOJI A CHEMOPROFYLAXI NÁDORŮ KOLOREKTA

## THE IMPORTANCE OF POLYUNSATURATED FATTY ACIDS FOR COLON CANCER PROMOTION AND CHEMOPROPHYLLAXIS

KOZUBÍK A., HOFMANOVÁ J.

BIOFYZIKÁLNÍ ÚSTAV AV ČR, BRNO

**Souhrn:** Lipidy a zejména PUFA, včetně jejich metabolitů, patří mezi významné epigeneticky působící faktory schopné ovlivnit rozvoj nádorů kolorekta. Je nesporné, že efekty jsou závislé nejen na typu PUFA (n-3, n-6), ale i na koncentraci těchto látek. Za hlavní mechanismy jejich působení lze považovat 1) přímé ovlivnění aktivity transkripčních faktorů regulujících expresi genů významných z hlediska cytokinety, 2) produkci biologicky aktivních metabolitů - eikosanoidů působících především na přenos signálů cytokinů a imunitní systém a 3) produkci reaktivních kyslíkových metabolitů vznikajících peroxidací lipidů. Je třeba mít na paměti, že důležitá je rovnováha jak v přísunu prekursorových PUFA tak i v produkci jednotlivých jejich metabolitů. Klinicky významný je fakt, že nežádoucím efektem PUFA je možné předcházet správným složením výživy nebo je lze farmakologicky modulovat např. pomocí NSAID nebo antioxidačně působících preparátů.

**Klíčová slova:** karcinogeneze - nádory tlustého střeva - fosfolipidy - eikosanoidy - nesteroidní antiflogistika - buněčná signalizace - cytokiny

**Summary:** Lipids and namely polyunsaturated fatty acids (PUFAs) and their metabolites - eicosanoids - belong to the important epigenetic factors involved in promotion of colorectal malignancies. It is evident that these effects depend both on types of PUFAs and their concentration. As the main mechanisms of their action, we can consider 1) direct influencing of transcription factor activity affecting the expression of genes involved in regulation of cytokinetics, 2) production of eicosanoids acting above all in the cytokine signal transduction and in the immune system, and 3) effects of reactive oxygen species generated during lipid peroxidation. It should be stressed that the balance between the availability of precursor PUFAs and the production of their individual metabolites is also significant. Of particular importance from the clinical point of view is the possibility to precede undesirable effects of PUFAs by food composition and to modulate their effects using nonsteroidal antiinflammatory drugs and/or antioxidants.

**Keywords:** carcinogenesis - colon cancer - phospholipids - eicosanoids - nonsteroidal antiinflammatory drugs - signal transduction - cytokines

### Úvod

Karcinogeneze je víceetapový proces. Jednotlivé fáze jsou regulovány nezávisle v oddělených časových obdobích rozdílnými působilými a mechanismy. Zatímco primárním zásahovým místem pro iniciaci je DNA, za primární místo pro působení epigenetických - negenotoxicky působících faktorů uplatňujících se v „podpurné“ - „promotion“ fázi je považována plazmatická membrána. Jestliže stadium iniciace nemůžeme bezprostředně ovlivnit (zejména ve vztahu ke konkrétnímu jedinci vzhledem k výrazné stochastické povaze mutageny), existují možnosti zasahovat do fáze podpurné. Má tedy smysl zabývat se problematikou související s regulací a možnostmi ovlivnění tohoto stadia karcinogeneze. Z obecného hlediska existuje řada faktorů negenotoxické povahy, které mohou modulovat vznik nádorů. Jedná se prakticky o všechny faktory vnějšího prostředí, které mohou ovlivnit proces karcinogeneze v pozdější fázi rozvoje. Jde zejména o zásahy do cytokinety změnami

- 1) exprese anebo funkce molekul zapojených v přenosu signálů přímo regulujících proliferaci, diferenciaci a programovanou buněčnou smrt (apoptózu), včetně exprese proto-onkogenů a nádorově-supresorových genů anebo
- 2) signálů, které tyto funkce ovlivňují do určité míry nepřímou, jako jsou inhibice mezibuněčných spojení („gap junctional intercellular communication“ - GJIC), ovlivnění funkce enzymů reparujících DNA, metylace DNA apod.

### Modulace cytokinety negenotoxicky působícími faktory

Výsledky řady prací naznačily, že indukce buněčné proliferace může hrát úlohu v procesu vzniku a rozvoje nádorů (20). Je známo, že většina zjištěných negenotoxicky působících faktorů způsobuje krátkodobé nebo chronické zvýšení buněčné proliferace ve tkáních, kde jsou posléze detekovány známky nádorového bujení. Je však třeba zdůraznit, že stimulace buněčné proliferace je jen stěží jediným mechanismem účinků negenotoxicky působící podpory zhoubného procesu. Ovlivnění intracelulárních regulačních mechanismů může vést také ke změnám v diferenciaci a apoptóze buněk. Trvalejší poruchy regulace kteréhokoli z těchto procesů mohou navodit nerovnovážný stav, v němž převažuje produkce buněk, a který tak ve svém důsledku může mít rozhodující význam v karcinogenezi.

Negenotoxicky působící faktory mohou stimulovat buněčnou proliferaci různým způsobem. Jedna z hypotéz předpokládá, že tyto látky působí na cílovou tkáň cytotoxicky a v důsledku poškození je indukována reparační buněčná proliferace jako mechanismus kompenzující orgánové a tkáňové poškození. Tento proces může být do značné míry ovlivněn působením endogenních, tkáňově specifických faktorů, jako jsou například epidermální růstový faktor (EGF), transformující růstový faktor beta 1 (TGF- $\beta$ 1), kachektin - nádor nekrotizující faktor alfa (TNF $\alpha$ ), interleukiny aj. Chronické toxické působení může vést k chronické zánětlivé reakci, jejímž konečným

důsledkem může být zvýšená produkce endogenních mutagenů - reaktivních forem kyslíku a dusíku. I když některé uvedené mechanismy by mohly být důležité z hlediska vývoje karcinomů kolorektu, lze říci, že za jedny z hlavních faktorů schopných ovlivnit jejich rozvoj jsou považovány faktory nutriční (25). Jedná se především o obsah a kvalitu tuků v potravě, dále o zastoupení vlákniny a antioxidačně působících látek. Následující odstavce jsou proto věnovány poznáním i předpokládaným epigenetickým mechanismům účinků některých těchto faktorů, především působení nenasycených mastných kyselin a jejich metabolitů.

### Význam vysoce nenasycených mastných kyselin

Experimentální výsledky získané v systémech in vitro přinesly poznatek „paradoxu působení mastných kyselin“ ukazující, že nízké koncentrace vysoce nenasycených mastných kyselin („polyunsaturated fatty acids“ - PUFA) mohou stimulovat a vysoké koncentrace naopak inhibovat růst buněk in vitro (6). Důležitým se ukázal také poměr PUFA tříd n-3 obsažených většinou v tucích mořských ryb a tříd n-6 obsažených převážně v rostlinných olejích. PUFA mohou působit prostřednictvím mezibuněčných spojení (GJIC), která slouží k udržování homeostázy ve tkáních a souvisí s regulací buněčné proliferace, diferenciace, metabolické kooperace atd. Inhibice GJIC je jedním z důležitých mechanismů negenotoxické složky karcinogeneze. PUFA, které inhibují GJIC tak mohou přispívat k rozvoji nádorů (14). PUFA tvoří důležitou součást fosfolipidů buněčných membrán. Dostupnost PUFA je závislá na jejich endogenní syntéze a přísunu z vnějšího prostředí ve formě potravy. Tím může docházet ke změnám ve složení membrán buněk, která může být zcela nezávislá na genomu. Struktura membrány má podstatný vliv na funkci membránových proteinů, afinitu receptorů ke specifickým ligandům, uvolňování a působení cytokinů a efekty zprostředkované systémem druhých posílů. Tak mohou PUFA hrát důležitou úlohu v přenosu signálů z mimobuněčného prostoru přímo, tj. samy plnit funkci druhých posílů. Bylo prokázáno, že např. kyselina arachidonová (AA, 20:4, n-6) a její metabolity eikosanoidy (viz níže) modulují aktivitu klíčových signálních enzymů včetně proteinkinázy C, mitogeny-aktivovaných proteinkináz, tyrozinkináz nebo GTP-vázajících proteinů, které jsou primárně stimulovány růstovými faktory, hormony nebo mediátory zánětu (7). Tento systém druhých posílů aktivuje transkripční faktory a indukuje expresi genů rané odpovědi („early genes“), k nimž patří např. c-fos, c-jun, c-myc nebo Egr-1. Jejich exprese podmiňuje transkripci tzv. „delayed early genes“ nebo „late genes“, které dále řídí buněčnou proliferaci, diferenciaci a apoptózu. Dále bylo zjištěno, že PUFA mohou ovlivňovat transkripci specifických genů přímo tím, že kontrolují aktivitu specifických transkripčních faktorů (např. NFκB, PPAR apod.) (21, 34).

Esenciální PUFA tříd n-3 a n-6 však mohou ovlivňovat počátek i rozvoj onemocnění řadou jiných mechanismů. Mohou např. působit na produkci žlučových kyselin nebo přímo na mikroprostředí střevního lumenu. Přeměna PUFA na eikosanoidy nebo peroxidace lipidových produktů může dále ovlivňovat proliferaci, diferenciaci, apoptózu, chemotaxi a motilitu nádorových buněk (viz dále). Současný výzkum je proto zaměřen zejména na podrobnější poznání významu PUFA v přenosu signálů růstových regulátorů uskutečňovaného interakcemi s proteinkinázami, lipázami nebo G-proteiny (2). Na buněčné a molekulární úrovni je dnes hlavní pozornost věnována zejména a) změnám ve složení PUFA v membránových fosfolipidech, b) změnám v peroxidaci lipidů, c) modulaci uvolňování biologicky aktivních produktů, eikosanoidů a d) kontrole dějů v buněčném jádře, tj. interakcím s jadernými receptory a účinkům na transkripci genů (36). Poznání těchto molekulárně biologických mechanismů by mohlo přispět k lepšímu pochopení a nové interpretaci výsledků ze studií in vivo.

Zatímco studie na laboratorních zvířatech potvrzují podpůrné účinky celkového obsahu tuků v dietě na rozvoj nádorů, úloha samotných PUFA (zvláště tříd n-3 a n-6) se jeví jako poněkud kontroverzní. Někteří autoři uvádějí, že rostlinné oleje bohaté na kyselinu linolovou (LA, 18:2, n-6) podporují vznik experimentálně indukovaných nádorů tlustého střeva (17). Naopak bylo zjištěno, že příjem zvýšeného množství n-3 PUFA může inhibovat nádorový růst, snižovat tvorbu metastáz a kachexii u zvířat i u lidí a zvyšovat cytotoxické účinky některých terapeutik (33). Uvažuje se, že za pozorované efekty zodpovídají změny v peroxidaci lipidů nebo produkci prostaglandinů, ovlivnění produkce cytokinů, ale i další účinky zasahující přenos signálů, specifické transkripční faktory a expresi genů v buňce (8, 29). Zatímco účinky PUFA na rozvoj primárních nádorů jsou často studovány, existuje jen velmi málo údajů o jejich vlivu na tvorbu metastáz. Výsledky z poslední doby však naznačují, že nejen n-6, ale i n-3 PUFA by mohly v určitých případech podporovat vznik a rozvoj metastáz (11). Analýza membránových mastných kyselin u nádorových buněk sliznice tlustého střeva provedená v klinických studiích ukázala významné změny ve spektru a koncentraci PUFA ve srovnání s normální mukózou. U nádorů je redukována reesterifikace volných PUFA, což má za následek zvýšenou periferní utilizaci PUFA z potravy. Pacienti s nádory v pokročilém stavu onemocnění trpí často vážnou imunodeficiencí a kachexií. Tento stav pak indukuje vážné poruchy homeostázy v organismu a komplikuje terapii. Růst nádoru má značný dopad na stav metabolismu a na využití složek potravy, které se účastní udržování strukturální integrity na buněčné úrovni. Tyto a další poznatky bývají v poslední době zohledňovány při přípravě nových typů parenterálních výživ pro pacienty s nádory (42). Účinky parenterálních lipidových emulzí na imunitní systém a růst nádorů jsou ale mnohdy rozporuplné. Použití triglyceridů obsahujících mastné kyseliny se středním řetězcem (MCT) se zdá být výhodnější ve srovnání s triglyceridy s dlouhými řetězci PUFA (LCT). MCT by mohly působit velmi příznivě proti supresi imunitních a fagocytárních funkcí u silně stresovaných pacientů (40). Uvádí se, že dlouhotrvající parenterální výživa obsahující LCT může zvyšovat produkci TNFα (4). Produkce tohoto cytokinu může být ovlivněna také dietetickým poměrem n-3 a n-6 PUFA, což má velký význam u kachektických pacientů (13).

### Metabolismus kyseliny arachidonové a eikosanoidy

K nejdůležitějším PUFA třídy n-6 patří kyselina arachidonová (AA), která je uvolňována z membránových fosfolipidů po působení různých stimulů. Je prekurzorem vysoce aktivních lipidových mediátorů označovaných souhrnně jako eikosanoidy. Vznik prostaglandinů (PG) a tromboxanů je katalyzován prostaglandin H syntázou (PHS), která může fungovat jako peroxidáza nebo cyklooxygenáza (COX), a která existuje ve dvou izoformách PHS1 a PHS2 (jinak též COX1 a COX2). Vznik hydroxytetraenoických kyselin (HETEs), lipoxinů a leukotrienů (LT) je katalyzován lipoxygenázami (LOX) a do tvorby epoxykyselin a diolů je zapojen monooxygenázový systém cytochromu P450. Z klinického hlediska je důležité, že produkce eikosanoidů může být efektivně modulována s využitím specifických inhibitorů jednotlivých drah přeměny AA mezi něž patří řada tzv. nesteroidních antiflogistik (NSAID), běžně klinicky využívaných léčiv.

### Úloha eikosanoidů v karcinogenezi

Již od roku 1980 se objevuje řada publikací, které dokládají úlohu eikosanoidů v karcinogenezi (10, 15). Prozatím je však stále obtížné vyslovit obecněji platné závěry, zejména s ohledem na velmi rozdílné vlastnosti různých typů nádorů. Rozdílné jsou i účinky jednotlivých typů eikosanoidů. Tak např. při výzkumu úlohy PG se ukázalo, jak problematické může být srovnání výsledků získaných in vitro a in vivo. Účinky PG, stejně jako jiných eikosanoidů, mohou být totiž in vivo často

ovlivněny účinky jiných biologicky aktivních látek jako jsou hormony a cytokiny. I přes tato úskalí se zdá, že výzkum pokročil nejdále ve směru poznání úlohy PG.

### Účinky prostaglandinů

Bylo prokázáno, že nádory tlustého střeva a z nich odvozené buněčné linie mají zvýšenou aktivitu COX2 a v důsledku toho produkují vyšší množství PG (30). Zvláště PG řady E a F mohou přímo nebo nepřímo (přes imunosupresivní účinky) stimulovat jejich růst. Je doloženo, že COX1 zprostředkovává převážně „fyziologické“ funkce PG, kdežto funkce COX2 je primárně spojována s patologickými stavy jako je zánět. Bylo prokázáno, že u nádorů tlustého střeva a rekta dochází k selektivně zvýšené expresi COX2 a zvýšené produkci PG. Zvýšená exprese COX2 v normálním epitelu střeva mění fenotyp buněk tak, že se stávají rezistentními k apoptóze a dochází ke změnám v jejich adhezivních vlastnostech, což může mít význam při tvorbě metastáz. V několika studiích byly naopak doloženy protinádorové účinky PGE in vivo. Po vyšších dávkách však byl pozorován silný vedlejší účinek na hladké svalstvo provázený průjmy a hypotenzí (26). Mnoho nádorů a nádorových buněčných linií produkuje PG za různých podmínek a vykazuje specifické biologické odpovědi ve vztahu k působení endogenních nebo exogenně aplikovaných PG. Z řady studií však vyplývá, že jak PG tak jejich inhibitory mohou významně ovlivňovat růst nádorů in vitro i in vivo a mohou rovněž ovlivňovat tvorbu metastáz (27). V těchto procesech se však zřetelně uplatňují jak kvantitativní tak kvalitativní hlediska. Ve vztahu k buněčné proliferaci byl už dříve, podobně jako u samotných PUFA, prokázán tzv. „prostaglandinový paradox“: PG mohou působit stimulačně i inhibičně v závislosti na koncentraci. Nízké koncentrace podporují a vysoké (blízké horní hranici fyziologického rozpětí) naopak inhibují proliferaci nádorových buněk (6). PG mohou působit přímo nebo nepřímými mechanismy jako je např. potlačení imunologického dohledu. Syntéza PG je dále provázena vznikem volných kyslíkových radikálů, které mohou rovněž ovlivňovat proliferaci a další procesy (např. apoptózu). Během posledních let se pozornost obrátila k jiným typům PG jako jsou PGA, PGD a PGJ (cyklopentanové PG). Bylo prokázáno, že tyto látky vykazují silné protinádorové účinky a byly objasněny strukturálně funkční vztahy tohoto působení, což umožnilo syntézu jejich účinných analogů. Ukázalo se, že PGA a PGJ mohou účinkovat intracelulárně obdobným způsobem jako steroidy a indukovat v netoxických koncentracích zástavu buněčného cyklu (9).

### Účinky leukotrienů

Zatímco úloze produktů COX v karcinogenezi tlustého střeva byla věnována velká pozornost, méně je známo o úloze produktů LOX v tomto procesu. Existují však důkazy, že produkty LOX aktivní, zvláště jejich meziprodukty hydroperoxy- a hydroxykyseliny (HPETE a HETE) mohou být pro rozvoj nádoru neméně důležité jako PG. Např. v modelu karcinogeneze tlustého střeva u hlodavců byly hladiny 12- a 15- HETE v nádoru zvýšeny oproti normální mukóze. Sulindac, který měl v těchto experimentech protektivní účinky, hladinu těchto látek významně snižoval. Při studiu účinků řady PG a LTB4 na proliferaci buněčných linií z lidského adenokarcinomu tlustého střeva in vitro a růst kolonocytů myši in vivo byla pozorována časově a koncentračně závislá stimulace proliferace. Přitom nebyl pozorován žádný účinek těchto látek na poměrné zastoupení buněk v jednotlivých fázích buněčného cyklu a apoptózu (32). Produkty LOX mohou stimulovat buněčnou proliferaci buď přímo nebo jako meziprodukty mitogenních signálních drah růstových faktorů (jako je EGF). Na modelech myších nádorů bylo prokázáno, že inhibitory 5-LOX navozují apoptózu. To znamená, že produkty 5-LOX by mohly být zapojeny v signálních drahách růstových faktorů působících proti apoptóze. S využitím inhibitorů LOX byla dále

prokázána úloha metabolitů LOX ve stimulačním účinku LA a AA na růst myšího adenokarcinomu tlustého střeva. Úloha 5-, 12- a 15- LOX byla sledována rovněž přímým podáváním těchto produktů. Ukázalo se, že důležitou úlohu hraje nerovnováha mezi produkty těchto drah (18). Jiné studie prokázaly, že kolonocyty a nádor infiltrující leukocyty produkují velké množství LTB4 a 12- a 15-HETE. LTB4 a 12(R)HETE, která je ale produktem dráhy katalyzované cytochromem P-450, jsou schopny zvyšovat proliferaci nádorových buněk tlustého střeva (HT29 a HCT-15) in vitro bez účinku na poměrné zastoupení buněk v jednotlivých fázích buněčného cyklu a apoptózu. Tyto a některé další studie z poslední doby tak obracejí pozornost i k významu produktů třetí dráhy přeměny AA katalyzované P450-monooxygenázou (3).

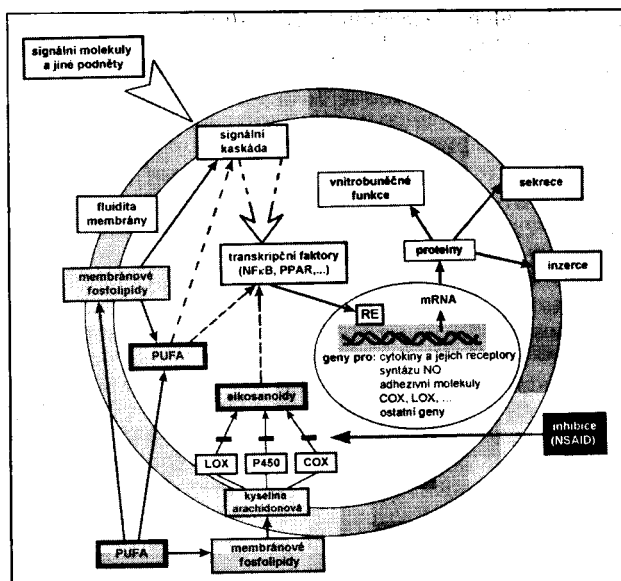
V poslední době bylo prokázáno, že schopnost nádorů produkovat 12(S)-HETE (metabolit 12-LOX) pozitivně koreluje s jejich metastatickým potenciálem. 12(S)-HETE je klíčovou vnitrobuněčnou signální molekulou, která aktivuje proteinkinázu C a zprostředkovává biologické funkce mnoha růstových faktorů a cytokinů. Exogenní a nádorem produkovaná 12(S)-HETE moduluje řadu vlastností nádorových buněk (jako je adhezivita, invazivita, motilita atd.) a ovlivňuje též endoteliální buňky. Tyto skutečnosti vedou k úvahám o cíleném využití tohoto metabolitu v léčebných protokolech (16).

### Metabolismus nenasycených mastných kyselin a působení cytokinů

Mnohé studie ukazují, že produkce i biologická funkce cytokinů může být regulována PUFA (tříd n-3 a n-6) a jejich metabolity (12). Je poměrně dobře doložena úloha fosfolipázy A<sub>2</sub>, AA a jejích metabolitů v působení některých mitogenních růstových faktorů (např. EGF), které v součinnosti s ionty Ca<sup>2+</sup> aktivují v první fázi příslušné kinázy. Tyto účinky jsou zprostředkovávány různými cestami přeměny AA a jsou závislé na typu buněk.

Méně je známo o úloze metabolismu AA v účincích faktorů, které mohou působit jako negativní regulátory růstu, např. cytokiny TGF-β1 a TNFα. Důvody věnovat zvláštní pozornost právě interakcím těchto cytokinů s PUFA a eikosanoidy v případě nádoru tlustého střeva jsou tyto: ve střevě dochází k produkci obou cytokinů, a to ze dvou zdrojů. Jednak je mohou produkovat střevní buňky samotné, jednak dochází k infiltraci střeva leukocyty, které jsou též významnými producenty TGF-β1 a TNFα. Střevní buňky aktivně metabolizují PUFA a jsou producenty eikosanoidů, přičemž u nádorových buněk je tvorba PG (ale též produktů LOX) zvýšena. Také leukocyty produkují významné množství eikosanoidů, které se při patologických stavech zvyšuje. Tím, že ve střevě působí PUFA z potravy a TGF-β1 a TNFα funkčně spolupůsobí, jsou dány předpoklady pro vzájemné interakce.

Během rozvoje nádorů se buňky stávají postupně rezistentními k účinkům endogenních inhibitorů růstu. Příkladem takového faktoru je právě TGF-β1, který hraje důležitou úlohu v kontrole růstu a diferenciaci normální střevní mukózy. Bylo prokázáno, že během vývoje adenomu a adenokarcinomu kolorekta dochází ke snižování senzitivity buněk k TGF-β1, avšak přesné mechanismy tohoto jevu nejsou objasněny (38). Cytokiny jako je TNFα, TGF-β1 a interleukiny IL-1 a IL-2 představují dále významné faktory, které se uplatňují v regulaci imunitního systému u pacientů s nádory. Na druhé straně však mohou prozánětlivě působící cytokiny TNFα a IL-1 produkované endogenně některými nádory působit jako faktory podporující nádorový růst a kachexii (41). Výsledky studií zabývajících se účinky PUFA obsažených v dietě na produkci a biologickou funkci cytokinů ukazují, že tuky bohaté na n-6 PUFA zvyšují cytokiny zprostředkované projevy zánětu, zatímco tuky bohaté na n-3 PUFA nebo mononenasyčené mastné kyseliny třídy n-9 mají opačný účinek. Bylo též prokázáno, že prostaglandin E2 může inhibovat a leukotrieny mohou zvyšovat produkci TNFα a IL-1 (4).



Schematické znázornění předpokládaných účinků vysoce nenasycených mastných kyselin (PUFA) a eikosanoidů v buňce. COX - cyklooxygenázy, LOX - lipoxygenázy, NSAID - nesteroidní antiflogistika, P450 - cytochrom P450, PPAR - receptory pro faktory ovlivňující proliferaci peroxisomů („peroxisome proliferators“), RE - „responsive element“ - odpovídající oblast na DNA.

TNF $\alpha$  hraje dále důležitou úlohu při smrti buněk. Po jeho navázání na příslušné receptory dochází k uvolňování kyslíkových radikálů, k aktivaci fosfolipázy A<sub>2</sub>, C a D, proteinkinázy C, sfingomyelinázy, vápníkových kanálů atd. Uvolňování AA po aktivaci fosfolipázy A<sub>2</sub>, ceramidu po aktivaci sfingomyelinázy a volných radikálů může modulovat přenos signálů vedoucích k buněčné smrti apoptózou (19).

**Účinky nesteroidních antiflogistik na buněčnou kinetiku**  
Studie s využitím tzv. nesteroidních antiflogistik (NSAID) jako jsou aspirin, piroxicam, indometacin, ibuprofen, sulindac apod., které inhibují aktivitu COX nebo těch, které inhibují LOX jako jsou např. NDGA a esculetin, poskytují nové poznatky o „fyziologické“ úloze jednotlivých typů eikosanoidů v mechanismech kontroly buněčného růstu. Tyto látky mohou rovněž inhibovat nebo stimulovat růst nádorových buněk (1). Existuje množství studií zvláště v oblasti výzkumu úlohy PG a účinku jejich inhibitorů - NSAID u nádorů tlustého střeva a žaludku. U hlodavců bylo prokázáno, že NSAID jako jsou piroxicam, aspirin, sulindac a indometacin inhibují tumorigenezi v tlustém střevě. Tyto látky mohou zabránovat chemické karcinogenezi a inhibovat tvorbu nádorů, jestliže jsou aplikovány současně nebo dokonce několik týdnů po expozici karcinogenům (37). Z klinických studií vyplývá, že po aplikaci NSAID dochází k redukci polypů a adenomů u pacientů s familiární polypózou a ke snížené progresi adenokarcinomů u těchto pacientů (26). Důkazy o preventivních i léčebných účincích těchto látek přinášejí i další epidemiologické a klinické studie, které jasně demonstrují sníženou incidenci a také mortalitu na nádory kolorekta u uživatelů NSAID (28). Mechanismus, kterým NSAID působí v prevenci nádorů a způsobují regresi adenomů a adenokarcinomů

kolorekta není však přesně znám. Ve složitě organizovaných biologických systémech existuje pravděpodobně více než jeden proces ovlivňovaný NSAID a mechanismy působení jednotlivých NSAID se proto mohou více či méně významně lišit. Přesto je možné efekty NSAID rozdělit na ty, které vedou přes inhibici produkce eikosanoidů a tímto způsobem zasahují do imunitního systému a cytokinetiky (včetně ovlivnění funkcí cytokinů) a na efekty na eikanoidech nezávislé. Existují totiž zjištění prokazující protinádorové účinky NSAID i u populací buněk bez aktivního metabolismu eikosanoidů (39).

O možnostech ovlivnit funkce cytokinů pomocí NSAID svědčí mj. i naše vlastní studie in vitro. Prokázali jsme, že inhibitory biosyntézy eikosanoidů mohou významně potencovat anti-proliferativní účinky TGF- $\beta$ 1 u epitelálních buněk (23) nebo diferenciaci (nikoli však proliferaci a apoptózu) lidských leukemických buněk (24). Je tedy zřejmé, že regulace těchto procesů je závislá na typu buněčné populace. Na modelové linii z lidského adenokarcinomu tlustého střeva HT29 jsme nejnověji prokázali, že tyto buňky jsou relativně rezistentní k působení TNF $\alpha$  a jeho účinky nejsou modulovány inhibicí metabolismu AA. TNF $\alpha$  však významně snižuje diferenciaci těchto buněk indukovanou butyrátem sodným - soli mastné kyseliny, která vzniká při fermentaci vlákniny ve střevě (22).

Další studie ukazují, že některá NSAID indukují apoptózu epitelálních střevních buněk. To může být důležité s ohledem na nádory kolorekta, u kterých je apoptóza často inhibována (31). Indukce apoptózy však pravděpodobně nezávisí na aktivitě COX, protože takové účinky NSAID byly pozorovány i u buněk, které postrádají aktivitu COX izoenzymů. Zcela nedávné výzkumy ukazují, že pozorované účinky by mohly být způsobeny zvýšenou hladinou substrátu, tedy AA, po inhibici COX dráhy. AA pak stimuluje apoptotickou dráhu přes aktivaci produkce ceramidu - známého mediátoru apoptózy. NSAID (např. sulindac) jsou také schopny ovlivňovat regulaci buněčného cyklu změnami v expresi nádorově supresorových genů, cyklinů a cyklin-dependentních kináz (35).

Kromě toho existuje řada dalších funkcí u normálních i maligních buněk, které mohou být ovlivněny NSAID. Např. aspirin a salicylát, ale ne indometacin, inhibují aktivitu transkripčního faktoru NF $\kappa$ -B, který je důležitý pro expresi řady genů uplatňujících se v zánětu, imunitě a buněčné adhezi. Zajímavé je to, že lidské geny pro 12-LOX nebo COX2 mají regulační oblast obsahující sekvence pro navázání NF $\kappa$ -B. Lze předpokládat, že salicyláty mohou inhibici NF $\kappa$ -B ovlivňovat řadu buněčných enzymů a faktorů, např. snižovat transkripci COX2 (26). Z dalších účinků NSAID jsou uváděny: inhibice NADPH oxidázy, fosfolipázy C a 12-HPETE peroxidázy, přerušování inkorporace a inserce AA do membrán, interference s transportem aniontů přes membránu a přerušování mitochondriální oxidativní fosforylace.

Klinické i experimentální důkazy antikarcinogenních účinků NSAID jsou dobře podloženy. Otevřenou otázkou zůstává úloha různých forem COX v těchto účincích (5). Závěry o účincích PUFA, jejich metabolitů a inhibitorů jejich biosyntézy vyplývající z předchozích odstavců jsou schematicky shrnuty v obr. 1.

**Poděkování:** Podpořeno granty IGA MZ 4095-3 a GAČR 525/98/1266.

#### Literatura

1. Ara G. and Teicher B. A. Cyclooxygenase and lipoxygenase inhibitors in cancer therapy. Prostagl. Leukot. Ess. Fatty A. 1996, 54: 3-16.
2. Awad A. B., Ntanos F. Y., Fink C. S. and Horvath P. J. Effect of membrane lipid alteration on the growth, phospholipase C activity and G protein of HT-29 tumor cells. Prostagl. Leukot. Ess. Fatty A. 1996, 55: 293-302.
3. Bortuzzo C., Hanif R., Kashfi K., Staiano-Coico L., Shiff S. J. and Rigas B. The effect of leukotrienes B and selected HETEs on the proliferation of colon cancer cell. Biochim. Biophys. Acta 1996, 1300: 240-246.

4. Calder C. n-3 polyunsaturated fatty acids as pharmacologic agents: A fishy tale. Nutrition 1997, 13: 1002-1004.
5. Carter J. S. Recently reported inhibitors of cyclooxygenase-2. Exp. Opin. Ther. Patents 1997, 8: 21-29.
6. Cornwell D. G. and Morisaki N. Fatty acid paradoxes in the control of cell proliferation: Prostaglandins, lipid peroxides, and cooxidation reactions. In: Free Radicals in Biology VI, Ed. William A. Pryor, 1984, Academic Press. Inc., 95-133.
7. Di Marzo V. Arachidonic acid and eicosanoids as targets and effectors in second messenger interactions. Prostagl. Leukot. Ess. Fatty A. 1995, 53: 239-254.

8. Eynard A. R. Role of dietary polyunsaturated fatty acids (PUFA) on tumorigenesis. *Cancer J.* 1996, 9: 142-144.
9. Fukushima M. Prostaglandin J2 - anti-tumor and anti-viral activities and the mechanisms involved. *Eicosanoids* 1990, 3: 189-199.
10. Fulton A. M. The role of eicosanoids in tumor metastasis. *Prostagl. Leuk. Ess. Fatty A.* 1988, 34: 229-237.
11. Griffini P., Fehres O., Klieverik L., Vogels I. M. C., Tigchelaar W., Smoreburg S. M. and VanNoorden C. J. F. Dietary Omega-3 polyunsaturated fatty acids promote colon carcinoma metastasis in rat liver. *Cancer Res.* 1998, 58: 3312-3319.
12. Grimble R. F. Nutritional modulation of cytokine biology. *Nutrition* 1998, 14: 634-640.
13. Hardardóttir I., Whelan J., Surette M. E., Broughton K. S., Lu G. P., Larsen E. C. and Kinsella J. E. The effects of dietary n-3 polyunsaturated fatty acids and cyclic AMP-elevating agents on tumor necrosis factor production by murine resident nd thioglycollate-elicited peritoneal macrophages. *J. Nutr. Biochem.* 1993, 4: 534-542.
14. Hayashi T., Matesic D. F., Nomata K., Kang K. S., Chang C. C. and Trosko J. E. Stimulation of cell proliferation and inhibition of gap junctional intercellular communication by linoleic acid. *Cancer Lett.* 1997, 112: 103-111.
15. Honn K. V. and Marnett L. J. Prostaglandin, thromboxane and leukotriene biosynthesis: target for antitumor and antimetastatic agents. In: *Novel Approaches to Cancer Chemotherapy*, Ed. P. S. Sunkara, 1984, Academic Press (Orlando), 127-163.
16. Honn K. V., Tang D. G., Gao X., Butovich I. A., Liu B., Timar J. and Hagmann W. 12-lipoxygenases and 12(S)-HETE: role in cancer metastasis. *Cancer and Metastasis Rev.* 1994, 13: 365-396.
17. Hudson E. A., Beck S. A. and Tisdale M. J. Kinetics of the inhibition of tumour in mice by eicosapentaenoic acid-reversal by linoleic acid. *Biochem. Pharmacol.* 1993, 45: 2189-2194.
18. Hussey H. J. and Tisdale M. J. Inhibition of tumour growth by lipoxygenase inhibitors. *Br. J. Cancer* 1996, 74: 683-687.
19. Jäätelä M. Biologic activities and mechanisms of action of TNF-alpha/cachectin. *Biology of Disease* 1991, 64: 724-742.
20. Jones H. B., Eldridge S. R., Butterworth B. E. and Foster J. R. Measures of cell replication in risk/safety assessment of xenobiotic-induced, nongenotoxic carcinogenesis. *Regulatory Toxicol. Pharmacol.* 1996, 23: 117-127.
21. Jump D. B., Clarke S. D., Thelen A., Liimatta M., Ren B. and Badin M. Dietary polyunsaturated fatty acid regulation of gene transcription. *Prog. Lipid Res.* 1996, 35: 227-241.
22. Kovaříková M., Hofmanová J., Kozubík A. and Zadák Z. TNFalpha modulation of butyrate-induced markers of differentiation in human colon adenocarcinoma cell line. Abstract Book of 9th Eur. Students Conference of the Charité, Humboldt Univ., Berlin 1998, 235.
23. Kozubík A., Hofmanová J. and Dušek L. Eicosanoid inhibitors enhance synergistically the effect of transforming growth factor beta 1 on CCL 64 cell proliferation. *Eur. J. Pharmacol.* 1996, 316: 349-357.
24. Kozubík A., Hofmanová J., Dušek L. and Musilová E. 5-Lipoxygenase inhibitors potentiate effects of TGF-beta1 on the differentiation of human leukemia HL-60 cells. *J. Leukoc. Biol.* 1997, 62: 240-248.
25. Levin B. Nutrition and colorectal cancer. *Cancer* 1992, 70: 1723-1726.
26. Levy G. N. Prostaglandin H synthases, nonsteroidal antiinflammatory drugs, and colon cancer. *FASEB J.* 1997, 11: 234-247.
27. Lupulescu A. Prostaglandins, their inhibitors and cancer. *Prostagl. Leukot. Ess. Fatty A.* 1996, 54: 83-94.
28. Marnett L. J. Aspirin and the potential role of prostaglandins in colon cancer. *Cancer Res.* 1992, 52: 5575-5589.
29. Miles E. A. and Calder P. C. Modulation of immune function by dietary fatty acids. *Proc. Nutrition Society* 1998, 57: 277-292.
30. Parker J., Kaplon M. K., Alvarez C. J. and Krishnaswamy G. Prostaglandin H synthase expression is variable in human colorectal adenocarcinoma cell lines. *Exp. Cell Res.* 1997, 236: 321-329.
31. Payne C. M. Role of apoptosis in biology and pathology: Resistance to apoptosis in colon carcinogenesis. *Ultrastruct. Pathol.* 1995, 19: 221-248.
32. Qiao L., Kozoni V., Tsioulas G. J., Koutsos M. I., Hanif R., Shiff S. J. and Rigas B. Selected eicosanoids increase the proliferation rate of human colon carcinoma cell lines and mouse colonocytes in vivo. *Biochim. Biophys. Acta* 1995, 1258: 215-223.
33. Sakaguchi M., Rowley S., Kane N., Imray C., Davies A., Jones C., Newbold M., Keighley M. R. B., Baker P. and Neoptolemos J. P. Reduced tumour growth of the human colonic cancer cell lines COLO-320 and HT-29 in vivo by dietary n-3 lipids. *Br. J. Cancer* 1990, 62: 742-747.
34. Sellmayer A., Danesch U. and Weber P. C. Modulation of the expression of early genes by polyunsaturated fatty acids. *Prostagl. Leukot. Ess. Fatty A.* 1997, 57: 353-357.
35. Shiff S. J., Koutsos M. I., Qiao L. and Rigas B. Nonsteroidal antiinflammatory drugs inhibit the proliferation of colon adenocarcinoma cells: Effects on cell cycle and apoptosis. *Exp. Cell Res.* 1996, 222: 179-188.
36. Simopoulos A. P. The role of fatty acids in gene expression: Health implications. *Ann. Nutr. Metab.* 1996, 40: 303-311.
37. Tanaka Y., Tanaka T. and Ishitsuka H. Antitumor activity of indomethacin in mice bearing advanced colon 26 carcinoma compared with those with early transplants. *Cancer Res.* 1989, 49: 5935-5939.
38. Williams A. C., Hague A., Elder D. J. E. and Paraskeva C. In vitro models for studying colorectal carcinogenesis: cellular and molecular events including APC and Rb cleavage in the control of proliferation, differentiation and apoptosis. *Biochim. Biophys. Acta* 1996, 1288: F9-F19.
39. Williams C. S., Smalley W. and DuBois R. N. Aspirin use and potential mechanisms for colorectal cancer prevention. *J. Clin. Invest.* 1997, 100: 1325-1329.
40. Zadák Z. New substrates in parenteral and enteral nutrition. *Riv. Ital. Nutr. Parenteral. Enteral.* 1990, 8:85-91.
41. Zadák Z., Shenkin A., Bláha V., Sobotka L., Cerman J. and Solichová D. Metabolic response to glucose and insulin in weight-stable and weight-losing patients. *Klin. Biochem. Metab.* 1996, 4:125-130.
42. Zadák Z. and Červinková Z. PUFA n-3 lipid emulsion - A promising agent in ARDS treatment. *Nutrition* 1997, 13:232-233.

## informace

### Děkan Lékařské fakulty MU v Brně

vypisuje 2 stipendijní místa pro postgraduální studium v nově akreditovaném oboru

### ONKOLOGIE

#### Požadované předpoklady:

VŠ lékařského nebo přírodovědného směru, zájem a schopnost samostatné vědecké práce.

#### Informace:

doc. MUDr. Z. Adam, CSc. – II. interní klinika-hematologická FN Bohunice.

Příhlášky na děkanátě LF MU Joštova 10, vědeckovýzkumné oddělení.



# STANOVENÍ APOPTOTICKÉHO A MITOTICKÉHO INDEXU U NON-HODGKINSKÝCH MALIGNÍCH LYMFOMŮ: METODICKÁ STUDIE

## ASSESSMENT OF APOPTOTIC AND MITOTIC INDICES IN MALIGNANT NON-HODGKIN'S LYMPHOMAS: A METHODOLOGICAL STUDY

VAGUNDA V., VESELÝ K., POCHMON D.

MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV V BRNĚ

**Souhrn:** Na archivním formol-parafinovém materiálu 54 non-Hodgkinských maligních lymfomů (NHL) byly testovány dvě varianty stanovení celularity, apoptotického (AI) a mitotického indexu (MI) s použitím systému analýzy obrazu LUCIA G. V první variantě byla hodnocena místa s maximální mitotickou aktivitou, v druhé byl výběr hodnocené plochy náhodný. Celularita byla průměrně 2608 buněk na 0,126 mm<sup>2</sup>, resp. 2954 u náhodné selekce, MI průměrně 1,61 %, resp. 0,28 %, AI průměrně 0,97 %, resp. 0,56 %. Statisticky nebyly nalezeny významné rozdíly v hodnotách celularity a AI, ale významně se lišily absolutní hodnoty MI. MI a AI přitom významně pozitivně korelovaly v obou metodách i mezi sebou navzájem (všechna  $p < 0,0001$ ). Kromě výborné reprodukovatelnosti stanovení nádorové celularity studie ukazuje, že obě metody stanovení AI a MI jsou vhodné pro další prognostické resp. prediktivní studie. Obě varianty metody potvrdily kladnou závislost MI a AI u NHL. Nově bylo nalezeno, že apoptóza u NHL je difúznější proces v protikladu k fokálně akcentované proliferací aktivitě. Závěrem je poukázáno na nutnost zlepšení dosud relativně značné interpersonální variability stanovení AI.

**Klíčová slova:** nádorová celularita, apoptotický index, mitotický index, non-Hodgkinské lymfomy

**Summary:** We tested two variants of assessment of tumour cellularity, apoptotic (AI) and mitotic indices (MI) in paraffin-embedded tissues from 54 malignant non-Hodgkin's lymphomas (NHL), by using an image analysis system LUCIA G. Areas with maximal mitotic activity were evaluated in the first variation of the method. In the second variant, selection of examined areas was random. The average tumour cellularity was 2608 cells per 0.126 mm<sup>2</sup>, 2954 with random selection; of MI 1.61 %, 0.28%; of AI 0.97%, 0.56%, respectively. Significant differences were not found between values of cellularity and AI, but absolute values of MI were significantly different in statistical analysis. MI and AI positively correlated in both variants (all  $p < 0.0001$ ). In addition to excellent reproducibility of tumour cellularity estimation, the study shows that both variations of assessment of MI and AI are suitable for further prognostic and predictive studies. Both variants confirmed a positive interrelationship between AI and MI in NHLs. The study newly revealed that apoptosis in NHLs is a diffuse phenomenon in contrast to focally accentuated proliferation activity. Finally, the relatively high interpersonal variability needs to be improved.

**Keywords:** tumour cellularity, apoptotic index, mitotic index, non-Hodgkin's lymphomas

### Úvod

Mezi prognostické parametry nádorů, studované v posledních letech, patří mitotický (MI) a apoptotický (AI) index, u některých typů též celularita. (1) U non-Hodgkinských maligních lymfomů (NHL) bylo opakovaně prokázáno, že MI je, spolu s dalšími proliferací markery, významným prognostickým parametrem (2,3), přičemž je zjišťována signifikantní pozitivní korelace mezi proliferací indexy a AI (4,5,6,7). Některé studie ukazují, že vysoký AI může být nepříznivým prognostickým faktorem, nezávisle na histologickém gradu (4,8). Protože se jedná o relativně nově zavedené metody, je nezbytné ověření jejich reprodukovatelnosti a klinické validity. Cílem naší studie bylo srovnání výsledků dvou variant detekce MI a AI a zhodnocení jejich předností resp. nevýhod.

### Materiál a metody

Byl použit archivní formol-parafinový materiál, bloky se vzorky od 54 pacientů s B-NHL, ze kterých byly zhotoveny řezy o tloušťce 7  $\mu$ m a nabarveny Mayerovým hematoxylinem. Při morfologické identifikaci a počítání mitotických a apoptotických figur byl využit systém analýzy obrazu LUCIA G. Detekce apoptotických buněk je prováděna na základě těchto morfologických charakteristik: kondenzace chromatinu, marginace chromatinu při jaderné membráně, tvorba apoptotických tělísek, ztráta kontaktu apoptotické buňky s okolím. Použité zvětšení optického mikroskopu bylo 400 $\times$ . U každého případu byly mitotické a apoptotické figury odečítány na devíti

polích o celkové ploše 0,126 mm<sup>2</sup>, přičemž jedno pole odpovídalo cca 1/14 zorného pole mikroskopu o ploše 0,014 mm<sup>2</sup>, zvětšené systémem analýzy obrazu na velikost obrazovky monitoru počítače. Každé snímání bylo archivováno pro pozdější stanovení celularity.

U varianty metody A byla provedena preselekce na plochu s maximální mitotickou aktivitou, u varianty B byl výběr plochy náhodný.

Nádorová celularita byla stanovována jako počet jader nádorových buněk semiautomaticky s použitím systému analýzy obrazu u každého případu na všech 9 polích, totožných s lokalitami, na kterých byly odečítány apoptotické i mitotické figury. Pomocí automatického nastavení prahů v binární masce obrazu, kombinovaného s manuální korekcí binární masky, byly systémem analýzy obrazu spočítány nádorové buňky. Nenádorové (reaktivní) buňky byly vyloučeny, opět manuální korekcí.

Po stanovení nádorové celularity byly u každého případu vypočítány AI a MI v procentech.

Pro statistické hodnocení získaných dat byl využit Wilcoxonův párový test se stanovením Spearmanova korelačního koeficientu. U srovnávaných dat, jevících normální rozložení, byl stanoven Pearsonův korelační koeficient.

### Výsledky

Histologicky s využitím systému analýzy obrazu byl určen celkový počet nádorových jader u metody A průměrně 2608,1  $\pm$  972,3, u metody B průměrně 2954,8  $\pm$  1036,0. Mitotický

index stanovený jako procento mitotických figur z celkového počtu jader nádorových buněk byl při metodě A průměrně 1,61 +/- 1,50 a při metodě B 0,28 +/- 0,14. Apoptotický index byl průměrně 0,97 +/- 1,84, respektive 0,56 +/- 0,84.

Počty nádorových jader stanovených oběma metodami nevýkazují statisticky významný rozdíl ( $r=0,92$ ;  $p<0,0001$ /Pearson/), stejně jako počty apoptotických figur ( $r=0,63$ ;  $p<0,0001$ ).

Počty mitóz získané oběma metodikami se značně liší, ale je mezi nimi závislost při stanovení Spearmanova korelačního koeficientu ( $r=0,57$ ;  $p<0,0001$ ).

Při srovnání hodnot MI získaných metodou A a B byla zjištěna statisticky významná korelace ( $r=0,72$ ;  $p<0,0001$ ). Totéž platí pro hodnoty AI ( $r=0,75$ ;  $p<0,0001$ ).

Dále byla prokázána statistická závislost mezi hodnotami MI a AI v rámci obou metod, u metody A:  $r=0,85$ ;  $p<0,0001$ , u metody B:  $r=0,75$ ;  $p<0,0001$ .

## Diskuse

Standardizace měření vyžaduje znalost možných zdrojů chyb. Lze je hledat v těchto oblastech: zpracování bioptického materiálu - fixace a parafinová procedura, varírující síla řezů. Zde by se výhodně uplatnily polosilné řezy z materiálu zalitého v syntetických pryskyřicích. Největší problémy lze ovšem očekávat z hlediska selekce měřené plochy a intra i interpersonální variability při detekci apoptotických a mitotických figur, stejně tak při stanovení nádorové celularity.

Studie překvapivě ukázala, že stanovení nádorové celularity s využitím systému analýzy obrazu poskytlé nezávisle na typu selekce hodnocené plochy výborně reprodukovatelné výsledky, vyjádřené velmi těsnou korelací. Srovnání s literárními údaji není snadné, neboť variabilita hodnocení celularity na lymfomech není studována.

Co se týká interpersonální variability při stanovení AI opticky, z nečetných literárních pramenů je patrné, že je poměrně vysoká. Podle práce Hawkinse et al. (9), srovnávající detekci apoptózy metodou ISEL (obdoba TUNELu z hlediska koncové detekce) s počítáním apoptotických figur u kolorektálních karcinomů, byla variabilita vyjadřována jako rozdíl mezi průměrnými hodnotami AI zjištěné dvěma pozorovateli, vztaženými k větší hodnotě průměrného AI, a byla v rozmezí 24-70%. Pokud bychom obdobně vyjádřili variabilitu mezi námi provedenými metodikami, její hodnota by byla 42,3%. Poněvadž z této hodnoty jde v naší práci jen část na vrub interpersonální variability, lze u nás předpokládat menší interpersonální variabilitu a větší reprodukovatelnost.

Co se týká výše hodnot AI, ze srovnání se studií na lymfomech, provedenou flow cytometricky (10), kde byl stanoven medián frakce apoptotických nádorových buněk 1,1 %, vyplývá, že této hodnotě se blíží spíše údaj zjištěný metodou se selekcí na místa nejvyšší mitotickou aktivitou (průměr 0,97%). Tato diference může být částečně připsána metodě značení apoptotických buněk ve

výše zmíněné studii, kdy byl k detekci použit TUNEL. Tato technika je běžně užívána, ovšem není zcela specifická, neboť jsou slabě barveny i buňky zanikající nekrózou. Dalším zdrojem rozdílů je schopnost této techniky značit buňky v časně fázi apoptózy, které dosud nejeví její klasické morfologické rysy. Podle studie provedené na našem ústavu (11) byl počet apoptotických buněk detekovaných TUNELem cca o 20 % vyšší než opticky.

Dále je zřejmé, že ačkoli se absolutní počty mitóz získané oběma variantami liší, což vyplývá ze samotné podstaty metod, četnost mitotických figur po korekci na celularitu vykazuje statisticky významnou korelaci. To naznačuje, že by mohlo být z hlediska výpočtu MI lhostejné, který způsob výběru hodnocené plochy bude použit. V literatuře jsou uváděny obě možnosti stanovení markerů proliferace, tedy jak stanovení z náhodně vybraných polí histologických řezů, tak určování z míst nejvyšší proliferací aktivity (4, 5, 12). Je vhodné ověření tohoto nálezu v rozsáhlejší studii.

Naše studie potvrdila opakovaně prokazovanou pozitivní korelaci AI a MI (4, 5, 6, 7). Tyto nálezy podporují hypotézu, že mechanismy regulující apoptózu a mitózu jsou aktivovány v průběhu buněčného cyklu společně. Osud buňky je nakonec dán komplexní, dosud detailně neznámou interakcí prorůstových a supresorových signálních faktorů.

Dalším výsledkem studie je zjištění, že apoptóza u NHL je v podstatě difúzní proces. Lze předpokládat velmi komplexní řídicí mechanismus, v terminálních stádiích odlišný od regulace proliferace. V případě alterace apoptotického mechanismu (např. p53) není tato selektována na proliferující partie nádoru. Naopak mitotická aktivita je fokálně akcentována lokálními faktory nebo vlivem mutační klonální selekce.

Při hodnocení časové efektivity obou našich metodik se jeví z hlediska rychlosti provedení výhodnější varianta bez nutnosti selekce na místa s nejvyšší proliferací aktivitou. To je dáno časově náročným vyhledáváním oblastí s maximální mitotickou aktivitou v celém preparátu.

Závěrem je možno konstatovat, že metody užívající ke stanovení kvantitativních parametrů buněčné kinetiky optickou detekci, jsou sice subjektivní, zatížené intra i interpersonální variabilitou, ale jiné postupy se nejeví přesnější (7, 9). Důraz na standardizaci a získání metodické praxe variabilitu snižuje. Do budoucna je perspektivní testování biologického významu odlišností AI a MI, získaných různými variantami metodik, ve vztahu ke klinickým prognostickým ukazatelům.

**Studie byla provedena v rámci grantového projektu GAČR No. 301/96/K047 a podpořena darem Kanadského velvyslanectví v Praze z výtěžku Běhu Terryho Foxe a firmou Ferring-Léčiva a. s. Praha.**

**Autoři děkují paní Libuši Rašovské za spolupráci při hodnocení celularity obrazovou analýzou LUCIA G.**

## Reference:

1. Kerr J. F. R., Winterford C. M., Harmon B. V. Apoptosis: its significance in cancer and cancer therapy. *Cancer* 1994;73:201326.
2. Donhuijsen K. Mitoses in non-Hodgkin's lymphomas. Frequency and prognostic relevance. *Pathol. Res. Pract.* 1987;182(3):352-357.
3. Akerman M., Brandt L., Johnson A., Olsson H. Mitotic activity in non-Hodgkin's lymphoma. Relation to the Kiel classification and to prognosis. *Br. J. Cancer* 1987;55(2):219-223.
4. Leoncini L., Del Vecchio M. T., Megha T., Barbini P., Galieni P., Pileri S., Sabattini E., Gherlinzoni F., Tosi P., Kraft R. et al. Correlations between apoptotic and proliferative indices in malignant non-Hodgkin's lymphomas. *Am J Pathol* 1993; 142(3):755-763.
5. Gisbertz I. A. M., Schouten H. C., Bot F. J., Arends J.-W. Cell turnover parameters in small and large cell varieties of primary intestinal Non-Hodgkin's lymphoma. *Cancer* 1998; 83(1):158-65.
6. Vagunda V., Kalabis J., Pochmon D., Petraková K., Koukalová H., Vagundová M., Drbal J., Havráňková L. Apoptotický a mitotický index u B lymfomů: Analýza prognostických faktorů u 53 pacientů se 7-letým sledováním. V tisku *Klinická onkologie* 1998.
7. Gisbertz I. A. M., Schouten H. C., Bot F. J., Arends J.-W. Proliferation and apoptosis in primary gastric B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Histopathology* 1997;30(2):152-159.
8. Takano Y., Saegusa M., Ikenaga M., Okayasu I. Apoptosis and proliferative activity of non-Hodgkin's lymphomas: comparison with expression of bcl-2, p53 and c-myc proteins. *Pathol Int* 1997;47(2-3):90-94.
9. Hawkins N. J., Lees J., Ward R. L. Detection of apoptosis in colorectal carcinoma by light microscopy and in situ end labelling. *Analyt Quant Cytol Histol* 1997;19(3):227-232.
10. Stokke T., Holte H., Smedshammer L., Smeland E. B., Kaalhus O., Steen H. B. Proliferation and apoptosis in malignant and normal cells in B-cell non-Hodgkin's lymphomas. *Br J Cancer* 1998 Jun;77(11):1832-1838.
11. Vagunda V., Kalabis J., Pochmon D. Detection of apoptosis: good correlation between the apoptotic figure counting and the TUNEL technique. V tisku *Analyt Quant Cytol Histol* 1998.
12. del Vecchio M. T., Leoncini L., Buerki K., Kraft R., Megha T., Barbini P., Tosi P., Cottier H. Diffuse centrocytic and/or centroblastic malignant non-Hodgkin's lymphomas: comparison of mitotic and pyknotic (apoptotic) indices. *Int J Cancer* 1991;47:38-43.

# původní práce

## APOPTOTICKÝ A MITOTICKÝ INDEX U B LYMFOMŮ: ANALÝZA PROGNOSTICKÝCH FAKTORŮ U 53 PACIENTŮ SE 7LETÝM SLEDOVÁNÍM

## APOPTOTIC AND MITOTIC INDEXES IN B LYMPHOMAS: PROGNOSTIC FACTOR ANALYSIS IN 53 PATIENTS WITH 7 YEAR FOLLOW-UP

VAGUNDA V., KALABIS J., POCHMON D., PETRÁKOVÁ K., KOUKALOVÁ H., VAGUNDOVÁ M., DRBAL J., HAVRÁNKOVÁ L.

MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV, BRNO

**Souhrn:** U 53 B lymfomů byly hodnoceny tyto prognostické parametry: grade (Kiel), věk, stadium, apoptotický a maximální mitotický procentní index, celularita a procento CD45RO pozitivních (T reaktivních) buněk; s pomocí obrazové analýzy systémem LUCIA-G. Dále semikvantitativně procento Bcl-2 a Ki-67 nádorových buněk a akumulace p53 a p21. Při korelační statistické analýze apoptotický index vysoce pozitivně koreloval s gradem, s mitotickým indexem, Ki-67 a p53 imunopositivitou. Negativně výrazně koreloval s Bcl-2, přičemž Bcl-2 negativně korelovala s p53. Nebyla nalezena korelace s p21, s počtem CD45RO buněk ani s přežitím, disease-free intervalem či stádiem. Výsledky ukazují, že apoptóza u B lymfomů je Bcl-2 dependentní. Potvrdilo se, že u lymfomů je při vyšší proliferaci (mitózy či Ki-67) zároveň i vyšší počet apoptóz. Komplexní regulační mechanismy jsou předmětem diskuse. Upřesnění vzájemných vztahů, i k prognóze, lze dále očekávat od multivariační analýzy. Apoptoticko-mitotický index, alterace p53 a Bcl-2 jsou velmi nadějnými prediktivními faktory pro specifické typy protinádorové terapie.

**Klíčová slova:** B lymfom, apoptóza, proliferace, Bcl-2, p53, prognóza.

**Summary:** Prognostic factors of 53 B lymphomas were evaluated: Grade (Kiel), age, stage, apoptotic and maximal mitotic indexes, cellularity and percent of CD45RO cells (T reactive); with the aid of the image analysis system LUCIA-G. Percent of Bcl-2<sup>+</sup> and Ki-67<sup>+</sup> tumor cells, and overexpression of p 53 and p 21 were evaluated semiquantitatively. For apoptotic index, statistical analysis revealed high positive correlation with grade, mitotic index, Ki-67 and p53 overexpression while a negative correlation was found with Bcl-2. No correlation appeared with p21, number of CD45RO cells, stage, disease-free interval and survival. Bcl-2 showed negative correlation with p53 overexpression. The results demonstrate dependence of apoptosis on Bcl-2. They confirm that with B lymphomas high proliferation (Ki-67 or mitoses) is associated with a high number of apoptoses. Complex regulation mechanisms are discussed. Further multivariate statistical analysis is desirable to reveal mutual interrelationships, including prognosis. Apoptotic and mitotic indexes, Bcl-2 and p53 alterations are very promising factors for predicting results of specific anti-tumor therapy.

**Key words:** B lymphoma, apoptosis, proliferation, Bcl-2, p53, prognosis.

### tvod

Mezi prognostickými a prediktivními faktory u nádorů jsou často studovány proliferční markery. I když je dobře známo, že neoplastický růst závisí na rozdílu mezi produkcí a ztrátou buněk, je v humánních nádorech překvapivě málo kvantitativních informací o zániku nádorových buněk apoptózou. V této studii jsme se kromě hodnocení apoptózy u lymfomů také zaměřili na studium biologických markerů asociovaných s apoptotickým procesem, kde lze očekávat nejen přínos k poznání mechanismů apoptózy, ale také terapeutické implikace.

### Materiál a metodika

Z archivního materiálu M O Ú Brno bylo vybráno 53 B lymfomů, kde pacienti byli po standardní léčbě dlouhodobě sledováni. Všechny diagnózy byly ověřeny imunohistochemicky s CD20, CD45RO, kappa, lambda i širším panelem protilátek dle individuální potřeby a revidovány dle Lennerta a Felleri (A). U každého případu byly kromě věku, Kielské klasifikace a klinického stádia vyhodnoceny následující předléčebné prognostické parametry.

Mitózy, apoptózy, CD45RO buňky a celularita byly spočítány s použitím automatického systému pro analýzu obrazu LUCIA G verze 3.52, vybaveném 3 CCD kamerou Hitachi. Po

nabarvení tenkých řezů HE byl proveden předvýběr měřené plochy se zřetelem k maximální mitotické aktivitě a zde následně počítání mitotických a apoptotických figur s použitím objektivu 40x a živého okna na obrazovce počítače. Bylo hodnoceno vždy 9 přilehlých obrazkových polí o celkové ploše 0,12635 mm. čtv. Jako apoptotická figura se hodnotila buď typická buňka s kondenzací a marginací chromatinu nebo typické tělísko tvořené densní chromatinovou hrudkou velikosti alespoň 0,5 mikrometru. V případě vícečetných, u sebe se nacházejících tělísek, byla provedena opticky integrace podle množství a plochy, na které byla rozmístěna, do 1 či 2 apoptotických figur. V archivovaných obrazech byla následně napřahována jádra a po individuální korekci, s vyloučením nenádorových elementů, stanovena automaticky celularita a semiautomaticky počet CD45RO elementů. Průměrně bylo hodnoceno 2330 nádorových buněk najeden lymfom.

Imunoreakce byly provedeny obvyklým způsobem s použitím protilátek Novocastra, pouze pro Ki67 byla použita MIB-1 Biogenex a pro p21 WA1 (MOÚ). Kromě Bcl-2 a protilátek proti CD a lehkým řetězcům, byla použita metodika revitalizace antigenů ve speciální mikrovlnné troubě microMED BASIC - pro Ki67, p53 (DO1, DO11) ap21. Imunopositivita nádorových buněk byla hodnocena semikvantitativně v pro-

centech, vždy nejméně dvěma patologi. Pro akumulaci (overexpresi) p53 a p21 byla zvolena prahová hodnota 5%, u p53 detekovaná alespoň jednou z obou použitých protilátek. Při statistickém hodnocení byl použit Spearmanův pořadový korelační koeficient, systém STATA.

### Výsledky

Dle Kielské klasifikace bylo v sestavě 41% high grade lymfomů a 59% low grade lymfomů. Průměrný věk pacientů byl 53,7 let. Celkové přežití bylo 34% při průměru 51,3 měsíců, s bezpříznakovým přežitím v průměru 29,8 měsíců.

Apoptotický procentní index kolísal v rozsahu 0,01 - 11,75% při průměru 0,97%. Maximální mitotický index byl 0,12 - 5,57%, s průměrem 1,61%. Obrazovou analýzou bylo vyhodnoceno průměrně 2330 buněk na jeden lymfom, celularita byla od 4662 do 35773 buněk na čtver. mm. Procentní rozsahy imunopositivity byly: CD45RO 0,2 - 51%, Bcl-2: 0 - 95%, Ki 67: 5 - 85%. Akumulaci p53 vykazovalo 15% lymfomů, u p21 jen 4%.

Při korelační analýze apoptotický index vysoce pozitivně koreloval s gradem dle Kielské klasifikace ( $r=0,72$ ,  $p<0,001$ ), s mitotickým indexem (obr.č. 1,  $r=0,837$ ,  $p<0,001$ ), Ki-67 ( $r=0,724$ ,  $p<0,001$ ) a p53 ( $r=0,350$ ,  $p=0,01$ ) akumulací. Negativně výrazně koreloval s Bcl-2 (obr.č. 2,  $r=-0,663$ ,  $p<0,001$ ), přičemž Bcl-2 negativně korelovala s p53 ( $r=-0,341$ ,  $p=0,012$ ). Nebyla nalezena korelace s p21, s počtem CD45RO buněk ani s přežitím, disease-free intervalem či stádiem.

Dále byly nalezeny statisticky významné negativní korelace mezi Bcl-2 a gradem ( $r=-0,603$ ,  $p<0,001$ ), Ki-67 ( $r=-0,668$ ,  $p<0,001$ ) a mitotickým indexem ( $r=-0,644$ ,  $p<0,001$ ). Mitotický index pozitivně koreloval s Ki-67 ( $r=0,713$ ,  $p<0,001$ ), gradem ( $r=0,70$ ,  $p<0,001$ ) a p53 akumulací ( $r=0,437$ ,  $p=0,001$ ), tato také pozitivně s Ki-67 ( $r=0,308$ ,  $p=0,023$ ). Procento CD45RO ( $r=0,335$ ,  $p=0,016$ ) buněk korelovalo pozitivně pouze s mitotickou aktivitou. Celularita korelovala negativně pouze s p53 ( $r=-0,380$ ,  $p=0,005$ ).

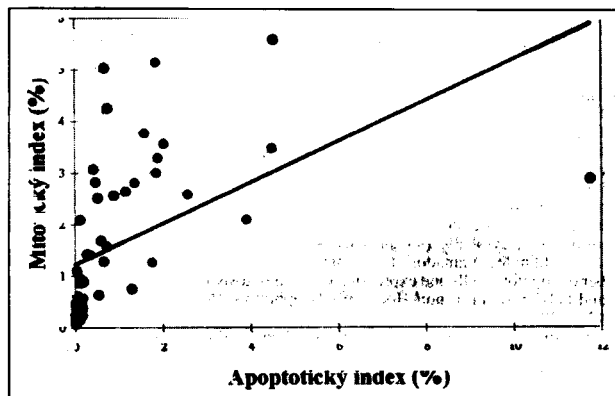
### Diskuse

Potvrdilo se, že u B lymfomů výborně mezi sebou korelují grade a proliferace (2,3), ať již stanovená mitotickým indexem či Ki-67. Tyto tři kladně korelují s apoptotickým indexem. Tento nález může být specifický pro lymfomy. Nález zároveň podporuje hypotézu, že mechanismy kontrolující apoptózu a proliferaci jsou zde společně aktivovány v průběhu buněčného cyklu (4). Zda buňka nakonec přejde do mitózy či podlehe apoptóze závisí na dalších regulačních faktorech. Vysoká spontánní apoptóza u lymfomů tedy není prognosticky příznivým faktorem, ukazuje na vysoký buněčný obrát u skupiny s vysokou malignitou. Ověření prognostického významu kombinovaných proliferace - apoptotických indexů, včetně indexu apoptóze plus mitóza, zůstává v centru dalšího výzkumu.

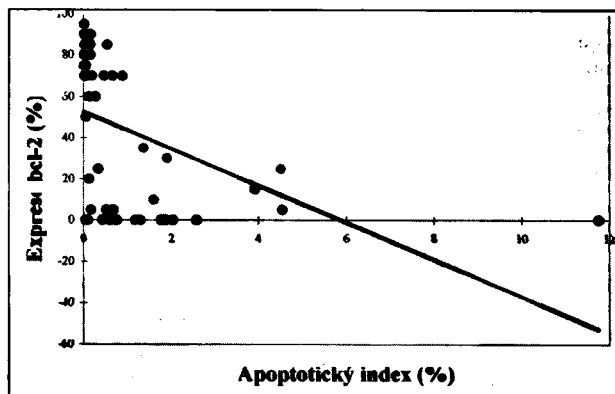
Na rozdíl od některých studií (5, 6) byla prokázána negativní korelace mezi apoptotickým indexem a Bcl-2 (7), kde vyšší imunopositivity antiapoptotického Bcl-2 souvisí s nízkou frekvencí apoptózy. Regulační vztahy mohou být ovšem velmi složité a komplexní, jak naznačuje i negativní korelace mezi Bcl-2 a mitotickým indexem a zejména vztahy všech uvedených parametrů k p53 (8). Tento má komplexní funkci (regulace několika stovek genů), je „proapoptotický“ a mj. aktivuje transkripci BAX, který je akcelérátorem apoptózy. BAX inhibuje Bcl-2, což potvrzuje i námi nalezená negativní korelace mezi p53 a Bcl-2. Tento nález naznačuje, že akumulovaný (overexprimovaný) p53 je u většiny B lymfomů funkční, což je zároveň doloženo nalezenou kladnou korelací mezi mezi apoptózou a p53 akumulací a nakonec podpořeno byť nečetnými literárními údaji o relativně malé frekvenci mutací p53 u lymfomů (9).

Na druhou stranu, nalezená pozitivní korelace mezi p53 a proliferací, jedná-li se ovšem vůbec o příčinnou závislost - může souviset s účastí specificky mutovaného p53 v kancerogenezi vysoce proliferujících lymfomů, jak naznačují některé literární údaje. Překvapivě nízká overexprese p21 neumožnila pro-

Obr. 1. Korelace apoptotického a mitotického indexu



Obr. 2. Korelace apoptotického indexu a exprese bcl-2



vést podrobnější statistickou analýzu a tím ani nepřispěla k otázce vzájemného vztahu s p53. Pro poznání regulačních mechanismů zůstává klíčové ověření mutací a také funkčnosti p53, např. testem FASAY, kdy mutace nemusí znamenat ztrátu aktivity. Tyto testy jsou ovšem často limitovány dostupností čerstvého materiálu a finanční náročností.

Dále nalezené korelace, negativní mezi p53 a celularitou, pozitivní mezi procentem CD45RO buněk a mitotickou aktivitou mohou být náhodnými nálezy, ale také zprostředkovaným výrazem biologických vazeb. CD45RO buňky, většinou T reaktivní (ojediněle jsou pozitivní i nádorové B buňky) mohou komplexními imunologickými mechanismy zvyšovat proliferaci nádorových B buněk. Uprášení vzájemných korelací i vztahů k prognóze lze dále očekávat od multivariační analýzy.

Apoptotický index (10) či související alterace Bcl-2 (11, 12, 13) a p53 (14) se v některých studiích ukazují jako prognostické faktory nezávislé na tradičních. Jiné studie (15), včetně naší, tuto nezávislost nepotvrzují. Nejednotné výsledky mohou být dány rozdíly v terapeutických protokolech, kdy naprostá většina pacientů je specificky léčena, takže nelze studovat souvislosti s přirozeným průběhem choroby. V každém případě jde o velmi nadějně faktory pro predikci účinnosti specifické terapie (16), včetně chemo a radioterapie. Apoptotický a mitotický index jsou do budoucna, až bude šířeji zavedeno hodnocení sekvenčních biotických či cytologických odběrů, důležitými parametry v hodnocení účinnosti protinádorové terapie, zejména nových agresivních vysokodávkových režimů.

Práce byla provedena v rámci grantového projektu GAČR No. 301/96/K047a podpořena darem Kanadského velvyslanectví v Praze z výtěžku Běhu Terryho Foxe.

Děkujeme za provedení imunoreakcí paní H. Bursové a E. Mikoškové a za hodnocení celularity v systému LUCIA paní L. Rašovské.

#### Literatura:

- 1 Lennert, K., Feller, A. C. et al.: Histopathology of non-Hodgkin's lymphomas. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 1981, 1990.
- 2 Gishbertz, I. A. M., Schouten, H. C., Bot, F. J., Arends, J. W.: Proliferation and apoptosis in primary gastric B-cell non-Hodgkin's lymphoma. Histopathology, 30, 1997, s. 152-159.
- 3 Takano, Y., Saegusa, M., Masuda, M. et al.: Apoptosis, proliferative activity and Bcl-2 expression in Epstein-Barr-virus-positive non-Hodgkin's lymphomas. J. Cancer Res. Clin. Oncol. 123, 1997, s. 395-401.
- 4 Du, M., Singh, N., Hussein, A. et al.: Positive correlation between apoptotic and proliferative indices in gastrointestinal lymphomas of mucosa-associated lymphoid tissue (MALT). J. Pathol., 178, 1996, 4, s. 379-384.
- 5 Symmans, W. F., Katz, R. L., Ordonez, N. L. et al.: Transformation of follicular lymphoma. Expression of p53 and bcl-2 oncoprotein, apoptosis and cell proliferation. Acta Cytol. 39, 1995, 4, s. 673-682.
- 6 Aftabuddin, M., Yamadori, I., Yoshino, T. et al.: Correlation between the number of apoptotic cells and expression of the apoptosis-related antigens Fas, Le(y) and bcl-2 protein in non-Hodgkin's lymphomas. Pathol. Int., 45, 1995, 6, s. 422-429.
- 7 Leoncini, L., Del Vecchio, M. T., Spina, D. et al.: Presence of the bcl-2 protein and apoptosis in non-Hodgkin's lymphomas with diffuse growth pattern. Int. J. Cancer. 61, 1995, 6, s. 826-831.
- 8 Takano, Y., Saegusa, M., Ikenaga, M.: Apoptosis and proliferative activity of non-Hodgkin's lymphomas compared with expression of bcl-2, p53 and c-myc proteins. Pathol. Int. 47, 1997, 2-3, s. 90-94.
- 9 Koduru, P. R., Raju, K., Vadmal, V.: Correlation between mutation in P53, p53 expression, cytogenetics, histologic type, and survival in patients with B-cell non-Hodgkin's lymphoma. Blood 90, 1997, 10, s. 4078-4091.
- 10 Leoncini, L., Del Vecchio, M. T., Megha, T.: Correlations between apoptotic and proliferative indices in malignant non-Hodgkin's lymphomas. Am. J. Pathol. 142, 1993, 3, s. 755-763.
- 11 Gascoyne, R. D., Adomat, S. A., Krajewski, S.: Prognostic significance of Bcl-2 protein expression and Bcl-2 gene rearrangement in diffuse aggressive non-Hodgkin's lymphoma. Blood 90, 1997, 1, s. 244-251.
- 12 Hill, M. E., MacLennan, K. A., Cunningham, D. C., Vaughan, H. B. et al.: Prognostic significance of BCL-2 expression and bcl-2 major breakpoint region rearrangement in diffuse large cell non-Hodgkin's lymphoma: a British National Lymphoma Investigation Study. Blood, 88, 1996, 3, s. 1046-1051.
- 13 Herminé, O., Haioun, C., Lepage, E. et al.: Prognostic significance of bcl-2 protein expression in aggressive non-Hodgkin's lymphoma. Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte (GELA). Blood. 87, 1996, 1, s. 265-272.
- 14 Piris, M. A., Pezzella, F., Martinez-Montero, J. C. et al.: p53 and bcl-2 expression in high-grade B-cell lymphomas: correlation with survival time. Br. J. Cancer. 69, 1994, 2, s. 337-341.
- 15 Czader, M., Mazur, J., Pettersson, M.: Prognostic significance of proliferative and apoptotic fractions in low grade follicle center cell derived non-Hodgkin's lymphomas. Am. Cancer Soc. 26, 1995, 6, s. 1180-1188.
- 16 Milross, C. G., Mason, K. A., Hunter, N. R.: J. Natl. Cancer Inst. 88, 1996, 18, s. 1308-1314.

# informace

## INFORMACE O SJEZDU

XXIII. brněnské onkologické dny  
XX. OEIC Scientific Meeting  
XIII. konference SZP  
Brno, 7.-9. května 1999

Brněnské onkologické dny budou mít v roce 1999 netradiční scénář, formu a obsah. Organizace evropských onkologických ústavů (Organisation of European Cancer Institutes, OEIC, člen UICC), který sdružuje 80 evropských pracovišť, pořádá každý rok v jednom z členských center Scientific Meeting k vybrané topice. Organizací slavnostního XX. OEIC Scientific Meeting byl pověřen Masarykův onkologický ústav a proběhne v rámci Brněnských onkologických dnů. Brněnské onkologické dny budou mít všechny obvyklé součásti: setkání vedoucích center Národního onkologického registru v krajích a okresech a vedoucích sester, Konferenci SZP, satelitní sympozia. Hlavní odborný program budeme sdílet s 80 řediteli evropských onkologických ústavů a takřka 100 zahraničních a domácích patologů, proto je oficiálním jednacím jazykem **angličtina**.

Téma onkologických dnů „Advances in Biology and Treatment of Breast Cancer“ je pojato jako edukační, s důrazem na kvalitu přednášejících, aby byly splněny náročné podmínky OEIC.

Vědecký program je rozdělen do tří sekcí:

1. Advances in Molecular Biology. Prognostic and Predictive Pathology
2. Advances in the Treatment of Early Breast Cancer
3. Advances in the Treatment of Metastatic Breast Cancer

OEIC Pathology Group má vlastní paralelní edukační program:

1. Grading in Neoplastic Diseases and Premalignant Related Lesions
2. Fact and Controversies on Breast Cancer
3. Slide seminar: Unusual Cases in Breast Pathology
4. Fine Needle Cytology Pathology

Ze zahraniční se aktivně účastní např.: B. Weberová (USA), L. Teppo (Finsko), B. Gusterson (Velká Británie), C. Elston (Velká Británie), P. E. Lonning (Norsko), C. Hudis (USA), T. Petit (Francie), V. J. V. D. Steene (Belgie), J. M. Nabholz (Kanada), S. Rodenhuis (Holandsko), P. F. Conte (Itálie).

Domácí autoři mohou odevzdat postery v anglickém jazyce.

V případě, že jste ještě neobdrželi pozvánku a program cestou Onkologické společnosti, můžete se obrátit na paní Pavlu Hodešovou, Oddělení epidemiologie nádorů MOÚ, tel. 05/43 13 69 05, E-mail: [direct@mou.cz](mailto:direct@mou.cz).

# KONFORMNÍ VERSUS KONVENČNÍ RADIOTERAPIE KARCINOMU PROSTATY: DOZIMETRICKÉ POROVNÁNÍ S VYUŽITÍM OBJEMOVÝCH HISTOGRAMŮ

## CONFORMAL VS. CONVENTIONAL RADIOTHERAPY OF PROSTATE CANCER: DOSIMETRIC COMPARISON USING DOSE-VOLUME HISTOGRAMS

ODRÁŽKA K., VAŇÁSEK J., VACULÍKOVÁ M., ZOUHAR M., KADEČKA D.

KLINIKA RADIOTERAPIE A ONKOLOGIE FN HRADEC KRÁLOVÉ

**Souhrn:** *Východiska:* Porovnání konformní a konvenční techniky radioterapie v léčbě karcinomu prostaty. *Typ studie a soubor:* Retrospektivní klinická studie porovnávající ozařovací plány u 10 pacientů s lokalizovaným karcinomem prostaty. *Metody a výsledky:* Vyhodnotili jsme konformní techniku (3 pole) a konvenční techniku (4 pole); obě byly izocentrické a koplánární. Na CT řezech jsme vyznačili kontury klinického cílového objemu (prostata a báze semenných váčků) a rizikových orgánů (rektum, močový měchýř, femury). Přidali jsme lem 10 mm, který definoval plánovací cílový objem (PTV). Pole u konformní techniky byla tvarována vícelistovým kolimátorem (MLC), zatímco u konvenční techniky zůstala otevřená. S využitím objemových histogramů jsme v PTV porovnávali homogenitu dávky a v rizikových orgánech střední dávky (Dm) a frakce objemu zatížené referenční dávkou (V50, V80, V95). Distribuce dávky v PTV byla méně homogenní u techniky konformní než u techniky konvenční. Konformní technika významně šetřila rektum a močový měchýř ve všech hodnocených parametrech ve srovnání s technikou konvenční ( $p < 0.005$ ). Přínos je patrný zejména v oblasti vysoké dávky (V95). Dm v hlavicích femurů byla vyšší u konformní techniky než u konvenční ( $p < 0.005$ ). Laterální partie femurů byly exponovány nejvíce. *Závěry:* Konformní technika, v porovnání s konvenční, šetří rizikové orgány (rektum, močový měchýř) s výjimkou femurů a umožňuje tak zvýšení dávky na 75-81 Gy, což pravděpodobně povede ke zlepšení lokální kontroly onemocnění.

**Klíčová slova:** Karcinom prostaty; Konformní radioterapie; Objemové histogramy

**Abstract:** *Background:* Comparing conformal and conventional irradiation techniques in the treatment of prostate cancer. *Design and Subjects:* Retrospective clinical study comparing the treatment plans of 10 patients with localized prostate cancer. *Methods and Results:* The conformal technique (3 fields) and the conventional technique (4 fields) have been assessed; both of them were isocentric and coplanar. The contours of the clinical target volume (prostate and the base of seminal vesicles) and organs at risk (rectum, urinary bladder, femoral heads) were outlined on CT scans. A margin of 10 mm was added to define the planning target volume (PTV). The fields of the conformal technique were shaped using multileaf collimator (MLC), while left opened for the conventional technique. The dose homogeneity in the PTV and the mean doses (Dm) and the fractions of the volume receiving the reference dose (V50, V80, V95) in the organs at risk were compared using dose-volume histograms. The conformal technique was worse than the conventional technique when considering dose distribution homogeneity in the PTV. Regarding all the measured parameters, the rectum and urinary bladder were significantly spared by the conformal technique as compared to the conventional technique ( $p < 0.005$ ). This benefit has been observed particularly in the high-dose region (V95). In the femoral heads, Dm was higher for the conformal technique than for conventional one ( $p < 0.005$ ). The lateral parts of femoral heads were maximally exposed. *Conclusions:* The conformal technique, with respect to the conventional technique, provides better sparing of the organs at risk (rectum and bladder) excluding femoral heads, thus allowing for dose escalation to 75-81 Gy, which would probably result in improved local control of the disease.

**Key words:** Prostate cancer; Conformal radiotherapy; Dose-volume histograms

### 1. Úvod

Konformní radioterapie využívající trojrozměrného plánování (3D-CRT) umožňuje přesnější provedení léčby zářením než radioterapie konvenční. Hlavní přínos této metody spočívá v šetření okolních zdravých tkání, což předurčuje dva základní směry jejího klinického využití: 1. redukce morbidit při aplikaci standardních dávek záření, nebo 2. aplikace vyšších dávek záření bez signifikantního zvýšení morbidit.

Radioterapie zaujímá významné postavení v lokální léčbě karcinomu prostaty od 50. let tohoto století (2,31). Dlouhodobé výsledky konvenční radioterapie jsou srovnatelné s radikální prostatektomií i přes rozdílný výběr pacientů a absenci chirurgického stagingu uzlin u většiny ozařovaných (14,21,25,26,42). Hanks a spol. (15) analyzovali výsledky studií Patterns of Care a RTOG a uvádějí, že bez lokálního relapsu je po 10 letech 80-100% pacientů T1 NX (N0), 70-88% nemocných ve stádiu T2 a 60-81% u T3. Poléčebné biopsie, provedené dva roky po ozaření, jsou ovšem pozitivní u 30-40%

pacientů s nálezem T2 a u 60-80% pacientů s lokálně pokročilým tumorem T3 (9,22). Lokální perzistence tumoru je spojena s vyšší incidencí distantních metastáz a kratším přežitím. Kurabilitu onemocnění ovlivňuje zásadním způsobem dávka záření, která je nezávislým prediktorem relapsu nebo rostoucího PSA (29). Konvenční techniky umožňují za přijatelné toxicity aplikovat dávku přibližně 70 Gy. Zvýšení dávky nad tuto hranici, a zejména nad 75 Gy, je spojeno s výrazným nárůstem morbidit (9,38).

Dozimetrické analýzy vycházející z objemových histogramů ukazují, že konformní techniky redukuje expozici rizikových orgánů o 10-30% ve srovnání s konvenčními (9,39,43).

Dosavadní studie s konformní radioterapií prokázaly možnost eskalace dávky záření těsně nad hranici 80 Gy bez signifikantního zvýšení pozdních komplikací (36,45). Řada prací potvrzuje, že biochemická kontrola (normalizace PSA) s rostoucí dávkou stoupá (7,16,29). O efektu konformní radioterapie svědčí i nižší výskyt pozitivních poléčebných biopsií (13).



Eskalace dávky vede k vyšší lokální kontrole karcinomu prostaty a je reálné předpokládat, že se to promítne i v délce přežití (28,32).

## 2. Cíl práce

Porovnat 3D konformní radioterapii s konvenční radioterapií v léčbě lokalizovaného karcinomu prostaty. Na základě výsledků studie optimalizovat techniku konformní radioterapie a eventuálně přistoupit k eskalaci dávky záření.

## 3. Metody

### 3.1 Soubor nemocných

Od listopadu 1997 do září 1998 jsme na Klinice radioterapie a onkologie, FN Hradec Králové, léčili konformní radioterapií celkem 46 pacientů s karcinomem prostaty ve stádiu T1-3 N0 (NX) M0. Pro účely prezentované studie jsme analyzovali 3D ozařovací plány u 10 po sobě jdoucích pacientů s lokalizovaným karcinomem prostaty (T1,T2).

### 3.2 Simulace, CT řezy a kontury cílového objemu

Předběžné nastavení jsme prováděli na simulátoru (Ximatron C, Varian) u pacienta v poloze na zádech s kontrastní látkou v močovém měchýři. Na kůži jsme vyznačili průměty předpokládaného izocentra.

Bezprostředně po presimulaci absolvoval pacient plánovací CT. V 5 mm rozestupech jsme zobrazili oblast od úrovně hrbo-lů sedacích kraniálně; obvykle jsme zhotovili 31 řezů. CT dokumentace byla poté přenesena do plánovacího systému (Cadplan 2.7.9., Varian).

Při zadávání kontur cílových struktur jsme respektovali doporučení ICRU Report 50 (18).

Klinický cílový objem (clinical target volume, CTV) představovala celá prostata a baze semenných váčků (24).

Plánovací cílový objem (planning target volume, PTV) jsme definovali jako CTV + lem 10 mm anteroposteriorně a laterálně a 15 mm kraniokaudálně. Konturu PTV jsme vytvořili automatickou objemovou expanzí kolem CTV. Plánovací cílový objem je určen geometricky, s ohledem na použitou ozařovací techniku, a respektuje pohyb CTV v organismu a chybu nastavení v průběhu ozařovací série. Názory na velikost lemu mezi CTV a PTV se různí. Někteří autoři volí lem uniformní, zpravidla 10-15 mm (1,12,24,28), jiní preferují z důvodu lepšího šetření rekta menší lem ve směru posteriorním (20,30). Druhý způsob má své opodstatnění při eskalaci dávky záření (45). Větší lem kraniokaudálně omezuje nebezpečí poddávkování apexu prostaty, který podle uretrogramů leží zpravidla níž, než jak se jeví na CT řezech (34). Sandler a spol. (35) implantovali u 15 pacientů kontrastní markery do apexu prostaty a potom provedli uretrografii i CT. Apex prostaty definovaný na CT řezech ležel v průměru o 7 mm výše než na uretrogramech.

Rizikové orgány (rektum, močový měchýř a femury) jsme zakreslovali v souladu s doporučením ICRU v řezech PTV a dále v řezech do 1 cm nad a 1 cm pod oblastí PTV.

### 3.3 Plánování a ozařovací techniky

**Konformní radioterapie:** u sledované skupiny nemocných jsme použili techniku 3 polí: AP + 2 laterální pole (90° a 270°) s 30° klíny (5,23). Izocentrum bylo nastaveno přibližně do středu PTV. ICRU bod byl identický s izocentrem (18). Z pohledu svazku záření (beam's eye view, BEV) jsme zobrazili průměty PTV v předním a obou laterálních polích. Svazek záření byl tvarován pomocí vícelistového kolimátoru (multileaf collimator, MLC). Mezi okraji lamel kolimátoru a konturou PTV jsme ponechali lem 10 mm kvůli polostínu (12,20,41).

Dávku záření jsme specifikovali do ICRU bodu (izocentra) a normalizovali na hodnotu 100%. Plánovali jsme 70 Gy v 35 frakcích, 5 dnů v týdnu. Celý PTV je v optimálním případě pokryt 95% izodózou a homogenita dávky činí  $\pm 5\%$ . Tohoto optima však nelze dosáhnout ve všech případech. Jsme limitováni dáv-

kou v rizikových orgánech, nepříznivými anatomickými poměry a technikou samotnou. Plán jsme považovali za vyhovující, když 95% izodóza pokrývala minimálně 95% PTV.

Po kompletaci ozařovacího plánu jsme provedli definitivní simulaci a zakreslení a zhotovili verifikační snímky (AP a pravý bočný). Tyto referenční snímky byly při prvním ozaření porovnány s obrazy polí na urychlovači (PortalVision, Varian) a nastavení pacienta bylo případně korigováno.

Ozařovali jsme na lineárním urychlovači (Clinac 600 C, Varian), osazeném MLC, při energii fotonového záření 6 MV. Individuální imobilizační pomůcky nebyly používány (4,17).

**Konvenční radioterapie:** v plánovacím systému jsme u všech 10 analyzovaných pacientů vytvořili druhý plán. Tento plán sloužil výhradně k účelům dozimetrických výpočtů. Použili jsme techniku 4 polí (0°, 90°, 180°, 270°, box technika), kterou jsme v dané indikaci rutinně ozařovali do konce roku 1997. Při OK 100 byla velikost AP a PA polí 12x12 cm, u laterálních polí 10x12 cm. Všechna pole byla pravouhlá a otevřená. Pozice izocentra, ICRU bodu a specifikace dávky byla identická jako na plánech konformních.

### 3.4 Objemové kalkulace

U obou porovnávaných technik jsme generovali objemové histogramey (dose-volume histograms, DVH) pro PTV, rektum, močový měchýř a hlavici pravého femuru. Náš plánovací systém neumožňuje kalkulaci DVH společně pro párové struktury, a proto byl zvolen jen jeden z femurů.

V PTV jsme zaznamenali střední absorbovanou dávku Dm (vyjádřená v % a vztažená k dávce v ICRU bodě; D ICRU = 100%), minimální dávku Dmin (%) a maximální dávku Dmax (%). Stanovili jsme rozdíl mezi Dmin a Dmax, který vyjadřuje homogenitu rozložení dávky v PTV. Oblast PTV, která byla pokryta 95% izodózou, jsme vyjádřili v % a označili jako V95. U rizikových orgánů se pro lepší kvantitativní porovnání různých technik kalkulují jejich % objemy, které obdržely definovanou dávku záření - VX (12,24). Pro rektum a močový měchýř jsme stanovovali V50, V80 a V95. Pro hlavici femuru byly vypočteny hodnoty V50 a V80. Dále jsme u všech rizikových orgánů vyhodnocovali střední absorbovanou dávku Dm (vyjádřená v % D ICRU).

### 3.5 Statistika

Statistická významnost rozdílů mezi oběma porovnávanými technikami byla u jednotlivých hodnocených parametrů (Dm, VX) určována Wilcoxonovým párovým testem (program SOLO, BMDP Statistical Software, 1991).

## 4. Výsledky

Souhrnný přehled hodnocených parametrů podává Tabulka 1. Pro plánovací cílový objem (PTV) a pro rizikové orgány (rektum, močový měchýř, hlavice femuru) jsou uvedeny střední absorbované dávky Dm a objemy ozařené definovanou dávkou VX.

### 4.1 Cílový objem

Střední dávka Dm v plánovacím cílovém objemu se u konformní a konvenční techniky prakticky neliší.

Z porovnání hodnot V95 vyplývá, že při konformní radioterapii bylo 95% izodózou pokryto v průměru 97.8% PTV, zatímco při konvenční technice byl cílový objem pokryt ve všech případech celý.

Homogenitu rozložení dávky v PTV dokumentuje Graf 1. Rozdíl střední Dmin a Dmax činí u konformní techniky 11.39% (-6.95% až +4.44%) a u konvenční techniky 6.00% (-2.43% až +3.57%). Distribuce dávky v cílovém objemu (PTV) je lepší u techniky konvenční.

### 4.2 Rizikové orgány

Rektum: střední dávka Dm je při konformní radioterapii o více než 20% nižší než při konvenční radioterapii. Stejně tak obje-

**Tabulka 1.** Střední dávky záření (Dm) a objemy zatížené definovanou dávkou (VX) u plánovacího cílového objemu a rizikových orgánů.

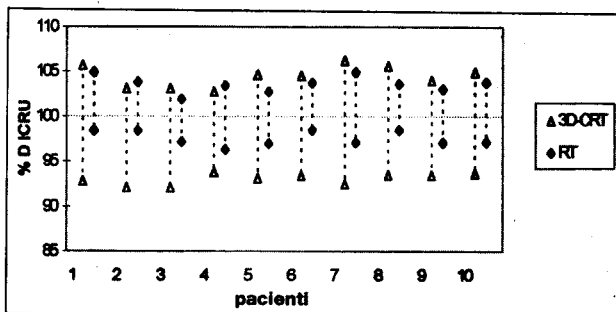
|                |     | Konformní RT  | Konvenční RT  |
|----------------|-----|---------------|---------------|
| PTV            | Dm  | 98.95 ± 0.72  | 100.68 ± 0.46 |
|                | V95 | 97.80 ± 1.45  | 100 ± 0       |
| Rektum         | Dm  | 74.33 ± 6.45  | 95.53 ± 3.08  |
|                | V50 | 74.65 ± 9.82  | 100 ± 0       |
|                | V80 | 57.20 ± 10.86 | 89.15 ± 8.35  |
|                | V95 | 32.10 ± 12.58 | 79.85 ± 10.77 |
| Močový měchýř  | Dm  | 78.41 ± 5.40  | 95.63 ± 2.46  |
|                | V50 | 90.85 ± 6.83  | 99.85 ± 0.45  |
|                | V80 | 55.45 ± 9.62  | 89.40 ± 5.96  |
|                | V95 | 36.30 ± 7.80  | 82.90 ± 7.99  |
| Hlavice femuru | Dm  | 65.90 ± 4.23  | 53.58 ± 1.43  |
|                | V50 | 85.55 ± 5.89  | 95.85 ± 4.25  |
|                | V80 | 19.06 ± 5.52  | 0.30 ± 0.46   |

Hodnoty Dm jsou uvedeny v % dávky v ICRU bodě (D ICRU = 100 %) ± směrodatná odchylka; hodnoty V50, V80 a V95 jsou uvedeny v % objemu cílové struktury (PTV, rektum, močový měchýř, hlavice femuru) ± směrodatná odchylka.

my rekta zatížené definovanou dávkou záření jsou podstatně menší (Graf 2). Rozdíly mezi všemi porovnávanými parametry jsou statisticky signifikantní ( $p < 0.005$ ). Největší diference mezi oběma technikami je patrná v oblasti vysoké dávky záření (V95). Nižší expozici rekta při konformní radioterapii dokumentuje objemový histogram jednoho z pacientů (Obrázek 1).

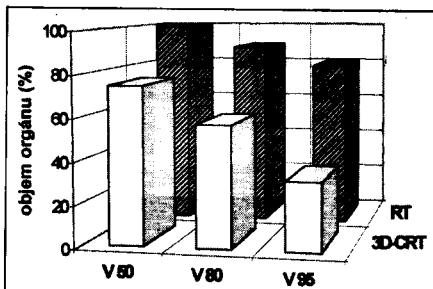
Močový měchýř: porovnání středních dávek Dm ukazuje, že zatížení močového měchýře při konformní radioterapii je minimálně o 15% nižší než při konvenční léčbě. Obdobný rozdíl ve smyslu menší objemové expozice určité dávky záření je pat-

**Graf 1.** Homogenita distribuce dávky v PTV - minimální a maximální dávky při konformní (3D-CRT) a konvenční (RT) technice.



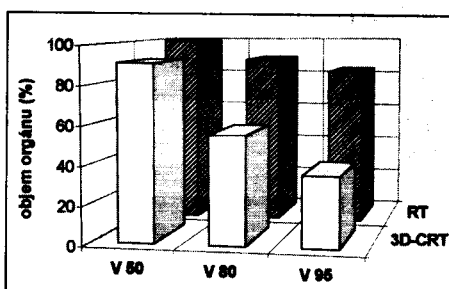
Dávka v ICRU bodě (D ICRU) = 100 %.

**Graf 2.** Objemy rekta zatížené referenční dávkou záření při konformní (3D-CRT) a konvenční (RT) technice.



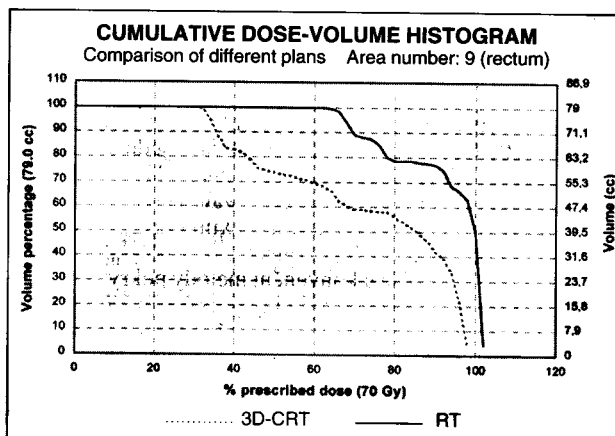
V50 - objem orgánu zatížený 50% D ICRU, V80 - objem orgánu zatížený 80 % D ICRU, V95 - objem orgánu zatížený 95 % D ICRU; dávka v ICRU bodě (D ICRU) = 100 %.

**Graf 3.** Objemy močového měchýře zatížené referenční dávkou záření při konformní (3D-CRT) a konvenční (RT) technice.

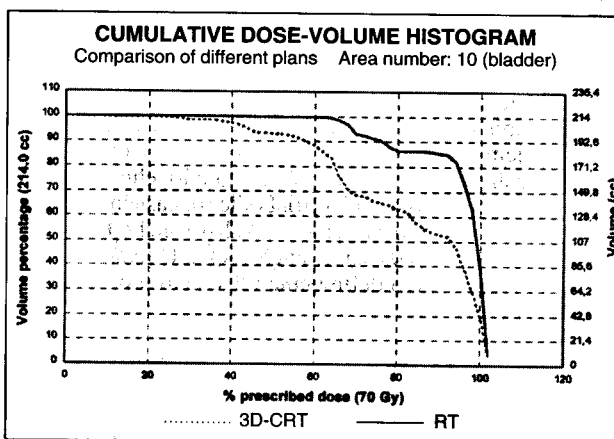


V50 - objem orgánu zatížený 50 % D ICRU, V80 - objem orgánu zatížený 80 % D ICRU, V95 - objem orgánu zatížený 95 % D ICRU; dávka v ICRU bodě (D ICRU) = 100 %.

**Obrázek 1.** Objemový histogram pro rektum při konformní (3D-CRT) a konvenční (RT) technice.



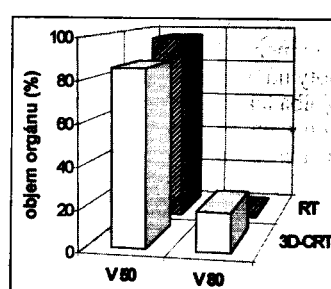
**Obrázek 2.** Objemový histogram pro močový měchýř při konformní (3D-CRT) a konvenční (RT) technice.



ný i z hodnot V50, V80 a V95 (Graf 3). Rozdíl mezi konformní a konvenční technikou je ve všech případech statisticky významný ( $p < 0.005$ ). Šetření močového měchýře při konformní radioterapii dokládá konkrétní objemový histogram (Obrázek 2).

Hlavice femuru: konformní technika s sebou přináší vyšší zátěž pro hlavice femurů, jak vyplývá z komparace Dm, než technika konvenční ( $p < 0.005$ ). Rozdíl mezi oběma technikami je významný v oblasti vyšších dávek záření (V80), zatímco srovnání na úrovni 50% absorbované dávky (V50) vyznívá mírně ve prospěch konformní radioterapie (Graf 4).

**Graf 4.** Objemy femuru zatížené referenční dávkou záření při konformní (3D-CRT) a konvenční (RT) technice.



V50 - objem orgánu zatížený 50 % D ICRU, V80 - objem orgánu zatížený 80 % D ICRU; dávka v ICRU bodě (D ICRU) = 100 %.

## 5. Diskuse

Výsledky provedené studie ukazují některé významné rozdíly mezi porovnávanými technikami.

Konvenční radioterapie vykazovala lepší distribuci dávky v cílovém objemu, což je přirozeným důsledkem velikosti použitých polí. Homogenita u konformní techniky (-6.95% až +4.44%) je nepatrně horší než homogenita doporučená směrnicemi ICRU (-5% až +7%) (18). Je to dáno jednak použitou technikou o minimálním počtu polí, jednak plánováním dávky do izocentra. Pokud bychom plánovali na 97% nebo 98% izodózu, rozdíl mezi minimální a maximální dávkou by se posunul do doporučeného rozmezí.

Analogicky celý PTV je u konvenční metody pokryt 95% izodózou, kdežto u konformní techniky je pokryto 97.8% objemu PTV. Tuto hodnotu můžeme považovat za dostatečnou. Pollack a spol. (30) uvádějí ve studii s eskalací dávky 97% pokrytí cílového objemu.

Šetření rekta je s ohledem na pozdní toxicitu největší předností konformní radioterapie. V našem souboru nemocných činil rozdíl středních dávek na rektum více než 20% ve prospěch konformní techniky. Zjištěná hodnota odpovídá údajům v literatuře (9,39,43). Zvláště významný je parametr V95. Tento tzv. „high-dose volume“, ozářený dávkou vyšší než 95%, je při konformní technice v porovnání s konvenční technikou o polovinu menší.

Zajímavá je problematika zátěže rekta vzhledem k definici cílového objemu. Pokud jsou do CTV zavzaty celé semenné vajíčky, objem ozářeného rekta je o 30-50% větší (19). Otázce indikace zahrnutí semenných vajíček do cílového objemu se podrobně věnují Diaz a spol. (10). Podle současného protokolu našeho pracoviště ozařujeme u lokalizovaného karcinomu (T1, T2) prostatu a bazi semenných vajíček. U lokálně pokročilého karcinomu (T3) definujeme CTV jako prostatu a celé semenné vajíčky.

Zelesky a spol. (44) porovnávali vliv polohy pacienta na expozici rekta. U nemocných ozařovaných v poloze na břiše obdržela stěna rekta 64% dávky, kdežto v poloze na zádech 72%. Autoři udávají, že rozdíl je významný především v oblasti semenných vajíček, které se v poloze na břiše oddálí od přední stěny rekta.

Porovnáním středních dávek na močový měchýř jsme zjistili, že konformní technika zatíží tento orgán o 20% méně než technika konvenční. Přínos konformní radioterapie je zřejmý především v oblasti vysoké dávky záření (V95), kde je exponovaný objem oproti klasické box technice poloviční.

Ozařování provádíme u pacientů s naplněným močovým měchýřem (20,24,30). Exponovaný objem se tak zmenší a plný močový měchýř navíc šetří kličky tenkého střeva, neboť je vytlačuje z malé pánve. Náplň močového měchýře zlepšuje také reprodukovatelnost léčby, protože indukuje kontrakci svalstva dna pánevního (včetně diaphragma urogenitale) a omezuje pohyb prostaty (3,8).

Radiační zátěž rekta a močového měchýře významně ovlivňuje lem mezi konturou prostaty a plánovacího cílového objemu a mezi PTV a bloky (MLC). Celkový lem používaný na našem pracovišti činí 20 mm (10 mm mezi CTV a PTV + 10 mm mezi PTV a lamelami multileaf kolimátoru). Stejně hodnoty udávají Borghede a spol. i další autoři (6,28).

Volba lemu kolem cílového objemu úzce souvisí s imobilizací pacienta. Některá pracoviště využívají individuální imobilizační pomůcky a uvádějí denní chybu nastavení 3-4 mm (33,40). V Royal Marsden Hospital byla provedena analýza portal filmů u 90 pacientů, kteří byli ozařováni bez imobilizace (17). Průměrná odchylka polohy středu pole v průběhu léčby činila 6.6 mm. Bieri a spol. (4) vyhodnotili 196 portal filmů u pacientů bez imobilizace a udávají medián posunu středu pole na AP a laterálních filmech 0.0 mm (rozmezí -7 až +5 mm). Z dostupných údajů vyplývá, že konformní radioterapie

karcinomu prostaty bez individuální imobilizace je dobře reprodukovatelná. Při volbě lemu kolem cílového objemu je však třeba formu imobilizace zohlednit.

Porovnání středních dávek v oblasti hlavičky femuru vyznělo ve prospěch konvenční techniky. Klasická box technika zatíží femury dávkou z laterálních polí (přibližně 50% plánované dávky), rozptýlené záření z AP a PA pole je zanedbatelné. Použitá konformní technika tří stejně vážených polí zatěžuje femury dávkou z laterálních polí (přibližně 2/3 plánované dávky). Rozdíl mezi oběma technikami se projevuje až v oblasti vyšších dávek záření. Objem femuru zavzatý do 80% izodózy je u konvenční techniky prakticky nulový, zatímco u techniky konformní představuje téměř 20%. Nejvíce exponované jsou laterální partie femuru, především velké trochantery. V literatuře nalezneme poměrně málo údajů o vztahu dávky k pozdní toxicitě pro hlavičky femurů. Perez a spol. (27) prezentují pozdní komplikace u 962 pacientů ozářených pro karcinom prostaty. Klinicky manifestní změny na skeletu pánve v souvislosti s léčbou byly prokázány pouze ve dvou případech (0.2%). Emami a spol. (11) uvádějí pro hlavičky femurů 5% incidence komplikací v 5 letech při dávce 52 Gy. Několik prací se zabývá radiačním poškozením kyčlí v souvislosti s ozářením technikou obráceného Y u pacientů s Hodgkinovou nemocí. Sciascia a spol. (37) našli osteonekrózu femuru u 6 pacientů (3.3%) v souboru 182 takových nemocných. Údaje o výskytu komplikací s ohledem na parciální expozici femuru vyšším dávkám záření nejsou k dispozici.

Jak vyplývá z předchozího hodnocení, konformní technika 3 polí výrazně šetří rektum a močový měchýř oproti konvenční box technice a naopak více zatěžuje femury. K obdobným závěrům dospěli Fiorino a spol. (12), kteří porovnali 5 různých technik konformní radioterapie (3 pole - 0°, 90°, 270°; 3 pole - 0°, 105°, 255°; 4 pole - box technika; 6 polí rovnoměrně zatížených; 6 polí s dvojnásobným zatížením laterálních polí). Autoři zjistili, že technika 3 polí nejlépe šetří rektum a nejméně zatěžuje femury.

Dozimetrické výhody konformní radioterapie se potvrzují v klinické praxi. Nižší výskyt akutních reakcí při konformní technice ukázaly dvě retrospektivní studie (39,43). Prospektivní randomizovaná studie z Royal Marsden Hospital (41) prokázala redukci mírných obtíží o 9% a středně těžkých obtíží o 7% ve prospěch konformní radioterapie; rozdíly nebyly statisticky signifikantní. Incidence závažných pozdních změn po konformní radioterapii je nízká. Zelesky a spol. (45) udávají u 743 pacientů (363 pacientů ozářeno dávkou 64.8-70.2 Gy a 380 pacientů ozářeno dávkou 75.6-81.0 Gy) toxicitu 3. a 4. stupně podle RTOG ve 2.1% případů. 5-letá pravděpodobnost gastrointestinální a genitourinární toxicity 2. stupně je 11%, respektive 10%. Incidence je větší ve skupině nemocných s dávkou 75.6 Gy a vyšší (17% versus 6%).

## 6. Závěr

Výhodou konformní radioterapie je možnost většího šetření zdravých tkání. Optimální konformní technika pro léčbu karcinomu prostaty neexistuje. Volba je vždy ovlivněna poměrem dávek v okolních zdravých tkáních. V našem případě konformní technika 3 polí významně šetřila rektum a močový měchýř ve srovnání s konvenční box technikou. Naopak radiační zátěž femurů byla při konformní technice vyšší.

Přestože výskyt osteoradionekróz hlavičky femuru je podle literatury ojedinělý, rozhodli jsme se přejít od července 1998 ke konformní technice 4 polí (2 laterální + 2 přední konvergující pole), která je z tohoto pohledu výhodnější. Důvodem je zejména skutečnost, že nejsou k dispozici údaje o toleranci částí femurů na vyšší dávky záření.

Výhody konformní techniky a dobrá snášenlivost ze strany pacientů vytvářejí prostor pro eskalaci dávky záření na 75-81 Gy.

## Literatura

- Akazawa P. F., Roach III. M., Pickett. B. et al.: Three dimensional comparison of blocked arcs vs. four and six field conformal treatment of the prostate. *Radiother Oncol*, 1996, 41:83-88.
- Bagshaw M. A., Kaplan H. S., Sagerman R. H.: Linear accelerator supervoltage therapy. VII Carcinoma of the prostate. *Radiology*, 1965, 85:121.
- Balter J. M., Sandler H. M., Lam K. et al.: Measurement of prostate motion over the course of routine radiotherapy using implanted markers. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1995, 31:113-118.
- Bieri S., Miralbell R., Nouet P. et al.: Reproducibility of conformal radiation therapy in localized carcinoma of the prostate without rigid immobilization. *Radiother Oncol*, 1996, 38:223-230.
- Bijhold J., Lebesque J. V., Hart A. A. M. et al.: Maximizing setup accuracy using portal images as applied to a conformal boost technique for prostatic cancer. *Radiother Oncol*, 1992, 24:261-271.
- Borghede G., Hedelin H.: Radiotherapy of localized prostate cancer. Analysis of late treatment complications. A prospective study. *Radiother Oncol*, 1997, 43:139-146.
- Corn B. W., Hanks G. E., Schultheiss T. E.: Conformal treatment of prostate cancer with improved targeting: Superior prostate-specific antigen response compared to standard treatment. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1995, 32:325-330.
- Crook J. M., Raymond Y., Salhani D. et al.: Prostate motion during standard radiotherapy as assessed by fiducial markers. *Radiother Oncol*, 1995, 37:35-42.
- Deamaley D. P.: Radiotherapy of prostate cancer: established results and new developments. *Semin Surg Oncol*, 1995, 11:50-59.
- Diaz A. Z., Roach M., Marquez C. et al.: Indications for and significance of including the seminal vesicles during 3-D conformal radiotherapy in men with clinically localized prostate cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1994, 30:323-329.
- Emami B., Lyman J., Brown A. et al.: Tolerance of normal tissue to therapeutic irradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1991, 21:109-122.
- Fiorino C., Reni M., Cattaneo G. M. et al.: Comparing 3-, 4- and 6-fields techniques for conformal irradiation of prostate and seminal vesicles using dose-volume histograms. *Radiother Oncol*, 1997, 44:251-257.
- Forman J. D., Oppenheim T., Liu H. et al.: Frequency of residual neoplasm in the prostate following three-dimensional conformal radiotherapy. *Prostate*, 1993, 23:235-243.
- Hanks G. E., Asbell S., Kroll K. M. et al.: Outcome for lymph node dissection negative T1b, T2 (a-b) prostate cancer treated with external beam therapy in RTOG 77-06. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1991, 21:1099.
- Hanks G. E., Hanlon A., Schultheiss T. et al.: Early prostate cancer: the national results of radiation treatment from The Patterns of care and Radiation Therapy Oncology Group studies with prospects for improvement with conformal radiation and adjuvant androgen deprivation. *J Urol*, 1994, 152:1775.
- Hanks G. E., Lee W. R., Hanlon A. L. et al.: Conformal technique dose escalation for prostate cancer: Biochemical evidence of improved cancer control with higher doses in patients with pretreatment prostate-specific antigen > 10 ng/mL. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1996, 35:862-868.
- Huddart R. A., Nahum A., Neal A. et al.: Accuracy of pelvic radiotherapy: prospective analysis of 90 patients in a randomised trial of blocked versus standard radiotherapy. *Radiother Oncol*, 1996, 39:19-29.
- ICRU Report 50. Prescribing, recording and reporting photon beam therapy. International Commission for Radiation Units and Measurement, Bethesda, MD, 1993.
- Katcher J., Kupelian P. A., Zippe C. et al.: Indications for excluding the seminal vesicles when treating clinically localized prostatic adenocarcinoma with radiotherapy alone. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1997, 37:871-876.
- Leibel S. A., Heimann R., Kutcher G. J. et al.: Three-dimensional conformal radiation therapy in locally advanced carcinoma of the prostate: Preliminary results of a phase I dose-escalation study. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1994, 28:55-65.
- Middleton R. G., Smith J. A., Melzer Jr. R. B. et al.: patient survival and local recurrence rate following radical prostatectomy for prostatic carcinoma. *J Urol*, 1986, 136:422.
- Mordkin R. M., Hayes W. S., Kuettel M. R. et al.: Management of locally advanced prostate cancer. *Oncology*, 1996, 10:1289-1300.
- Mubata C. D., Bidmead A. M., Ellingham L. M. et al.: Portal imaging protocol for radical dose-escalated radiotherapy treatment of prostate cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1998, 40:221-231.
- Neal A. J., Oldham M., Deamaley D. P.: Comparison of treatment techniques for conformal radiotherapy of the prostate using dose-volume histograms and normal tissue complication probabilities. *Radiother Oncol*, 1995, 37:29-34.
- Paulson D. F., Moul J. W., Walther P. J.: Radical prostatectomy for clinical stage T1-T2 N0 M0 prostatic adenocarcinoma: long-term results. *J Urol*, 1990, 144:1180.
- Perez C. A., Hanks G. E., Leibel S. A. et al.: Localized carcinoma of the prostate (stage T1b, T2 and T3): review of management with radiation therapy. *Cancer*, 1993, 72:156.
- Perez C. A., Michalski J., Lockett M. A.: Radiation therapy in the treatment of localized prostate cancer: An alternative to an emerging consensus. *MO Med*, 1995, 92:696-704.
- Perez C. A., Purdy J. A., Harms W. et al.: Three-dimensional treatment planning and conformal radiation therapy: preliminary evaluation. *Radiother Oncol*, 1995, 36:32-43.
- Pollack A., Zagars G.: External beam radiotherapy dose response of prostate cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1997, 39:1011-1018.
- Pollack A., Zagars G. K., Starkschall G. et al.: Conventional vs. conformal radiotherapy for prostate cancer: Preliminary results of dosimetry and acute toxicity. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1996, 34:555-564.
- Ray G. R., Cassady G. R., Bagshaw M. A.: Definitive radiation therapy of carcinoma of the prostate: a report of 15 years experience. *Radiology*, 1973, 106:407.
- Robertson J. M., Kessler M. L., Lawrence T. S.: Clinical results of three-dimensional conformal irradiation. *J Natl Cancer Inst*, 1994, 86:968-974.
- Rosenthal S. A., Roach M., Goldsmith B. J. et al.: Immobilization improves the reproducibility of patient positioning during six-field conformal radiation therapy for prostate cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1993, 27:921-926.
- Sadeghi A., Kuisk H., Tran L. et al.: Urethrography and ischial intertuberosity line in radiation therapy planning for prostate carcinoma. *Radiother Oncol*, 1996, 38:215-222.
- Sandler H. M., Bree R. L., McLaughlin P. W. et al.: Localization of the prostatic apex for radiation therapy using implanted markers. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1993, 27:915-919.
- Sandler H. M., McLaughlin P. W., Ten Haken R. K. et al.: Three dimensional conformal radiotherapy for the treatment of prostate cancer: Low risk of chronic rectal morbidity observed in a large series of patients. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1996, 34:655-662.
- Sciascia R., Albisinni U., Ammendolia I. et al.: Femoral osteonecrosis in patients treated with radiochemotherapy of Hodgkin's lymphoma. *Radiol Med (Torino)*, 1989, 77:336-341.
- Smith W. G. J. M., Helle P. A., Van Putten W. L. J. et al.: Late radiation damage in prostate cancer patients treated by high dose external radiotherapy in relation to rectal dose. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1990, 18:23-29.
- Soffen E. M., Hanks G. E., Hunt M. A. et al.: Conformal static field radiation therapy of early prostate cancer versus non-conformal techniques: a reduction in acute morbidity. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1992, 24:485.
- Soffen E. M., Hanks G. E., Hwang C. C. et al.: Conformal static field therapy for low volume low grade prostate cancer with rigid immobilization. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1991, 20:141-146.
- Tait D. M., Nahum A. E., Meyer L. C. et al.: Acute toxicity in pelvic radiotherapy: a randomised trial of conformal versus conventional treatment. *Radiother Oncol*, 1997, 42:121-136.
- The American Urological Association Prostate cancer Clinical Guidelines Panel. Report on the management of clinically localized prostate cancer. Baltimore: American Urological Association, 1995.
- Vijayakumar S., Awan A., Karrison T. et al.: Acute toxicity during external-beam radiotherapy for localized prostate cancer: Comparison of different techniques. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1993, 25:359-371.
- Zelevsky M. J., Happersett L., Leibel S. A. et al.: The effect of treatment positioning on normal tissue dose in patients with prostate cancer treated with three-dimensional conformal radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1997, 37:13-19.
- Zelevsky M. J., Leibel S. A., Kutcher G. J. et al.: Three-dimensional conformal radiotherapy and dose escalation: Where do we stand? *Semin Radiat Oncol*, 1998, 8:107-114.

## Sdělení redakce

### Technický doplněk k pokynům pro autory

**Elektronické zpracovávání příspěvků je již běžnou záležitostí. Aby bylo možné v plném rozsahu využít a urychlit polygrafické práce, prosíme o dodržování následujících zásad:**

**NOSIČE** • pro přenos dat používat diskety 3,5", ZIP 100 MB, JAZ 1 GB, CD-ROM,

### FORMÁTY

**Texty** • z PC ukládat do holého textového formátu s příponou .TXT. Při přenosu textu z počítače Macintosh je možno použít jakéhokoli standardního postupu.

**Grafika** • při přenosu grafiky z PC (COREL) je nejdříve nutné veškeré použité písmo převést do křivek. Potom z nabídky SOUBOR zvolíme ULOŽIT JAKO a zadáme ADOBE ILLUSTRATOR s koncovkou .AI.

**Fotografie** • při tomto přenosu z PC stačí pouze z nabídky SOUBOR zadat ULOŽIT JAKO a zvolit formát TIF s příponou .TIF.

# kasuistika

## NĚKTERÉ MÉNĚ OBVYKLÉ FORMY PLAZMOCYTOMU

### THE UNUSUAL FORMS OF PLASMACYTOMA

GAJA A\*, FRAŇKOVÁ H.\*, CHURÝ Z.\*, HEJLOVA N.\*, SOŠKA V.\*\*

MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV BRNO\*  
FAKULTNÍ NEMOCNICE U SV. ANNY V BRNĚ, ODDĚLENÍ KLINICKÉ BIOCHEMIE\*\*

**Souhrn:** Plasmacytom patří k relativně častým hematologickým onemocněním. Jeho výskyt má v průběhu let stoupající tendenci. Existuje celá řada méně typických, vzácnějších variant choroby s odlišným klinickým průběhem a někdy i prognózou. I s nimi je při diagnostice a léčbě nutno počítat, což chceme demonstrovat na 6 kazuistikách (2x uzlinová a 2x kožní manifestace plasmacytomy, 1x IgM plasmacytom s osteolýzou, 1x IgD plasmacytom).

**Klíčová slova:** plasmacytom, lymfatické uzliny, kůže, IgM plasmacytom, IgD plasmacytom

**Abstract:** Plasmacytoma is a quite frequent oncologic disease of hemopoietic origin and its incidence has an ascendent tendency. There are many unusual forms of this disease, which have a different clinical course and sometimes also a different prognosis. We can encounter these forms in clinical practice. The authors discuss a six cases of such types (2 lymph node and 2 dermal manifestations of plasmacytoma, 1 IgM plasmacytoma with osteolysis and 1 IgD plasmacytoma).

**Key words:** plasmacytoma, lymph nodes, cutis IgM plasmacytoma, IgD plasmacytoma

#### Úvod

Plasmacytom patří k poměrně častým hematologickým onemocněním. Jeho výskyt v posledních letech stoupá. Incidence tohoto onemocnění v České republice je udávána 3,4/100000 pro muže i ženy (11). Choroba je charakterizována proliferací maligního klonu plazmatických buněk a B lymfocytů v různých stadiích diferenciaci. U nemocných se v typickém případě nachází monoklonální paraprotein v séru a v moči, infiltrace kostní dřeně monoklonálními plazmocytami a osteolytické leze. Je však nutno posuzovat celý komplex příznaků ke správnému stanovení diagnózy. Monoklonální paraprotein se může vyskytnout i u jiných lymfoproliferací B řady, primárních a sekundárních imunodeficitů, či jako reakce na antigenní podnět včetně autoimunních onemocnění.

Přestože je známa celá řada histologických i cytologických znaků, schopných odhalit infiltraci kostní dřeně maligními plazmocytami, vyskytnou se i sporné případy (zejména s malým počtem plazmocytů). Rentgenové vyšetření pak zachytí osteolýzu i při četných dalších benigních i maligních patologických stavech (např. karcinom prostaty či Gaucherova nemoc). Ke komplexnímu obrazu onemocnění přispívá i celá řada dalších vyšetření (krevní obraz, CRP, beta 2 mikroglobulin, stav renálních funkcí, sérové kalcium, cytokiny atd.).

Existuje řada méně typických variant onemocnění, které mohou mít odlišný klinický průběh a prognózu. Na kazuistikách 6 pacientů diagnostikovaných a léčených v Masarykově onkologickém ústavu (MOÚ) v Brně chceme demonstrovat některé z nich. Jedná se o uzlinové a kožní manifestace plasmacytomy s poukázáním na prognostický význam, odchýlné projevy v případech relativně vzácného IgD plasmacytomy a dále krátkou kazuistiku IgM plasmacytomy s osteolytickými projevy.

#### Kazuistiky

##### *Pacientka. 1*

66letá pacientka podstoupila osteosyntézu humeru pro patologickou frakturu. Z peroperačně odebraného histologického materiálu byl diagnostikován maligní ektodermální tumor. Nemocnou jsme následně přijali v lednu 1996 do MOÚ k radioterapii. Zde jsme RTG vyšetřením a scintigraficky prokázali osteolytická ložiska v oblasti humerů, páteře, kalvy, žeber a kosti křížové. Cytologickým vyšetřením kostní dřeně jsme prokázali infiltraci myelomovými buňkami (18,5%). Diagnóza byla potvrzena i přehodnocením původního histologického nálezu pathology MOÚ, kteří popsali difuzní infiltraci kostní dřeně nezralými plazmocytami s pozitivitou lambda řetězců, se známkami osteolýzy a fibrózy. Pacientka byla mírně anemická (krevní obraz: hemoglobin 116 g/l, erytrocyty  $3,9 \times 10^{12}/l$ , hematokrit 0,36, leukocyty  $5,4 \times 10^9/l$ , trombocyty  $141 \times 10^9/l$  měla zvýšenou sedimentaci erytrocytů (35/70), hodnoty sérového beta 2 mikroglobulinu (4,2 mg/l), laktátdehydrogenázy (30,5 ukat/l), normální hodnoty sérové urey, kreatininu a kalcia. Imunoelektroforézou jsme v séru prokázali volné lambda řetězce (až 6 g/l) a snížení jednotlivých tříd imunoglobulinů (IgG 4,5, IgA 0,25, IgM 0,60 g/l). V moči byly rovněž prokázány volné lambda řetězce. Pacientka byla léčena chemoterapií a současně byla aplikována i radioterapie na oblasti bolestivých kostních lézí.

Po 7,5 měsíci se u nemocné objevil kožní infiltrát v oblasti levého předloktí. Byl extirpován a histologické vyšetření prokázalo opět nezralé plazmocytami s pozitivitou lambda řetězců. Přes pokračující chemoterapii došlo u pacientky k další progresi a generalizaci kožních infiltrátů. Vzhledem k rezistenci choroby na chemoterapii bylo u nemocné postupováno dále jen symptomaticky a pacientka brzy exitovala.

#### Pacient č. 2

56letý pacient byl vyšetřován internistou pro 2 měsíce trvající bolest v zádech. V séru byl zjištěn monoklonální paraprotein, proto jsme nemocného dále od února 1989 vyšetřovali v MOÚ. V kostní dřeni bylo podle cytologického vyšetření iniciálně 18,5 % myelomových buněk a histologicky byly ve dřeni popsány plazmocytomové infiltráty. RTG vyšetření ukázalo lytická ložiska v oblasti kalvy a borcení hrudních obratlů. V séru byl stanoven monoklonální paraprotein IgG lambda 29,7 g/l, bez snížení jednotlivých tříd imunoglobulinů. Pacient byl anemický (hemoglobin 65 g/l, erytrocyty  $2,2 \times 10^{12}/l$ , hematokrit 0,20, leukocyty  $6,9 \times 10^9/l$ ). Nemocný měl zvýšenou sedimentaci (113/135), normální hodnoty sérové urey, kreatininu, kalcia a laktátdehydrogenázy. Byl léčen chemoterapií. Po 2,5 letech od stanovení diagnózy se u pacienta objevil kožní tumor v oblasti levého ramene. Cytologicky v něm byl prokázán plazmocytomový infiltrát. Postupně se objevovaly další infiltráty na stehnech, břiše a bocích. Jejich plazmocytomová povaha byla rovněž verifikována cytologicky. Další chemoterapie nejevila výrazný efekt a pacient exitoval po dalších 11 měsících za příznaků terminální bronchopneumonie.

#### Pacient č. 3

47letý pacient byl přijat k vyšetření do MOÚ v dubnu 1988 pro febrilie, pocení a váhový úbytek. Již o několik let dříve prodělal revmatickou horečku a pro získanou chlopenní vadu mu byla implantována umělá srdeční chlopeň. V době přijetí do MOÚ měl rovněž již dvouletou anamnézu krční lymfadenopatie, pro kterou bylo již 2x provedeno histologické vyšetření uzlin s nálezem reaktivních změn a suspektní diagnózou lymfoplazmocytárního imunocytomu. Následným cytologickým a histologickým vyšetřením uzliny v MOÚ jsme stanovili diagnózu extramedulární plazmocytom. Další vyšetření zjistila peribronchiální lymfadenopatii vpravo. Pacient byl mírně anemický a měl posun doleva v neutrofilních leukocytech. Krevní obraz – hemoglobin 121 g/l, erytrocyty  $3,7 \times 10^{12}/l$ , leukocyty  $9,8 \times 10^9/l$  (diferenciální krevní obraz – neutrofilní myelocyty 0,01, neutrofilní tyčky 0,17, neutrofilní segmenty 0,73, lymfocyty 0,09), trombocyty  $304 \times 10^9/l$ . Biochemické vyšetření ukázalo normální hodnoty sérové urey, kreatininu, aminotransferáz, alkalické fosfatázy a laktátdehydrogenázy. V séru nemocného byl prokázán monoklonální paraprotein IgG kappa 19,7 g/l. Kostní dřevě nebyla infiltrována plazmocyt. Pacient byl léčen radioterapií na oblast krku, po které došlo k regresi lokálního nálezu. Dále byl jen sledován. Po 8 měsících byl opět zjištěn rozsáhlý infiltrát vlevo na krku. Histologické vyšetření ukázalo četné plazmocyty a atypické plazmocyty s pozitivitou IgG kappa (příloha 1). Nemocnému byla podávána chemoterapie, kterou však špatně snášel (leukopenie, trombocytopenie, febrilní stavy a prohlubující se kachexie). Po dalších 3 měsících existoval za příznaků metabolického rozvratu.

#### Pacient č. 4

37letá pacientka byla přijata do MOÚ v srpnu 1995 s 1/2roční anamnézou zvýšené únavnosti, subfebrilií a 3–4 měsíční anamnézou krční lymfadenopatie. RTG vyšetření zjistilo lytická ložiska v oblasti žeber, páteře a manubria sterni. Současně byl zjištěn expanzivní proces v mediastinu. Histologickým vyšetřením krční uzliny patologové stanovili diagnózu plazmocytom (příloha 2). V séru nemocné byl prokázán monoklonální paraprotein IgG kappa a v moči malé množství lehkých kappa řetězců. Pacientce jsme opakovaně vyšetřovali kostní dřevě i v místech RTG udávané osteolýzy (punkce i trepanobiopsie). Nikdy nebyla zachycena výraznější plazmocelulární infiltrace (cytologicky 1–4 %, histologicky negativní nálezy). Pacientka byla léčena chemoterapií (melphalan + prednison + interferon). K regresi uzlinového postižení nedošlo. Kvantita paraproteinu v séru se rovněž neměnila (kolem 3 g/l). Následovaly 2 série chemoterapie VAD. Pro četné komplikace

a malý efekt léčby bylo pokračováno léčbou podle M2 protokolu s efektem parciální remise. Vzhledem k interkurentním onemocněním (diabetes mellitus, hypertenzní nemoc, chronická gastritis, tromboflebitis v. subclavia, obezita) nebyla u pacientky indikována vysokodávkovaná chemoterapie. Došlo k regresi uzlinového postižení. Pacientka je dále sledována a dostává podpůrnou léčbu bisfosfonáty.

#### Pacient č. 5

52letá pacientka byla od září 1986 léčena v MOÚ pro karcinom prsu. Léčena byla chirurgicky a chemoterapií (CMF). Následně byla ambulantně sledována a byla bez známek choroby. Za 6,5 roku od diagnózy byla v dobrém celkovém stavu, bez subjektivních potíží, neměla výrazně zvýšenou sedimentaci (27/67) a měla normální hodnoty krevního obrazu. Po dalších 4 měsících se u ní již projevovala zvýšená únavnost, měla zvýšenou sedimentaci (100/hod.) a byla anemická. Krevní obraz – hemoglobin 61 g/l, erytrocyty  $2,2 \times 10^{12}/l$ , leukocyty  $6,8 \times 10^9/l$ , trombocyty  $150 \times 10^9/l$ . V séru byl u nemocné prokázán monoklonální paraprotein IgM lambda a bylo konstatováno snížení ostatních tříd imunoglobulinů. Nemocná měla zvýšené hodnoty sérové urey 16 mmol/l, kreatininu 547  $\mu\text{mol/l}$ , kyseliny močové 940  $\mu\text{mol/l}$ , kalcia 3,1 mmol/l a fosforu 2,19 mmol/l. Ve sternálním punktátu bylo 11 % myelomových buněk. RTG jsme prokázali lytická ložiska v oblasti kalvy, horní i dolní čelisti. Byla provedena i punkce pravé ledviny, kde byly v tubulech prokázány hyalinní válce s IgM pozitivitou a kappa negativitou (příloha 3). Reakce s lambda řetězcí nebyla zhodnocena pro vysokou nespecifickou pozitivitu pozadí. Pacientka byla léčena chemoterapií VAD a vzhledem k rychlému průběhu onemocnění byla použita i hemodialýza. Klinický stav se však nadále horšil a pacientka exitovala po 3 měsících do stanovení diagnózy plazmocytom.

#### Pacient č. 6

62letý muž byl přijat v březnu 1996 do MOÚ k léčbě s diagnózou lymfoplazmocytární ne Hodgkinův lymfom. Diagnózu jsme přehodnotili na mnohočetný myelom IgD kappa, klinické stadium III A. Nemocný měl mnohočetná osteolytická ložiska a tumor v oblasti sternoklavikulárního skloubení, který byl histologicky hodnocen jako plazmocytom. Histologické a cytologické vyšetření kostní dřevě odpovídalo rovněž plazmocytomu s 30% infiltrací. V séru jsme prokázali monoklonální paraprotein IgD kappa (9,8 g/l) a v moči masivně kappa řetězce (příloha 5). Pacient byl léčen chemoterapií podle M2 protokolu s efektem kompletní remise. Došlo k vymizení tumoru v oblasti sternoklavikulárního skloubení (verifikováno CT), vymizení monoklonálního paraproteinu v séru a snížení myelomových buněk v kostní dřevě (do 2 %). Rtg neprokázal nová lytická ložiska ve skeletu. Pacient byl následně léčen bisfosfonáty. Klinický stav byl dobrý. Po roce došlo k rychlému relapsu onemocnění. Objevil se rozsáhlý tumor mediastina, který byl histologicky verifikován jako plazmocytom (příloha 4). Neprokázali jsme nová lytická ložiska ve skeletu a monoklonální paraprotein v séru byl 1,5 g/l. V moči jsme našli jen minimální množství paraproteinu. Nemocný byl léčen 4 sériemi chemoterapie VAD s velmi dobrou odpovědí (až 90 % regrese tumoru v mediastinu). Po 5. sérii chemoterapie však nastala rychlá progresse onemocnění. Objevil se rozsáhlý tumor prorůstající hrudní stěnou s kožními infiltráty. T. č. je pacient po podání chemoterapie melphalan + kortikoidy a po aplikaci paliativní radioterapie. Nádor vykazuje jen malou regresi. Prognóza je velmi špatná. Byla zvážena myeloablativní terapie s podporou periferními kmenovými buňkami. U pacienta však tento postup vzhledem k interkurentním onemocněním (chronická bronchitida, cor pulmonale, hypertenzní nemoc II. stupně, diabetes mellitus, stav po plicní embolizaci, obezita) nebyl indikován.

#### Rozprava

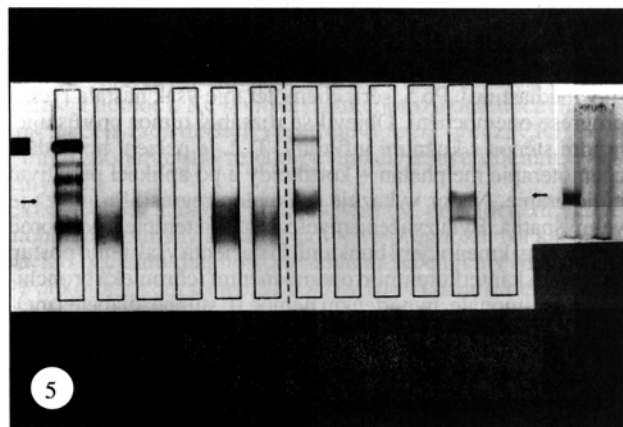
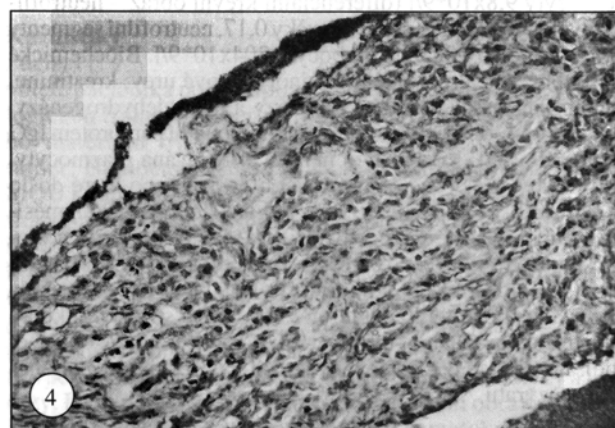
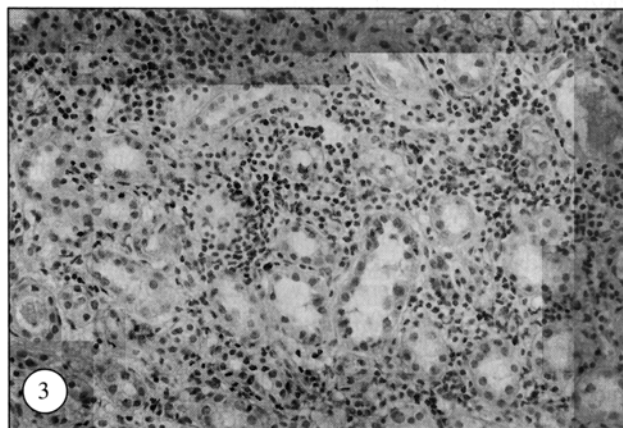
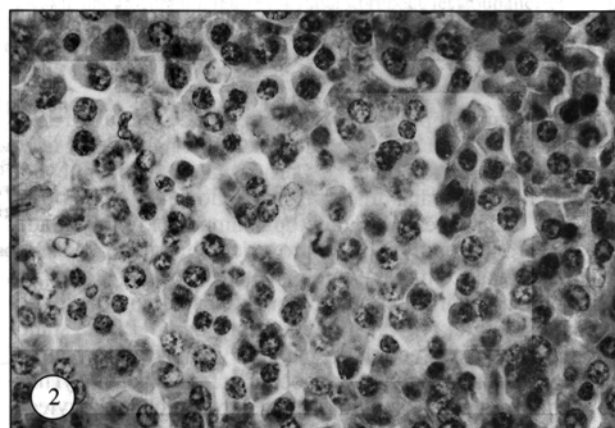
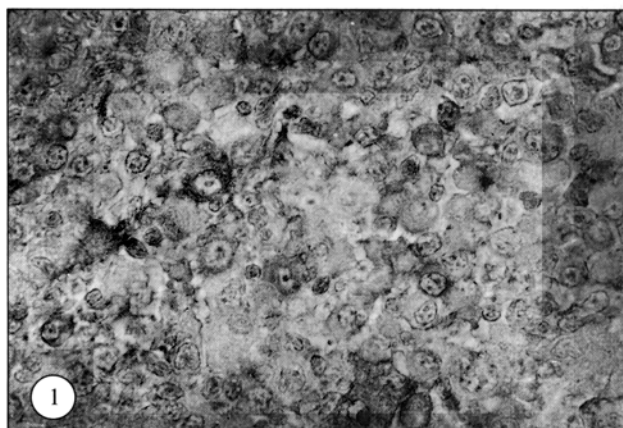
Primární kožní plazmocytom nepatří do klasického obrazu



myelomu. Je poměrně vzácný a v literatuře jsou publikovány spíše jen ojedinělé kazuistiky (8, 12, 15). Creen v roce 1992 udává jen 20 publikovaných případů (12). Autoři našli v dostupné literatuře 38 pacientů. Kožní plazmocytomy lze podle většiny prací dělit do 2 skupin. **Primární kožní plazmocytomy**, které se vyznačují solitárním, méně často pak mnohočetným postižením kůže plazmocelulární infiltrací s průkazem monoklonality, monoklonálním paraproteinem v séru, absencí lytických změn na skeletu a negativním histologickým a cytologickým nálezem v kostní dřeni. Pokud je nádor solitární, pak má relativně dobrou prognózu při chirurgické léčbě a radioterapii (8, 14, 29, 31). Přesto je i tato forma agresivnější než jiné extramedulární plazmocytomy. Pacienty je třeba i po úspěšné léčbě dlouhodobě sledovat (29). Při mnohočetném kožním postižení lze předpokládat i horší prognózu, jak ilustrují literárně popsané případy (29). Prakticky obdobná situace je v případě **sekundárního kožního plazmocytomu**,

který je primárně zachycen v kostní dřeni, bývá nejčastěji mnohočetný a signalizuje rovněž špatnou prognózu onemocnění. Lever udává výskyt sekundárního kožního plazmocytomu ve 2 % případů (20). V souladu s literárními údaji se jeví i průběh choroby u našich pacientů č. 1 a č. 2.

**Primární uzlinový plazmocytom** je rovněž vzácný. Linn v roce 1997 udává 7 vlastních a 17 literárně popsaných případů (19). I sekundární postižení lymfatických uzlin u plazmocytomu bývá pozorováno zřídka (26). Infiltrace uzliny monoklonálními plazmocyty však byla popsána mimo jiné i u monotonní, a zcela výjimečně i polytopní Castlemanovy choroby (1, 19). Prognóza uzlinových plazmocytomů je poměrně dobrá (19), což vcelku odpovídá i průběhu námi prezentované pacientky č. 4. Méně typický průběh je u pacienta č. 3, i když jsou popsány i případy recidivujícího uzlinového plazmocytomu a rovněž zcela atypický průběh onemocnění (1, 13, 25, 27). Kazuistiku solitárního uzlinového plazmocytomu s recidivou



#### Popisy k přílohám

Příloha č. 1: Uzlina pacienta č. 3 infiltrovaná monoklonálními plazmocyty. Reakce s anti kappa. Zvětšení 1000x.

Příloha č. 2: Uzlina pacientky č. 4 infiltrovaná plazmocyty. Reakce s anti IgG. Zvětšení 1000x.

Příloha č. 3: Ledvina pacientky č. 5 s intratubulárně uloženým materiálem. Reakce s anti IgM. Zvětšení 400x.

Příloha č. 4: Biopsie tumoru mediastina u pacienta č. 6. Reakce s anti kappa. Zvětšení 400x.

Příloha č. 5: Imunoelektroforéza séra a moči u pacienta č. 6. Zleva doprava – sérum – reakce s: polyvalentním sérem, anti-IgG, anti-IgA, anti-IgM, anti-kappa, anti-lambda, moč – reakce s: polyvalentním sérem, anti-IgG, anti-IgA, anti-IgM, anti-kappa, anti-lambda, sérum – reakce s: anti-IgD, anti-IgE.

Přílohy č. 1–4 byly zhotoveny za laskavé pomoci prof. MUDr. B. Habance, DrSc. a MUDr. P. Fabiána z Oddělení patologie Fakultní dětské nemocnice J. G. Mendela v Brně.

a prokázaným dřeňovým postižením až po 8 letech jsme našli i v české literatuře (7). Otázkou zůstává případná úloha chronického dráždění imunitního systému revmatickým onemocněním a implantovaným materiálem v patogenezi choroby našeho nemocného č. 3.

**IgM paraproteinemie** bývá spojována především s Waldenströmovou makroglobulinémií. IgM myelom není proti této jednotce zcela jasně vymezen (16, 31). Vodítkem pro diagnózu IgM myelomu může být přítomnost lytických kostních změn. Kyle však uvádí, že 2 % pacientů s makroglobulinémií mají manifestní kostní postižení (16). Někteří autoři rozlišují Waldenströmovu makroglobulinémiu, makroglobulinémiu s osteolýzou a přechodnou formu. Lze předpokládat i častější postižení ledvin s renálním selháním. Nitschke a Bonfanti popisují pacienty s průběhem onemocnění velmi podobným naší pacientce č. 5 (6, 23). Postižení ledvin u IgM paraproteinemie nemá jen formu klasické „cast nephropathy“ či „light chain deposition disease“, ale i glomerulopatie z ukládání imunokomplexů, někdy doprovázené i endoteliální proliferací (2). Kožní projevy při IgM paraproteinemii mohou mít charakter urtikarie s leukoklastickou vaskulitidou v rámci tzv. Schnitzlerova syndromu (5, 24).

**IgD plazmocytom** se řadí rovněž k vzácnějším formám plasmocelulárních dyskrasií. Častěji bývá popisován japonskými autory. V nám dostupné literatuře uvádějí rozsáhlejší soubor

Blade a Kyle (4). U nás pak publikovali nejvíce 10 případů Tichý a Matěja (21, 28). Je vhodné připomenout, že první kazuistiku IgD plazmocytomu na našem území popsali D. a B. Wiedermannové (30).

Onemocnění má často extramedulární formu (19 %) (4). Lever dokonce udává extramedulární postižení u 63 % IgD paraproteinemii proti 1–3 % u paraproteinemii IgA a IgG a 10 % u samostatných lehkých řetězců (20). Choroba je často asociována s amyloidózou (19 %) a paraprotein je možno klasickou elektroforézou zachytit jen v 60 % případů. Onemocnění má též horší prognózu proti jiným typům plazmocytomu. Jen 1/3 pacientů přežívá 3–5 let, i když je popsán i atypický průběh (4, 17). Častěji se vyskytuje u mladších věkových skupin (3). Onemocnění může být též vzhledem k povaze IgD paraproteinu mylně diagnostikováno jako plazmocytom s produkcí pouze lehkých řetězců. Je popsáno i několik kazuistik IgD myelomu s hyperamylazemií, které mají horší prognózu (10). Vzhledem k častějšímu extramedulárnímu šíření se onemocnění může rovněž projevovat mechanickým útlakem v páteřním kanále či mediastinu (9, 18, 22).

Uvedené kazistiky demonstrují rozmanitost klinických forem, s nimiž je nutno počítat v rámci diagnostiky plazmocytomu. Uvádíme je pro relativní vzácnost kožních a uzlinových projevů, kombinace IgM paraproteinu s lytickým postižením skeletu a typ paraproteinu IgD. V případě pacientky č. 4 je netypický i relativně nízký věk v době propuknutí onemocnění.

## Literatura

- Abdel-Reheim, F. A., Koss, W., Rappaport, E. S. et al.: Coexistence of Hodgkin's disease and giant node hyperplasia of the plasma cell type (Castleman's disease). *Arch. Pathol. Lab. Med.* 120, 1996, s. 91–96.
- Adam, Z., Vorlíček, J., Králová, E. et al.: Terapie mnohočetného myelomu: Lékařská fakulta Masarykovy university v Brně 1993, s. 186–189, 215–216.
- Blade, J., Kyle, R. A., Greipp, P. R.: Multiple myeloma in patients younger than 30 years. Report of 10 cases and review of the literature. *Arch. Intern. Med.* 156, 1996, č. 13, s. 1463–1468.
- Blade, J., Lust, J. A., Kyle, R. D.: Immunoglobulin D multiple myeloma: presenting features, response to therapy and survival in series of 53 cases. *J. Clin. Oncol.* 12, 1994, č. 11, s. 2398–2404.
- Bonfanti, S., Avanzi, C.: A case of IgM secreting myeloma. *Minerva Med.* 82, 1991, č. 9, s. 559–601.
- Bonnetblanc, J. M., Drowet, M., Laplaud, P. et al.: Urticaria with macroglobulinemia. *Dermatologica* 181, 1990, s. 41–43.
- Brückner, L.: Případ mimokostního myelomu. *Vnitř. Lék.* 9, 1959 č. 11, s. 1115–1116.
- Ceccolini, E., Palmerio, B., Patrone, P.: Extramedullary cutaneous plasmacytoma. *Cutis* 48, 1991, č. 2, s. 134–136.
- Cervoni, L., Celli, P., Salvati, M. et al.: Solitary plasmacytoma of the spine, relationship of IgM to tumor progression and recurrence. *Acta Neurochir. (Wien)* 1995: 135, č. 3–4, s. 122–125 (abstrakt).
- Delaney, A., Homels, J., Mecucci, C. et al.: Amylase producing IgD type multiple myeloma. *J. Intern. Med.* 232, 1992, č. 5, s. 457–460.
- Geryk, R., Kolcová, V., Navrátilová, M.: Zhoubné novotvary: Masarykův onkologický ústav, epidemiologie nádorů Brno 1998, s. 27.
- Green, T., Grant, J., Pye, R. et al.: Multiple primary cutaneous plasmacytomas. *Arch. Dermatol.* 128, 1992, č. 7, s. 962–965.
- Horny, H. P., Menke, D. M., Kaiserling, E. et al.: Primäres Plasmocytom (plasmocytisches Lymphom) des Lymphknotens. *Dtsch. Med. Wschr.* 120, 1995, č. 50, s. 1734–1738.
- Chang, Y. J., Wong, C. K.: Primary cutaneous plasmacytomas. *Clin. Exp. Dermatol.* 19, 1994, č. 2, s. 177–180.
- Kerl, H., Cerroni, L.: Primary B-cell lymphomas of the skin. *Ann. Oncol.* 1997, č. 8, suppl. 2, s. 29–32.
- Kyle, R. A., Anderson, K. C.: A tribute to Jan Gosta Waldenström. *Blood* 89, 1997, č. 12, s. 4245–4247.
- Kyle, R. A.: IgD multiple myeloma: a cure at 21 years. *Am. J. Hemat.* 29, 1988, s. 41–43.
- Lalin, Z. J., Sam, C. W., La, W. H. et al.: IgD multiple myeloma with thoracic compression due to epidural extra-osseous tumor spread. *J. Clin. Pathol.* 47, 1994, č. 7, 669–671.
- Linn, B. T., Weiss, L. M.: Primary plasmacytoma of lymph nodes. *Hum. Pathol.* 28, 1997, č. 9, s. 1083–1090.
- Lever, W. F., Schaumburg-Lever, G.: Histopathology of the skin, seventh edition, J. B. Lippincott comp. Philadelphia 1990, s. 834–837.
- Matěja, F., Tichý, M., Zvarová, M. et al.: Plazmocytom IgD – pozorování pěti nemocných. *Vnitř. Lék.* 43, 1997, č. 56, s. 312–316.
- Matsui, H., Fujic, H., Tsuji, H.: Extraosseous epidural tumor of immunoglobulin D myeloma. *J. Spinal Disord.* 5, 1992, č. 3, s. 366–369.
- Nitschke, M., Fink, K., Pawlow-Handt, S. et al.: Akutes Nierenversagen bei IgM-Plasmocytom mit Hyperviskositäts-Syndrom. *Dtsch. Med. Wschr.* 122, 1997, č. 40, s. 1213–1216.
- Obofilová, A., Adam, Z.: Schnitzlerův syndrom. *Vnitř. Lék.* 44, 1998, č. 7, s. 423–427.
- Peychl, L., Koblížková, H.: Extramedulární uzlinový plazmocytární lymfom. *Čas. Lék. Čes.* 128, 1989, č. 30, s. 952–955.
- Sakalová, A.: Plazmocytóm a jiné paraproteinemie. *Slovak Academic Press*, 1994, s. 52–59.
- Sanal, S. M., Yaylaci, M., Mangold, K. A. et al.: Extensive extramedullary disease in myeloma: An uncommon variant with features of poor prognosis. *Cancer* 77, 1990, č. 7, s. 1298–1302.
- Tichý, M., Matěja, F., Urban, P.: IgD paraproteinemie. *Neoplasma* 40, 1993, č. 1, s. 59–61.
- Tutit, T., Bork, K.: Primary plasmacytoma of the skin. *Am. J. Acad. Dermatol.* 16, 1994, č. 4, s. 392–397.
- Wiedermann, D., Wiedermann, B., Rádl, J. et al.: Über einen Fall von Immunoglobulin-D-Plasmocytom. *Schweiz. Med. Wschr.* 97, 1967, č. 7, s. 207–210.
- Willemze, R., Kerl, H., Sterry, W. et al.: EORTC Classification of Primary Cutaneous lymphomas: A proposal From Cutaneous Lymphoma Study Group of the European Organisation for Research and Treatment of Cancer. *Blood* 90, 1997, č. 1, s. 354–370.

## **MNOHOČETNÝ MYELOM, EVROPSKÁ ŠKOLA HEMATOLOGIE, PAŘÍŽ, 12.–16. ZÁŘÍ 1998**

### **MULTIPLE MYELOMA, EUROPEAN SCHOOL OF HAEMATOLOGY, PARIS, 12TH–16TH SEPTEMBER 1998**

**MAISNAR V.**  
ODDĚLENÍ KLINICKÉ HEMATOLOGIE, FAKULTNÍ NEMOCNICE  
HRADEC KRÁLOVÉ

Díky sponzorskému příspěvku firmy Roche, s.r.o. jsem měl možnost se v září 1998 zúčastnit akce European school of Haematology monotematicky zaměřené na problematiku mnohočetného myelomu (MM). Tato akce proběhla ve velmi pěkném prostředí výukových prostor Institutu Curie v latinské čtvrti Paříže. Odborný program byl rozdělen do 4 dnů, když první 2 dny byly věnovány patofyziologii a diagnostice tohoto onemocnění, které je jednou z nejčastějších hematologických malignit (13% u bílé populace a dokonce 32% u černé populace v USA), další 2 dny potom současným a možným budoucím terapeutickým postupům. Akce se zúčastnilo asi 100 lékařů zejména z evropských států, mezi přednášejícími ale nechyběli ani přední odborníci na problematiku MM z USA /např. prof. Kyle, dr. Berenson a další/. V další části zprávy se budu zabývat některými novějšími poznatky, které zazněly během odborného programu.

Velmi zajímavým sdělením byla přednáška prof. Nilssona ze Švédska, který se zabýval problematikou vzniku maligního buněčného klonu u MM. Během vývoje MM, který je mnohastupňový, se zřejmě aktivuje množství různých onkogenů (c-myc, bcl-1, N- a K-ras a dalších), zatímco jiné geny (např. pro p53 u plazmocelulární leukémie) mohou být inaktivovány. Dříve uváděná jasná závislost maligního klonu na tzv. růstovém faktoru MM interleukinu-6 (IL-6) byla dle posledních údajů zpochybněna, protože byly nalezeny klony buněk na IL-6 nezávislé. Interleukin-6 byl rozpoznán jako jeden z faktorů zodpovědných za prevenci apoptózy, u MM tedy hrají roli i další cytokiny, které mohou fungovat jako stimulancia (např. IL-10) nebo inhibitory (interferony). U lidského MM není narozdíl od zvířecích modelů změněna struktura genu c-myc, ale ovlivněna je jeho exprese. Byla zřejmě nalezena cesta působení interferonů na MM, kterou je nejspíše receptor FAS/CD95 umístěný v buněčné membráně jen některých klonů MM, proto ani efekt interferonů není vyjádřen u všech nemocných! Aktivace tohoto systému vede k následné indukci apoptózy. Je tedy mnoho cest, jak může být u MM apoptóza ovlivněna (např. i různá citlivost nádorového klonu k hypoxii, která je menší než u zdravých plazmatických buněk), dříve do popředí stavěná závislost na IL-6 zřejmě klesá od preklinických forem, kde ještě bývá vyjádřena, k pokročilým formám, kde se zvyšuje zase např. exprese c-myc genu. Rozpoznání těchto principů dovoluje vývoj nových léčebných postupů, např. imunologické terapie zaměřené proti genu c-myc, která je již ve stádiu klinického zkoušení. Původní příčina genetických změn vedoucích ke vzniku maligního klonu však zůstává i nadále nejasná.

Prof. R. Bataille z Francie přednesl velmi zajímavé sdělení na téma kostního postižení provázejícího mnohočetný myelom. V něm zdůraznil význam biopsie kostní dřeně v diagnostice MM. Ta je důležitá i pro rozhodnutí o agresivitě daného případu MM, osteolýza je totiž nepřímo aktivována plazmatickými buňkami a pokud není alespoň fokální typ infiltrace, není proces tak aktivní. Význam histologie v diagnostice MM obhajoval ve svém sdělení i prof. Bartl z Německa, který hovořil o významu dalších informací, které touto cestou můžeme získat (posouzení celularity kostní dřeně, alterace kostní struktury a jejího následného ovlivnění léčbou např. bisfosfonáty, možnost odlišení případů benigních procesů, které se liší lokalizací plazmatických buněk = nor-

mální plazmatické buňky bývají vždy uloženy kolem kapilár). Morfologické vyšetření je podceňováno i co se týče prognózy jednotlivých forem MM - nejdelší přežití u Marschallo a small cell typů x plazmoblastický typ. Přežití se liší i dle typu infiltrace kostní dřeně (závislost je ale opačná než např. u CLL), protože pro difúzní typ infiltrace je průměrná doba přežití delší (42 měsíců) než u typu nodulární infiltrace (20 měsíců). V histologii je zřetelná i event. aktivace osteoklastů, která by měla vést k nasazení bisfosfonátů. Informaci o kostním procesu a event. časnější indikaci léčby by mohlo přinést vyšetření magnetickou rezonancí (MRI), když MRI páteře údajně velmi dobře odráží celkové postižení skeletu. Bisfosfonáty by dnes měly být součástí léčby nemocných s MM v podstatě od stanovení diagnózy doživotně. Narozdíl od cytologie dovoluje tedy histologie i zhodnocení stromatu (včetně posouzení stupně fibrózy a přítomnosti amyloidu) a kostních struktur. Při provádění trepanobiopsie stačí pro dospělé získat válečku o průměru 2 mm, nutně je vždy udělat nejednodušší histologii a až potom nasát dřeň k cytologickému a dalším vyšetřením, protože podtlakem se uvolní buňky z původního uložení ve velkém prostoru punktované kosti. R. Bataille zdůraznil i význam vyšetření kostních metabolitů (dosud se jako nejvhodnější osvědčily hladiny pyridinolinu a jeho metabolitu D-PYD v moči, které jsou produkty degradace kolagenu I. typu), které může pomoci i v rámci diferenciální diagnostiky MGUS a MM a dále je nutné pro možnost posouzení osteolytické aktivity daného onemocnění. Zvláštností MM je oproti jiným B-buněčným neoplaziím produkce tzv. OAF = osteoklasty aktivujících faktorů. Za jejich produkci ale není zřejmě zodpovědný přímo maligní klon MM (dosavadní názor), ale buňky stromatu stimulované MM. Hlavními OAF jsou zřejmě interleukin-1 beta, super IL-6, TNF-alfa a různé metaloproteiny. Novinkou je odhalení funkce tzv. super IL-6, což je cirkulující komplex interleukinu-6 s jeho receptorem, který se váže na membrány buněk v místě gp130 a vede k jejich následné aktivaci (např. osteoklastů). Stejně tak je super IL-6 i silnějším růstovým faktorem pro MM buňky než samotný interleukin-6. Co se týče bisfosfonátů, je jisté, že ovlivňují osteoklasty několika různými mechanismy. Snižují vznik nových, ale také ovlivňují apoptózu a snižují jejich aktivitu. Dnes jsou zaváděny nové velmi účinné látky např. risedronate, ibandronate a zoledronate, jsou dokončovány klinické studie jejich použití u mnohočetného myelomu (narozdíl od clodronátu byl u některých novějších preparátů prokázán jejich přímý vliv na maligní klon MM). Prof. Berenson z Los Angeles se ve svém sdělení zabýval vztahem mnohočetného myelomu a HHV-8. Tento vir patří do gamma rodiny herpetických virů, jeho růstovým faktorem je homolog lidského IL-6. Jak již bylo uvedeno, významnou roli v patogenezi MM hrají buňky stromatu kostní dřeně, které cestou produkce IL-6 a snad i některých dalších cytokinů stimulují růst a zabírají apoptózu maligního myelomového klonu. Právě v nemaligních buňkách stromatu, konkrétně v dendritických buňkách, byla prokázána pomocí PCR a FISH metodik přítomnost viru HHV-8 u 80% nově diagnostikovaných a relabujících nemocných s MM x jen u 15% v remisi onemocnění. Zatím se bohužel nedaří jeho serologický průkaz. Při studiích u příbuzných nemocných s MM byl vir prokázán jen u 2% vyšetřených. Přímá souvislost onemocnění MM (tj. infekční etiologie) je nepravděpodobná, jde zřejmě jen o možnou cestu aktivace některých onkogenů.

Pro mne byla velmi zajímavá 2 sdělení týkající se imunofenotypizace u MM, protože se danou tematikou zabývám v rámci grantu přiděleného IGA. Toto téma zpracovali pro ESH dva přední evropští odborníci na tomto poli prof. San Miguel ze Španělska a prof. Amiot z Francie. Za nejdůležitější antigeny MM jimi byly označeny CD19, 28, 40, 56, 138 a bcl-2. Nejnovější molekula CD138 (dříve B-B4) se nevyskytuje na jiných B-buněčných malignitách. Nejvhodnějším antigenem k odlišení maligního myelomového klonu se zdá být CD19, který je vyjádřen na normálních



plazmatických buňkách, ale 87% myelomových klonů je negativních. Expresí CD56 je dalším vhodným markerem k charakteristice příslušného maligního klonu, je přítomen u 68% nemocných, normálně je zastoupen jen na buňkách nervových, embryonálních tkáních a buňkách hladkého svalstva. CD138 je dosud vyjádřen údajně na všech zkoumaných klonech MM, proto je např. vhodným antigenem k purifikaci štěpu, ale je exprimován i na normálních plazmatických buňkách. Imunofenotypizace byla doporučena jako jedna z možných metod k sledování minimální reziduální choroby po vysokodávkové léčbě MM. Velmi důležitým a zatím zanedbávaným prognostickým faktorem je labelling index (LI). Dnes se v rámci DNA analýzy používá celých buněk, při vícebarevné fluorescenci jsou nevhodnější k identifikaci maligního klonu MM kombinace CD38+138 (event. +54 nebo 56). Existuje rozdíl v přežití dle zjištěné ploidity u jednotlivých nemocných - diploidní přežívají v průměru 21 měsíců x hyperploidní více než 40 měsíců. Při imunofenotypizačním vyšetření je nutné používat stále stejné protilátky, jinak by se mohla, díky zaměření proti různým epitopům, falešně lišit exprese různých antigenů v čase.

Dr. Facon z Francie se ve svém sdělení zabýval tematikou cyto-genetických změn u MM. 90% nemocných s MM je aneuploidních při kvantitativním vyšetření množství DNA, FISH zjišťuje patologické přestavby u většiny tzv. normálních karyotypů. Již ve stádiu MGUS je asi 60% nemocných aneuploidních, jde tedy o postupný vývoj onemocnění, můžeme současně prokázat přítomnost zdravé populace a maligního klonu. Genetické studie téměř vylučují možnost dosažení kompletní remise dosavadními léčebnými postupy (při vyšetření FISH se nález normalizuje jen asi u 5% nemocných). 60-75% nemocných s mnohočetným myelomem má přestavbu v oblasti 14q32, což představuje možný specifický znak k sledování minimální reziduální choroby po absolvované léčbě. Nejzávažnější změnou u MM je absence 13. chromozomu nebo jeho q raménka, takoví nemocní mívají jen velmi krátkou dobu přežití. Vzhledem k podobnosti změn u MGUS a MM není jasné, která ze změn je rozhodující pro progresi onemocnění, snad mutace genu pro c-myc?

Prof. Kyle z Mayo kliniky v Rochesteru se ve svých sděleních zabýval tematikou MGUS a amyloidózy. Zajímavé např. byly dg. nálezy u primární systémové amyloidózy, 18% nemocných mělo více než 20% plazmatických buněk ve dřeni, což hrozí záměnou tohoto onemocnění s MM. Na druhé straně se ale příliš neliší dosavadní terapeutické přístupy k oběma onemocněním. Pro dg. amyloidózy je nezbytné provedení histologického vyšetření - nejvhodnějším materiálem je v sestupném trendu tkáň srdce, jater, ledvin, kůže a abdominálního tuku (vše s výtěžností nad 80%). Dosud nejčastěji prováděná biopsie sliznice rektu vede k diagnóze u 73% nemocných. Nejčastější příčinou úmrtí u amyloidózy je srdeční selhání. Léčba je zčásti úspěšná jen u 25% případů tohoto onemocnění, kromě chemoterapie (CHT) obdobné jako u MM se může uplatnit léčba kolchicinem. Původně velmi slibné výsledky léčby pomocí I-DOX (derivát doxorubicinu) již tak dobře nevy-padají, nutno vyčkat definitivních výsledků. Problémem je léčba nemocných s kardiálními obtížemi, z diskuse vyplynulo doporučení neléčit nemocné s komorovými systémy nad 15 mm dle UZ srdce. Vzhledem k dlouhodobému charakteru onemocnění (vývoj amyloidu trvá mnoho let před vypuknutím symptomatologie) se u takovýchto nemocných v USA běžně provádí transplantáční program srdce i ledvin s následným přežitím delším než 5 let, není tedy důvod takovouto léčbu těmto nemocným odpírat.

Prof. Boccadoro z Itálie se ve svém sdělení věnoval prognostickým markerům MM. Nejdůležitějšími jsou labelling index, beta2-mikroglobulin a kreatinin. Při LI nad 2 se průměrné přežití pohybuje mezi 12-14 měsíci, nemocní sice rychle reagují na léčbu, ale stejně rychle relabují. Prognostickou hranicí beta2-mikroglobulinu se zdá být hodnota 6 mg/l, jeho hladina není závislá na aktivitě onemocnění. Ze stázačních systémů zůstává asi nejvhodnější pro rozdělení nemocných a jejich následné porovnání v rámci různých studií klasifikace Durieho a Salmona pocházející již z roku 1985. Je velmi zajímavé, že autologní BMT má lepší výsledky celkového přežití jen ve skupině nemocných s nízkými beta2-mikroglobulinem, u nemocných s vysokými hodnotami by tedy měla být zvážena transplantace allogenní.

Další sdělení již byla zaměřena na současné léčebné postupy. Konvenční chemoterapii přednesl prof. Westin ze Švédska. Pro mnohočetný myelom je charakteristické průměrné přežití 30-36 měsíců, průměrný věk nemocných kolem 70 let a zatím neexistuje léčebný způsob vedoucí k jejich trvalému vyléčení. Léčit bychom měli jen progresivní (symptomatické) nemocné, ne nemocné s MGUS, smoldering nebo tzv. indolentním myelomem. Zejména není vhodné léčit nemocné v asymptomatickém I. stádiu, protože jen 50% takovýchto nemocných vyžaduje zahájení chemoterapie do 1 roku od stanovení diagnózy. Ideálním léčebným postupem se srovnatelnými výsledky s kombinovanými režimy zůstává klasická kombinace Melphalanu s Prednisonem (MP). Jiné postupy (např. VAD nebo kombinace s Cyclofosfamidem) event. redukce běžného dávkování MP jsou nutné jen u nemocných s renální insuficiencí, kde se daří při současné hemodialýze dosáhnout 30% přežití ve 3 letech od zahájení léčby. U Melphalanu nebyla prokázána výhoda i.v. podání, u granul- nebo trombocytopenie je vhodná záměna Melphalanu za Cyclofosfamid. U konvenční CHT není vhodné pokračovat v léčbě po dosažení fáze plató = prodlouží se doba do progresu, ale ne celkové přežití a stoupá riziko vzniku sekundárního MDS a akutní leukémie. Konvenční léčbou dosáhneme odpovědi u 40-60% nemocných, kompletní remise (CR) jsou výjimečné (jen asi 5%). U relabujících nebo refrakterních nemocných se dosud nejčastěji používají tzv. kombinace 2. linie např. VAD event. možné je zkusit střední dávky Melphalanu (30-50 mg/m<sup>2</sup>). Samozřejmě součástí léčby MM jsou dále dostatečná hydratace, léčba bisfosfonáty, analgetická terapie včetně event. lokální radioterapie. U nemocných, kde v budoucnosti připadají v úvahu transplantáční postupy nutno vyloučit alkylační látky z úvodní chemoterapie.

Prof. Peest z Německa se ve svém sdělení věnoval problematice podávání interferonu alfa u MM. Principem působení je snížení exprese receptorů pro IL-6 na myelomových buňkách, není tedy přímo ovlivněna produkce IL-6 nebo exprese genu c-myc. Bylo prokázáno, že podávání interferonu jako primoterapie ani jako součásti chemoterapie nemá význam. Jen některé studie prokázaly jeho účinnost v rámci udržovací léčby po konvenční chemoterapii, po vysokodávkové léčbě je dle studie Cunninghama z roku 1994 jeho význam o něco jasnější. Podle velkých metaanalýz Ludwiga 1995 a Wheatleye 1998 dochází vlivem podávání interferonu ve fázi plató k prodloužení doby do progresu o 6 měsíců a celkového přežití o 3-7 měsíců. Poměrně často dochází k přerušení léčby pro toxické účinky (asi u 40% nemocných po 1 roce podávání - zejména CNS, hematologická a GIT). Bohužel zatím není jednoznačně definována profitující skupina nemocných, slibné v tomto směru jsou studie významu receptoru FAS/CD95, který zřejmě zprostředkovává i účinek interferonů na maligní myelomový klon.

Dr. J. Apperley z Londýna přednesla sdělení na téma léčby bisfosfonáty. Látky podobného složení byly již ve 30. letech používány jako změkčovače vody. U nové tzv. 3. generace (zoledronate, ibandronate a substance YM175) byl prokázán přímý efekt na buňky MM ve studiích in vitro, byly zahájeny studie k průkazu účinku in vivo. U symptomatických nemocných je preferováno spíše i.v. podání ve stejných termínech s chemoterapií. Je nutné podrobně vyšetřovat kostní metabolismus u všech paraproteine-mií (metabolity + nové zobrazovací metody = MRI), při průkazu aktivity je vhodné zahájení podávání bisfosfonátů. Vhodné je jejich podání i při dlouhodobé léčbě kortikoidy.

Prof. Gahrton ze Švédska je hlavním expertem přes allogenní transplantace u mnohočetného myelomu. Ve svém sdělení uvedl, že procento kompletních remisí klesá se stupněm předléčení, u žen je dosahováno lepších výsledků než u mužů, stejně tak mají lepší výsledky nemocní mladší 37 let. Signifikantně horší výsledky jsou ve skupině nemocných s beta2-mikroglobulinem nad 4 mg/l. Nejlepších výsledků se daří dosáhnout pokud se transplantuje nemocný v kompletní remisi. Výsledky nezáleží na druhu zvoleného conditioning režimu, nebyla prokázána ani výhoda T-deplece, k prevenci rozvoje závažnějších forem GVHD se nejčastěji používá kombinace Cyclosporinu A a Metotrexatu. Po 10 letech od provedení transplantace zůstává v CR 30% nemocných, problémem stejně jako u autologních převodů zůstává vysoký počet relapsů, současně je allogenní transplantace zatížena vysokou čas-nou mortalitou. Časná PCR pozitivita je po allogenní transplan-

taci častá, väčšinou vymizí do 6 mesíců. Celkově lze shrnout, že allogenní transplantace má téměř shodné výsledky jako transplantace autologní x výsledky se liší jen u žen! U progresivních onemocnění se zkouší podání dárcovských lymfocytů v různých množstvích dle kvantitativně přetrvávající M-komponenty. Nejlepších výsledků je dosahováno při syngenních BMT, překvapivě zde není vyšší výskyt relapsů a je nižší transplantační mortalita!

Problematikou autologních transplantací se ve svém sdělení zabýval dr. Attal z Francie. Dnes je jednoznačně preferováno použití periferních kmenových buněk (PKB), výsledky autologního převodu po vysokodávkové léčbě jsou jednoznačně lepší než při dosavadních postupech konvenční chemoterapie (celkové přežití 42 měsíců při konvenční chemoterapii x 57 měsíců při autologní BMT, 6-leté přežití ve 28% při konvenční CHT x ve 43% při autologní BMT). Lepší výsledky jsou dosahovány u skupiny nepředléčených nemocných mladších 60 let, z prognostických faktorů byla prokázána jen závislost na beta2-mikroglobulinu (ale nevyšetřoval LI), když lepší výsledky byly dosaženy u nemocných s nižšími vstupními hladinami. Po „double“ transplantacích jsou o něco málo lepší výsledky než po transplantaci jednoduché - delší EFS (event free survival), 3-leté přežití v 60% u jednoduché x v 74% při dvojité. Zatím nebyl prokázán žádný efekt při použití různých metod CD34+ selekce. Dnes je snaha o další zlepšení dosavadních výsledků dosahovaných pomocí autologních transplantací použitím následně tzv. „mini“ allo-BMT. Francouzští autoři připravují nový protokol IFM 99 s 3 pilotními studiemi - použití „mini“ allo-BMT, anti-IL-6 a anti-bcl-2.

Poslední den byl věnován diskusím sporných otázek a novým léčebným přístupům. Jako perspektivní se z nových léčebných postupů zdají různé metody aktivní imunoterapie s použitím různých typů vakcín (např. autologní monoklonální Ig) nebo tzv. antisense strategie s použitím oligonukleotidů proti bcl-2, které jsou již ve stádiu klinických studií! Dále z diskuse vyplynulo, že jako perspektivní udržovací léčba se zdá kombinace kortikoidů

s bisfosfonáty. V minulosti byl testován v udržovací léčbě i interleukin-2 se sporným efektem a množstvím nežádoucích účinků. Je vhodné zvážení i tzv. pozdní vysokodávkové léčby (tj. i u předléčených nemocných), protože se celkové přežití neliší od nemocných zařazených do transplantačního programu ihned po stanovení diagnózy, horší je jen EFS. Pozdní transplantace dokonce v 1 studii vedla k 63% přežívání ve 2 letech od provedené autologní transplantace. Prof. Boccadoro se krátce zmínil o studii MEL100, kterou jsme zařadili do léčebných postupů i u našich nemocných ve věkové kategorii 65 - 75 let. Oproti klasickému konvenčnímu režimu MP, kde chybí reakce na léčbu u více než 1/3 nemocných, zde reaguje téměř 90% a výsledky jsou včetně procenta dosahovaných CR srovnatelné s klasickou autologní BMT. Naopak další zvyšování dávky Melphalanu nad 200mg/m<sup>2</sup> smysl nemá, což vyplynulo ze závěrů studie prof. Harousseau. Při použití celotělového ozáření v rámci conditioning režimů je podstatně vyšší výskyt závažných mucositid a výsledky nejsou lepší než při samotném Melphalanu. Vzhledem k tomu, že IL-6 blokuje apoptózu myelomových buněk, kterou lze indukovat vysokými dávkami kortikoidů je snaha provést studii s udržovací léčbou protilátkami proti IL-6 a Dexamethasonem (prof. Harousseau). Velkým problémem všech současných studií je nutnost velkých počtů nemocných k dosažení statisticky významných rozdílů!

Celkově lze hodnotit toto setkání předních odborníků na problematiku mnohočetného myelomu jako velmi přínosné. Naše v současnosti používané postupy v diagnostice a léčbě MM se neliší od běžného evropského standardu. Velkými studiemi již byla prokázána výhoda vysokodávkové terapie s následným převodem autologních periferních kmenových buněk oproti dříve prováděné konvenční chemoterapii, ani tato léčba však nevede k trvalému vyléčení. Otázkou do budoucna je, zda se novými přístupy, které se nacházejí ve fázi klinických studií, podaří dosavadní výsledky léčby tohoto onemocnění dále zlepšit.



**DOC. MUDR. JÁN KLIMO, CSc.,**  
bývalý prednosta Kliniky  
rádioterapie a onkológie,  
LF UPJŠ v Košiciach

16. novembra 1998 by sa dožil Doc. MUDr. Ján Klimo, CSc., bývalý prednosta Kliniky rádioterapie a onkológie významného životného jubilea 60 rokov.

Doc. MUDr. Ján Klimo, CSc., narodený 16. novembra 1938 v Martine promoval na LF UPJŠ v Košiciach 1. 7. 1962. Od 1. 8. 1962 pracoval ako sekundárny lekár na Radiologickej klinike FN Košice a od 1. 3. 1967 ako odborný asistent na LF UPJŠ Košice. Menovaný vykonával atestácie z odboru rádioterapie (I. stupeň v roku 1966 a II. stupeň v roku 1972) a nadstavbovú atestáciu z odboru klinická onkológia (v roku 1981). V roku 1979 získal vedeckú hodnosť kandidáta lekárskeho vied (Masarykova Univerzita Brno) a v roku 1989 bol menovaný za docenta (Univerzita Komenského, Bratislava). Od r. 1990 bol prednostom Kliniky rádioterapie a onkológie LF UPJŠ v Košiciach.

Docent MUDr. Ján Klimo, CSc. bol mimoriadne aktívny v publikačnej činnosti (84 publikácií a viac ako 200 prednášok na medzinárodných a celoštátnych konferenciách) ako aj v aktívnej práci odborných spoločností (vykonával funkciu podpredsedu onkologickej spoločnosti pri SLS, bol členom výboru spoločnosti pre rádioterapiu, rádiobiológiu a rádiofyziku pri SLS. Bol tiež členom medzinárodných odborných spoločností: ESTRO a Európska chemoterapeutická spoločnosť.

Docent MUDr. Ján Klimo, CSc. bol dve funkčné obdobia členom akademického senátu pri LF UPJŠ a členom univerzitného akademického senátu. V rámci vedeckej činnosti bol spoluriešiteľom a navrhovateľom viacerých grantových výskumných projektov aj s medzinárodnou účasťou.

Docent MUDr. Ján Klimo, CSc. ako dlhoročný pedagóg vychovával celé generácie lekárov nielen v oblasti pregraduálnej výchovy, ale aj oblasti postgraduálnej. Jeho vysoko humánny a mimoriadne odborný prístup k študentom aj lekárom je všeobecne známy.

Docent MUDr. Ján Klimo, CSc. sa 36 rokov podieľal nielen na rozvoji výuky rádioterapie a onkológie, ale aj na rozvoji a zavádzaní progresívnych trendov v liečbe onkologických pacientov v rámci celého Slovenska, ako aj predtým v rámci celého Československa. Jeho práce v kombinovanej chemorádioterapii nádorov hlavy a krku boli priekopníckymi v rámci celej bývalej Československej republiky.

Doc. MUDr. Ján Klimo, CSc. by sa bol tento rok dožil 60 rokov, ale už dlhé roky patril medzi najvýraznejšie osobnosti LF UPJŠ a slovenskej onkológie. Bol mimoriadne aktívnym vedeckovo-výskumným, pedagogickým pracovníkom, ako aj vysoko humánnym lekárom a človekom.

Česť jeho pamiatke.

Košice, 7. 1. 1999

Prim. MUDr. Mária Wagnerová, CSc.

zástupca prednostu kliniky