
klinická onkologie

4/99

ROČNÍK 12

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
MAYER JIŘÍ
ČOUPEK PETR

SHEARD MICHAEL
KOCÁK IVO
NĚMEC JAROSLAV
ŽALOUĐÍK JAN

REDAKČNÍ RADA

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

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

OBSAH

Přehled

Adam Z., Mayer J., Vášová I., Král Z., Vorlíček J.
Přehled zkušeností s vysokodávkovou chemoterapií následovanou autologní transplantací krvetvorných buněk u pacientů s folikulárními lymfomy a s lymfomem z pláštových buněk 113

Kavan P., Novotný J., Kabičková E., Mališ J., Staňková J., Gajdoš P., Koutecký J.
Vysokodávkovaná chemoterapie u dětí s ewingovým sarkomem a periferním neuroektodermálním tumorem 120

Eckschlager T., Vícha A., Šmelhaus V., Kavan P., Cháňová M., Koutecký J., Kodet R., Soukup J., Nagy R.
Molekulární biologie nádorů ze skupiny Ewingova sarkomu 124

Původní práce

Medková V., Filip S., Vaňásek J., Bláha M., Měřička P., Stránský P.
Použití progenitorových buněk z periferní krve k podpoře intenzivní cyklické chemoterapie u pokročilého karcinomu prsu 128

Nekulová M., Němec J., Šimíčková M., Bednařík O., Kovářová M.
Hodnoty sérové thymidinkinázy u nemocných s nehodgkinskými lymfomy 133

Vagunda V., Jandáková E., Vermousek I., Rovný A., Rovný F., Dorociak F., Krejčí E.
Androgenový receptor, proliferace, apoptóza a diferenciacie u prostatického karcinomu: koreluje pouze receptor s nádorovou proliferací 136

Zprávy

Žaloudík J.
Second World Conference of Cancer Organisations, Atlanta 19.-23.5.1999-07-14
O prvenství České republiky 139

Informace

Geryk E.
Odhad výskytu nádorů a ekonomická podpora jejich výzkumu v USA 140

Knihy 119, 143

Onkologické společnosti 144

CONTENTS

Reviews

Adam Z., Mayer J., Vášová I., Král Z., Vorlíček J.
High-dose chemotherapy and autologous hematopoietic stem cell transplantation in follicular and mantle cell lymphoma, a review 113

Kavan P., Novotný J., Kabičková E., Mališ J., Staňková J., Gajdoš P., Koutecký J.
High dose chemotherapy in children with Ewing sarcoma and peripheral neuroectodermal tumor 120

Eckschlager T., Vícha A., Šmelhaus V., Kavan P., Cháňová M., Koutecký J., Kodet R., Soukup J., Nagy R.
Molecular biology of the Ewing's family of tumors 124

Original Papers

Medková V., Filip S., Vaňásek J., Bláha M., Měřička P., Stránský P.
The use of whole blood rich in PBPC in the haematopoietic support of intensive cyclic chemotherapy used in advanced breast cancer 128

Nekulová M., Němec J., Šimíčková M., Pecan I., Bednařík O., Kovářová M.
Serum thymidine kinase values in patients with nonhodgkin's lymphomas 133

Vagunda V., Jandáková E., Vermousek I., Rovný A., Rovný F., Dorociak F., Krejčí E.
Androgen receptor, proliferation, apoptosis and differentiation in prostate cancer: correlation between androgen receptor and proliferation only 136

Report

Žaloudík J.
Second World Conference of Cancer Organisations, Atlanta 19-23May 1999 139

Information

Geryk E.
Cancer estimate and economical supporting of their research in the U.S. 140

Book 119, 143

Oncological societies 144

U pacientů s nízkou maligními lymfomy je možná i alogenní transplantace krvetvorných buněk. Cílem textu je zhodnotit přínos autologních transplantací krvetvorných buněk a proto se o transplantaci krvetvorných buněk od zdravého dárce zmíníme jen okrajově. Problematika alogenních transplantací je velmi složitá a zasloužila by si samostatný článek. Alogenní transplantace u nízkou maligními lymfomů se spojena s vyšší mortalitou než je tomu u autologního postupu. Reakce štěpu proti hostiteli je zřejmě u nízkou maligními lymfomů spojena s intenzivní reakcí štěpu proti nemoci (Graft versus Disease Reaction), takže pacienti, kteří, nepodlehnu komplikacím a nežádoucím účinkům provázejícím alogenní transplantaci, mají zpravidla podstatně delší trvání remisí a počet relapsů je zásadně menší než po autologní transplantaci (Horning, 1997, Mandinger, 1998, Verdonck, 1997). Publikované zprávy o alogenní transplantaci krvetvorné tkáně u pacientů s nízkou maligními lymfomy obsahují většinou jen nečetné soubory pacientů. Dle zprávy International Bone Marrow Transplant Registry z roku 1995 dosahovala mortalita spojená s alogenní transplantací v této skupině pacientů 42 % (van Besien, 1995). Nejnovější srovnání výsledků alogenní a autologní transplantace v relativně velkém souboru pacientů publikovali v roce 1998 francouzští autoři. Alogenní transplantací bylo léčeno 72 pacientů, autologní 144 pacientů. Výsledkem byl přibližně shodný počet kompletních remisí, 86 % po alogenní a 78 % po autologní transplantaci. S transplantací spojená mortalita byla ve skupině s alogenní transplantací 30 %, ve skupině s autologní transplantací 4 %. Po alogenní transplantaci byl však pozorován extrémně nízký počet relapsů, 12 % během 60 měsíců, s plató po 15 měsících, což kontrastovalo s 55 % relapsů po 60 měsících ve skupině léčené autologní transplantací. V této skupině nebylo patrné žádné plató (Attal, 1998). Vývoj postupů alogenní transplantace směřuje k nižšímu počtu s transplantací spojených komplikací a postupně je snižována mortalita tohoto léčebného postupu. Máme tedy naději, že zdokonalující se metodika alogenních transplantací bude dále snižovat pravděpodobnost úmrtí v souvislosti s alogenní transplantací a tím bude více využíván léčebný efekt reakce štěpu proti nemoci. V dalším textu se však budeme věnovat jen autolognímu přístupu.

2. OTÁZKY A PROBLÉMY SPOJENÉ S AUTOLOGNÍ TRANSPLANTACÍ FOLIKULÁRNÍCH LYMFOMŮ

Autotransplantační léčbu lze použít jako léčbu první volby, jako zakončení iniciální konvenční cytoredukční chemoterapie, nebo až pro léčbu prvního anebo dalšího relapsu po remisi navozené klasickou chemoterapií (Lazarus, 1995, Mills, 1995, Morel, 1995, Schouten, 1996). První výsledky autologních transplantací krvetvorných buněk prokázaly dosažitelnost delších remisí než jsou obvyklé po klasické chemoterapii, při nízké peri- a potransplantační mortalitě (Colombat, 1994, Bastion, 1995, Gribben, 1997). Ojedinelé lze nalézt zprávy o pacientech zůstávajících po této léčbě v remisi po 10 let (Fouillard, 1991).

S vysokodávkovanou chemoterapií nízkou maligními lymfomů je méně zkušeností než u lymfomů středního a vysokého stupně malignity. Mnohaletá životní perspektiva těchto pacientů vyvolává zdrženlivost v aplikaci agresivních postupů a problémem je i samotný autologní štěp. Nízkou maligními lymfomy se oproti lymfomům vyšší malignity vyznačují podstatně častější infiltrací kostní dřeně, a proto se předpokládá u folikulárních lymfomů kontaminace získaného štěpu krvetvorné tkáně maligními buňkami. Vysokodávkovaná chemoterapie nízkou maligními lymfomů je tedy spojena s následujícími otázkami

1. Má vliv případná kontaminace štěpu krvetvorné tkáně vliv na účinnost vysokodávkované chemoterapie s autologní transplantací? Souvisí relaps nemoci s reinfuzí relativně malého množství maligních buněk, anebo je dílem nedokonalé eliminace nemoci předtransplantační léčbou?

2. Jaký má vliv negativní selekce - snaha o zabití maligních buněk ve štěpu?
3. Jaký vliv má pozitivní selekce - vybrání čistých hemopoetických progenitorů ze sebraného materiálu?
4. Má vysokodávkovaná chemoterapie s autologní transplantací krvetvorné tkáně vliv na celkové přežití?

2.1. Podílí se reinfúze malého množství maligních buněk na relapsu?

Jak je již výše uvedeno, u nízkou maligními lymfomů je velmi častá infiltrace kostní dřeně, která může přetrvávat i po indukční chemoterapii a maligní buňky se tedy zákonitě dostanou do štěpu pro autologní transplantaci. Je proto otázkou, zda relaps nemoci souvisí s reinfuzí malého množství maligních buněk, nebo zda je způsoben nedokonalým zničením maligní buněčné populace vysokodávkovanou chemoterapií. Tato otázka provází autologní transplantační léčbu mnohých jiných maligních chorob. Brenner a jeho spolupracovníci prokázali, že u pacienta s leukémií se reinfundované genově označené buňky podílely na relapsu nemoci (Brenner, 1993). Podobně to bylo prokázáno u chronické myeloidní leukémie (Deisseroth, 1994). V případě folikulárních lymfomů nejsou experimentální data, která by na tuto otázku přímo odpovídala. Z analogie lze však soudit na negativní vliv přítomnosti maligních buněk ve štěpu na osud pacienta.

Přetrvávání genu bcl-2 v buňkách kostní dřeně i po transplantaci bylo spojeno kratším trváním remise (Gribben, 1991). Přínosné bylo poznání, že kontaminace maligními buňkami je mnohem menší v koncentráte kmenových hemopoetických buněk z periferní krve než v kostní dřeni (McCann, 1996). To je důležité, neboť množství residuální kontaminace má vstah k pravděpodobnosti relapsu.

2.2. Jsou všechny lymfocyty s translokací (14,18) maligní a schopné další proliferace?

Není jasné, zda všechny buňky v periferní krvi s translokací (14,18) a s reorganizovaním bcl-2 genu, které jsou tím pádem považovány za maligní, jsou i klonogenní. To znamená, mají-li zachovanou schopnost proliferace (Graninger, 1987). Jedna z prvních prací uvádí pouze jeden sběr periferních kmenových buněk s přítomností maligní populace, která byla prokázána metodou tkáňové kultivace v souboru 20 pacientů s histologicky prokázanou infiltrací kostní dřeně lymfomovými buňkami (Sharp 1992). Je otázka, zda u zbývajících 19 pacientů nebyly v periferní krvi přítomny buňky s translokací (14,18), ale bez možnosti proliferace. Průkaz přítomnosti reorganizované informace bcl-2 v lymfocytech nemusí ještě znamenat, že jsou to klonogenní maligní buňky.

V Heidelbergu detekovali translokaci (14,18) metodou PCR u 22 z 29 sběrů PBSC (Haas, 1994). Po transplantaci s reinfuzí tohoto kontaminovaného štěpu mělo 5 pacientů nakonec bcl-2 negativní kostní dřev i periferní krev. To znamená, že i přes infuzi kontaminovaného štěpu může být pacient nakonec bez průkazu bcl-2 (Haas, 1994).

2.3. Zlepší se osud pacientů, podá-li se transplantát z něhož jsou odstraněny maligní buňky?

Na tuto otázku nejsou přímé odpovědi z klinických studií a proto se používají nepřímé důkazy. Typickým argumentem pro čištění transplantátu, jsou následující data:

Z pacientů, kteří byli stý den po transplantaci v remisi a u nichž byly použity periferní kmenové buňky bez přítomnosti maligních buněk, bylo po 5 letech 64 % bez známek nemoci. V případě použití kostní dřeně to bylo 57 %. Z pacientů, kteří měli sice histologicky kostní dřev bez infiltrace, ale metodou Southern blotting u nich byly prokázány maligní buňky, dosáhlo pětiletého bezpříznakového období jen 17 % pacientů (Sharp, 1996). Logická úvaha i výsledky menších studií mluví ve prospěch podávání štěpu bez anebo jen s minimálním množstvím maligních buněk (Gribben 1993 a 1994). Největší srovnávací

čísla uvádí analýza dat European Bone Marrow Transplant Lymphoma Registry z roku 1996. Registr obsahoval celkem 270 pacientů všech typů NHL s transplantací čištěného kostního štěpu. Analýza celé této skupiny neprokázala statisticky významně delší bezpříznakový interval ani celkové přežití ve srovnání s jinými vybranými pacienty bez upraveného kostního štěpu. Ve skupině s čištěným transplantátem bylo celkově pětileté přežití 54 %, ve skupině s nečištěným štěpem 48,3 %. Bepříznakové pětileté přežití dosáhlo 44,3 % s čištěným a 44,6 % s nečištěným štěpem.

Důležitá je však analýza podskupiny 50 pacientů s níže maligními lymfomy, u nichž proběhla transplantace s čištěným štěpem, prokazující nevýznamný vliv na bezpříznakové ale zásadní vliv na celkové přežití. Pětileté bezpříznakové přežití dosáhlo 48,4 % s čištěným transplantátem a 44,2 % s nečištěným transplantátem. Celkové pětileté přežití dosáhlo ve skupině s čištěným transplantátem 83,9 % pacientů a jen 47,6 % s nečištěným transplantátem ($p = 0,00184$). Analýza udává lepší výsledky transplantací režimů bez celotělového ozáření (Williams, 1996). Předchozí analýza EBMT registru přednost čištění nepopsala (Schouten, 1994).

Jakkoliv se zdá, že uvedená data svědčí pro přednost použití čištěného kostního štěpu před nečištěným, nejsou však zatím stále dostatečně přesvědčující. Někteří výzkumní pracovníci totiž tvrdí, že k tomu, aby čištění krve tvorné tkáně mělo zásadní přínos, je třeba zlepšit možnosti eradikace tumoru.

Alternativou vysvětlení, že reinfúze maligních buněk akceleruje relaps je konstatování, že úspěšnost odstranění maligních buněk ze štěpu závisí na aktuální mase nádorových buněk. U pacientů s více než 5% maligních buněk v kostní dřeni se nedařilo současnými metodami dosáhnout koncentrát bez maligní populace (prokazatelné metodou PCR). Zda podaří získat štěp krve tvorné tkáně bez kontaminace maligními buňkami, to tedy souvisí i s vlastní chemosenzitivitou nemoci (Horning, 1997).

2.4. Jaká jsou aktuální data Evropského transplantčního registru?

Celkem bylo do roku 1993 do Evropském registru nahlášeno 480 transplantací u pacientů s níže maligními lymfomy. Předpokládáné pětileté přežití těchto pacientů je 60% a pětileté bezpříznakové přežití 38% (Rohatiner, 1997).

3. ZKUŠENOSTI S TRANSPLANTACÍ NÍZCE MALIGNÍCH FOLIKULÁRNÍCH LYMFOMŮ BEZ ČIŠTĚNÍ ŠTĚPU

Universita v Nebrasce uvedla v roce 1994 výsledky léčby 79 pacientů s níže maligními lymfomy, progredujícími při konvenční chemoterapii. Tito pacienti podstoupili vysokodávkovanou chemoterapii s autologní transplantací bez upravování štěpu. V době hodnocení u 43 % pacientů trval bezpříznakový interval déle než 13 měsíců (Kessinger, 1994).

V roce 1997 tato skupina již zveřejnila výsledky autologních transplantací krve tvorných buněk u jednoho sta pacientů s níže maligními lymfomy v první či vyšší remisi. Zprvu používali k transplantaci kostní dřeň, později kmenové hemopoetické buňky z periferní krve. Čtyři roky po transplantaci žilo 65 % pacientů, bez příznaků nemoci po 4 letech bylo 44 % pacientů. Účinnost autologních transplantací byla negativně ovlivňována mírou předchozí cytostatické léčby. Přítomnost či nepřítomnost infiltrace kostní dřenež měla také vliv. Čtyřleté bezpříznakové přežití dosáhlo 72% pacientů bez infiltrace kostní dřenež a jen 57% s infiltrací kostní dřenež v době odběru štěpu. Autoři soudí, že jejich výsledky jsou srovnatelné s výsledky jiných studií, ve kterých byl použit čištěný krve tvorný štěp dřenež (Bierman, 1997).

Také Francouzi v roce 1995 prohlásili, že jejich výsledky autologních transplantací u níže maligních lymfomů se zásadně neliší od výsledků jiných studií s čištěním kostní dřenež. Po dvou letech žilo 86% transplantovaných a přitom 53 % pa-

cientů bylo po 2 roky bez příznaků nemoci. Navíc udávali, že vysokodávkovaná chemoterapie byla efektivní u pacientů s transformací v lymfomy vyššího stupně malignity a že výsledky autologní transplantací léčby pacientů v histologické transformaci se statisticky významně nelišily od ostatních (Bastion, 1995).

V roce 1997 však ze známého francouzské hematologické centra profesora Harrousseau v Nantes vyšlo první randomizované srovnání transplantací s čištěným nebo nečištěným krve tvorným štěpem (negativní selekce). Studie byla zaměřená jen na pacienty s folikulárními lymfomy v 1. či 2. remisi. Průměrná délka sledování byla 33 měsíců a za tu dobu bylo dosaženo mediánu bezpříznakového intervalu ve skupině s nečištěným štěpem 40 měsíců, zatímco ve skupině s čištěným štěpem v době hodnocení nebyl ještě tento medián stanoven, což znamená že bude delší než 40 měsíců. Průměrné pětileté přežití bylo vypočítáno na 60% ve skupině s nečištěným štěpem a 81% ve skupině s čištěným krve tvorným štěpem (Bulabois, 1997). Uvedené výsledky však stále nehovoří o vlivu autologních transplantací na délku celkového přežití. Kladný vliv autologní transplantace krve tvorných buněk na celkové přežití předpokládají hlandští lékaři. U 12 rizikových pacientů s folikulárními lymfomy trval medián bezpříznakového intervalu po autologní transplantaci léčbě 1044 dní. Potransplantační remise byla delší než předchozí remise (při konvenční léčbě opak bývá pravdou). Proto se soudí, že autologní transplantaci léčba má schopnost prodloužit celkové přežití (Schouten, 1996). Pacienti transplantovaní v druhé a vyšší remisi mají delší bezpříznakové období než konvenčně léčení nemocní. To by také mohlo nepřímým svědčit i pro pozitivní vliv vysokodávkované chemoterapie s autologní transplantací krve tvorných buněk na celkové přežití (Rohatiner, 1994). Je zde však nevyřešená otázka léčby relapsu po vysokodávkované chemoterapii.

4. ZKUŠENOSTI S TRANSPLANTACÍ NÍZCE MALIGNÍCH FOLIKULÁRNÍCH LYMFOMŮ S ČIŠTĚNÍM ŠTĚPU

4.1. Negativní selekce (purging) autologního štěpu krve tvorné tkáně.

Termín negativní selekce se používá pro postupy, jejichž cílem je zničit maligní buňky ve štěpu krve tvorné tkáně při minimálním poškození fyziologických krve tvorných buněk.

Čištění odebrané kostní dřenež je obtížnější než čištění kmenových buněk získaných z periferní krve. Byly zkoušeny chemické metody čištění - inkubace s 4-hydroperoxyklofosfamidem, což bylo spojeno se značně opožděnou obnovou krve tvorby. Tato metoda proto nenalezla u lymfomů širšího uplatnění (Mayer, Kobylka, 1996).

Další metody využívají monoklonální protilátky proti některým antigenům B-lymfocytů, které na svém povrchu nesou i maligní buňky folikulárních lymfomů. K odstranění buněk s navázanými protilátkami se někdy používá komplement, jindy imunomagnetické sféry. Těmito metodami lze zredukovat počet maligních buněk na 1% až 0,001% původního obsahu (Habekorn, 1995, Kiesel, 1987).

Problém je v tom, že i použití monoklonálních protilátek pro takzvanou negativní selekci neodstraní všechny maligní buňky, neboť četnost antigenů na povrchu buněk značně kolísá. Zatím proto není známa metoda, která by spolehlivě odstranila maligní buňky z autologního štěpu.

Rohatiner a kolektiv ze St. Bartholomews Hospital (Anglie) provedli transplantaci u 64 pacientů s níže maligními lymfomy ve druhé nebo nebo další parciální nebo kompletní remisi. Získaná kostní dřeň byla parciálně protilátkou antiCD20 a komplementem. Bepříznakový interval 3,5 let dosáhlo 55% autologně transplantovaných. Délka remise nekorelovala s faktem, zda transplantace byla provedena v 2. nebo v další remisi. Délka bezpříznakového intervalu byla delší než v kontrolní skupině s klasickou chemoterapií. Vliv autologní trans-

plantace na celkovou délku přežití však tato studie pro krátké sledování neprokázala (Rohatiner, 1994)

Další práce, která upozorňuje na přednost štěpu bez maligních buněk, je z Dana Farber Cancer Institute (USA). Tam používali kombinaci monoklonálních protilátek na čištění kostní dřeně u 114 pacientů nereagujících na konvenční terapii. Dvouletý bezpříznakový interval po transplantaci dosáhlo 70 % pacientů v CR a jen 45 % pacientů v PR před transplantací. Pacienti s nekontaminovaným štěpem měli lepší výsledky z hlediska bezpříznakového přežití než pacienti s přetrvávající kontaminací po provedené negativní selekci. Nejdelší remise byly u pacientů, u nichž nebyla detekována bcl-2 translokace v žádném vzorku po imunologickém čištění a u nichž bylo také negativní kontrolní vyšetření kostní dřeně po transplantaci. Pacienti, u nichž translokace 14/18 po transplantaci byla stále patrná, byli ohroženi časným relapsem. Tyto závěry publikovali již v roce 1991 a znovu v roce 1996, kdy k témuž závěru došli v homogennějším souboru pacientů, u nichž byla transplantací léčba použita po indukční chemoterapii CHOP u nově diagnostikovaných pacientů. Tříletého bezpříznakového intervalu dosáhlo 63% pacientů a tříletého přežití 89% pacientů (Freedman, 1996, Gribben, 1991, 1993 a 1994). V roce 1997 již referovali o 153 pacientech transplantovaných s čištěnou dřeně. Po 7 letech od léčby bylo 40 % pacientů bez recidivy, celkové 7 leté přežití od transplantace dosáhlo 70 %. V této zprávě se poprvé udává, že autologní transplantace prodloužila délku remise i celkové přežití (Freedman, 1997).

Standfordská skupina (USA) používá negativní imunologické selekce již od roku 1988. Pětiletého přežití dosáhlo 87% pacientů, pětiletého bezpříznakového přežití 67% pacientů (Horning, 1997).

4.2. Pozitivní selekce (purging) autologního štěpu krvetvorné tkáně.

Termín pozitivní selekce se používá pro postupy, jejichž cílem je izolovat ze získaného krvetvorného štěpu pouze fyziologické buňky krvetvorby. Klasickým postupem je pozitivní

selekce buněk obsahující CD34 antigen. Antigen CD34 je glykoprotein přítomný na 1 - 3% buněk kostní dřeně, zahrnujících blasty a všechny časně progenitorové buňky. CD34 se nenachází na diferencovanějších buňkách kostní dřeně, jako jsou lymfocyty, granulocyty, erytrocyty a destičky a není přítomen na maligních lymfomových buňkách. Proto lze pomocí antiCD34 protilátky oddělit progenitorové buňky kostní dřeně od ostatních buněk. Zeudek uvádí, že pozitivní imunoselekce je schopna redukovat počet maligních buněk o 99 % ale že je třeba ještě dalších metod k dokonalému odstranění maligních buněk (Zeudek, 1995). Pozitivní selekce založená na imunomagnetickém principu, stejně jako biotin-avidinová selekce, dosahují redukcí maligních buněk v průměru o tři řády, čili na 0,1%. Oba selekční postupy jsou spojeny s 50 % ztrátou hemopoetických progenitorů (Fruehauf, 1994, Gorin, 1995). Přehled všech používaných metod uvádí Beaujean, 1997.

Přihojení takto čištěného štěpu je shodné s použitím nečištěného štěpu, a proto tento způsob čištění (purging) nabývá v posledních letech na oblibě (Brugger, 1994). Francouzská skupina použila této pozitivní selekce pro léčbu 8 pacientů, kteří relabovali a přitom měli za sebou již intenzivní chemoterapii. Po autologní transplantaci nemoc u třech pacientů relabovala do jednoho roku, u dalších pěti byla remise delší než rok (Marin, 1997). Další studie, sledující význam PCR negativitu štěpu i kostní dřeně po transplantaci jsou v běhu (McQuaker, 1997). Souhrn studií hodnotících vysokodávkovanou chemoterapii u folikulárních lymfomů je uveden v tabulce 1.

5. AUTOLOGNÍ TRANSPLANTACE U PACIENTŮ S HISTOLOGICKOU TRANSFORMACÍ FOLIKULÁRNÍHO LYMFOMU

V této skupině pacientů byla vysokodávkovaná chemoterapie testována nejdříve, neboť pacienti s histologickou transformací očekávají krátký interval života. První zkušenosti Schoutena a kol. byly nepříznivé, přežití transplantovaných bylo krátké (Schouten, 1989, 1994, Foran, 1997) Tyto nepříznivé zprávy však nepotvrdila další studie z Bostonu, z Dana Farber Cancer Institut (Tak-

Tabulka 1.

Výsledky autotransplantační léčby pacientů s níže maligními folikulárními lymfomy

Autor	Fáze nemoci při transplantaci	n	Štěp	Účinek autotransplantace
Bierman	selhání standard. ch.	28	N PBSC	21měsíční p. 60 %
Freedman 1991	senzitiv relaps nekompletní 1. remise	69	neg. s. BM	53% dvouleté bezpříznakové p.
Gribben 1991	selhání standard. ch.	114	neg. s. BM	dvouleté bezpříznakové p. 70 % pac. v CR před T. 45 % pac. v CR před T.
Colombat 1994	senzitiv relaps nekompletní 1. remise	42	N, BM PBSC	58 % bezpříznakový int. 83% celkové přežití při medián u sledování 43 měsíců
Kessinenger 1994	selhání standard. ch.	79	N PBSC	43% třináctiměsíční bezpříznakové p.
Rohatiner 1994	2. a další a remise	64	N BM	55% tříleté bezpříznakové p.
Bastion 1995	1.-3. nekompl. remise, progrese	60	N PBSC	53% tříleté bezpříznakové p. 86% dvouleté celkové p.
Morel 1995	1. remise	34	chem. p. BM	80% čtyřleté celkové p. 55% čtyřleté bezpříznakové p.
Friedman 1996	1. remise	83	neg. s. BM	89% tříleté celkové 63% tříleté bezpříznakové p.
Bierman 1997	selhání standardní ch.	100	N. BM. PBSC	65% čtyřleté celkové p. 44% čtyřleté bezpříznakové p.
Bulabois 1997	1. nebo 2. remise	22	N. BM nebo PBSC	60% pětileté celkové p. medián remise 40 měsíců
		44	s. BM nebo PBSC	81% pětileté celkové p. medián remise > 40 měsíců
Horning 1997	1. remise	37	neg. s. BM	87% pětileté celkové p. 67% pětileté bezpříznakové

N = naturální, nečištěný, BM = Bone marrow = kostní dřeň, PBSC = Peripheral Blood Stem Cells neboli kmenové hemopoetické buňky získané z periferní krve, s = selekce, neg. s. = negativní selekce, ch = chemoterapie, p = přežití

vorian, 1987, Freedman, 1991), kteří nenalezli zásadního rozdílu mezi pacienty s folikulárními lymfomy a pacienty v transformaci. Autoři z Kanady charakterizují výsledky této skupiny pětiletým přežitím přibližně 30% pacientů (Simpson, 1997).

6. LYMFOM Z PLÁŠŤOVÝCH BUNĚK

Lymfom z pláštových buněk (mantle cell lymphoma dle REAL klasifikace, neboli centrocytický lymfom dle Kielské klasifikace) tvoří speciální chorobu z malých lymfocytů. Histologii, názvosloví a problémům diferenciální diagnostiky této nosologické jednotky je věnován podrobný přehled v časopise Čs. Patologie (Fakan, 1998). Lymfom z pláštových buněk je v REAL klasifikaci (na rozdíl od Kielské klasifikace) již řazen do skupiny agresivních lymfomů. Medián přežití pacientů s touto diagnózou se udává kolem 40 měsíců, výsledky jednotlivých studií kolísají od 34 do 45 měsíců. Lymfom je zpočátku dobře citlivý na léčbu. Standardní chemoterapii je dosahováno léčebné odpovědi v průměru u 80% pacientů. U velké části je odpověď hodnocena jako kompletní remise. Nicméně i po dosažení kompletní remise lymfom brzy relabuje a stává se na další léčbu rezistentní (Coiffier, 1998). Výsledky klasické chemoterapie centrocytického lymfomu jsou tedy velmi neutěšené. Význam vysokodávkované chemoterapie této skupiny nemocných je intenzivně zkoumán a diskutován. Skupina z Heidelbergu léčila autologní transplantací 13 pacientů. Jeden časně po transplantaci zemřel, dva relabovali po 10 a 11 měsících a zbývajících 10 bylo v době hodnocení v remisi s průměrnou délkou sledování 18 (10 - 47) měsíců. Autoři z Heidelbergu proto soudí, že tento léčebný způsob může prodloužit i celkovou délku života těchto pacientů (Haas, 1996). Další mírně pozitivní zprávu uvádí transplantací skupina z Dana Farber Cancer institutu z Bostonu. Křivka počtu přežívajících po vysokodávkované chemoterapii stále klesala, nebylo dosaženo žádného platá, a tedy není pravděpodobné, že by tato léčba měla alespoň u některých pacientů potenciál nemoc vyléčit. Vysokodávkovaná chemoterapie snad alespoň mírně prodloužila přežívání pacientů. Bezpříznakové přežití a celkové přežití po 4 letech od transplantace vychází na 31% a 62%, což je mírně lepší než jsou výsledky klasické chemoterapie (Freedman, 1998). Podobná data dokumentující mírné prodloužení přežití byla publikována autory Španělské studie (Conde, 1997).

Oproti těmto mírně pozitivním zprávám, lze v literatuře najít i skeptické hodnocení této léčby, jako je konstatování, že autologní transplantace u 16 pacientů dosáhla mediánu bezpříznakového intervalu jen 249 dní a mediánu celkového přežití 317 dní. Předpoklad pro tříleté celkové přežití mělo jen 24% pacientů (Ketterer, 1997).

Četné další publikace uvádějí sice vysoký počet léčebných odpovědí ale mají krátký interval sledování, takže nepřináší informaci, zda vysokodávkovaná chemoterapie těmto pacientům život prodlouží či neprodlouží (Dreger, 1997, 1998, (Gresin, 1997) Stewart, 1995)).

Vysokodávkovaná chemoterapie s podporou autologní transplantace u pacientů s lymfomem z pláštových buněk (centrocytickým lymfomem) dosahuje delších remisí, než klasická chemoterapie a s tím je spojena naděje na prodloužení života. Definitivní zhodnocení vysokodávkované chemoterapie u pacientů s touto diagnózou přinesou výsledky klinických randomizovaných studií v následujících letech.

7. ZÁVĚR

7.1. Kdy indikovat vysokodávkovanou chemoterapii u pacientů s folikulárními maligními lymfomy?

Vysokodávkovaná chemoterapie s autologní transplantací krvetvorných buněk dosahuje u pacientů s folikulárními lymfomy delších remisí než klasická chemoterapie. Důkazů pro toto tvrzení je již dosti. Prokázat, že vysokodávkovaná léčba prodloužuje i délku celkového přežití, je časově velmi zdoluhavé, a proto přímý důkaz nemáme. Zatím na tuto možnost pouze usuzujeme na základě nepřímých důkazů.

Provádět autologní transplantaci u všech nově diagnostikovaných pacientů, nebo její indikaci v této skupině pacientů nějak omezit? Na tuto otázku neznáme přesnou, tedy na průkazných faktech založenou odpověď. Z předestřených dat jsou odvozeny následující závěry.

1. Vysokodávkovanou chemoterapii považujeme za vhodnou jako konsolidaci druhé remise, obzvláště pro pacienty s první remisí kratší než jeden rok.
2. Vysokodávkovaná chemoterapie je pravděpodobně přínosem pro pacienty v první remisí, kteří mají nepříznivé prognostické známky.
3. Bude-li podána vhodná udržovací terapie, je možné předpokládat přínos autologních transplantací jako konsolidace (prohloubení) první remise.
4. Imunologický způsob čištění krvetvorného štěpu je možný, jeho pozitivní dopad na délku přežití však zatím nebyl jednoznačně prokázán. Indikace vysokodávkované chemoterapie s autologní transplantací u nehodgkinských lymfomů jsou shrnuty v tabulce 2.

Tato tabulka vychází z publikovaných dat, dále z doporučení

Tabulka 2.

Indikace vysokodávkované chemoterapie s podporou autologní transplantace hemopoetických buněk u nehodgkinských lymfomů

Nízce maligní NHL	Autotransplantační léčba dosahuje delších remisí, dosahuje remisí i u pacientů rezistentních na standardní chemoterapii. Prodloužení celkové délky života zatím pro nutnost dlouhodobého sledování neprokázáno. Autotransplantační léčby se používá v první remisí či v návaznosti na první chemosenzivní relaps.
Středně maligní NHL	Autotransplantační léčba. Indikováno po prvním relapsu.
Vysoce maligní NHL	Autotransplantační léčba indikována po prvním relapsu. Indikace v 1. kompletní remisí u rizikových pacientů je předmětem klinických studií.

Hematologické společnosti ČLS JEP a Onkologické společnosti ČLS JEP publikovaném v časopise Praktický lékař (Koža, 1997) a dále z doporučení podvýboru EBMT publikovaném v časopise Bone Marrow Transplantation (Goldman, 1998).

7.2. Kdy indikovat vysokodávkovanou chemoterapii u pacientů s lymfomem pláštové zóny?

Výsledky klasické chemoterapie jsou u pacientů s lymfomem z pláštových buněk frustrující. Průkaz přínosu vysokodávkované chemoterapie (velká prospektivní randomizovaná studie) u tohoto lymfomu zatím chybí. Je proto žádoucí vhodné pacienty léčit vysokodávkovanou chemoterapii v rámci klinických studií.

7.3. Co po autologní transplantaci

Toto je velmi důležitá otázka na kterou zatím neumíme odpovědět. Testovány byly: interferony, interleukin-2, interleukin-3, přirozené monoklonální protilátky, bispecifické monoklonální protilátky, imunotoxiny, radioimunokonjugáty vakcína. Z uvedených postupů je v praxi nejvíce zkušeností s interferonem alfa. Je známo, že interferon alfa prodloužuje remisí u pacientů s folikulárními lymfomy a že jeho účinek je největší ve skupině pacientů s minimální zbytkovou nemocí. Proto je interferon alfa nejčastěji používanou alternativou udržovací léčby u pacientů s folikulárními lymfomy v kompletní remisí po vysokodávkované chemoterapii. Přehled zkušeností s imunomodulačními postupy (interferon alfa), s aplikací monoklonálních protilátek a dalšími novějšími postupy jsme uvedli v článku o folikulárních lymfomech (Adam a kol., v tisku). Jejich přehled uvádí například Schnell, 1997.

Literatura

- Adam, Z., Mayer, J., Prokeš, B. et al.: Léčba folikulárních lymfomů. *Klinická Onkologie*, v tisku.
- Attal, M., Socie, G., Molina, M. et al.: Allogeneic bone marrow transplantation for refractory and recurrent follicular lymphoma: a case matched analysis with autologous transplantation from the french bone marrow transplant group registry. *Bone Marrow Transplant*, 21, 1998, Suppl. 1, s. 174A, Abstr. č. 601.
- Bastion, Y., Brice, P., Haioun, C. et al.: Intensive therapy with peripheral blood progenitor cell transplantation in 60 patients with poor prognosis follicular lymphoma. *Blood*, 86, 1995, 8, s. 3257 - 3262.
- van Besien, K. W., Rowings, P. A., Sobocinski, K. A. et al.: Allogeneic bone marrow transplantation for low grade lymphoma. *Proc. Amer. Soc. Clin. Oncol.*, 1995, s. 401A.
- Beujean, F.: Methods of CD34+ cell separation. Comparative analysis. *Transfus. Sci.* 18, 1997, 2, s. 251 - 261.
- Bierman, P. J., Vose, J. M., Anderson, J. R. et al.: High-dose therapy with autologous hematopoietic rescue for follicular low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *J. Clin. Oncol.*, 15, 1997, 2, s. 445 - 450.
- Bierman, P. J., Vose, J. M., Armitage, J. O. et al.: High-dose therapy followed by autologous hematopoietic rescue for follicular low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *Proceedings Amer. Soc. Clin. Oncol.*, 11, 1991, abstr. 1074.
- Brenner, M. K., Rill, D. R., Moen, R. C. et al.: Gene-marking to trace origin of relapse after autologous bone marrow transplantation. *Lancet*, 341, 1993, s. 85 - 86.
- Brugger, W., Henschler, R., Heimfeld, S. et al.: Positively selected blood CD34+ cells and unseparated peripheral blood progenitor cells mediated identical hematopoietic engraftment after high-dose V016, ifosfamide carboplatin and epirubicin. *Blood*, 84, 1994, s. 1421 - 1426.
- Bulabois, C. E., Milpied, N., Mahe, B. et al.: Purged or unpurged autologous stem cell transplantation for 66 patients with follicular lymphomas: A single center experience. *Blood*, 90, 1997, 10, Suppl. 1, part I, str. 400b, Abstr. č. 4548.
- Colombat Ph., Donadio, D., Fouillard, L. et al.: Value of autologous bone marrow transplantation in follicular lymphoma: a France Autogreffé retrospective study of 42 patients. *Bone Marrow Transplant*, 13, 1994, s. 157 - 162.
- Coffier, B.: Which treatment for mantle cell lymphoma patients. *J. Clin. Oncol.*, 16, 1998, 1, s. 3 - 5.
- Conde, E., Bosch, R., Arranz, D. et al.: Autologous stem cell transplantation for mantle cell lymphoma. The experience of GEL/TAMO Spanish cooperative group. *Blood*, 90, 1997, 10, Suppl. 1, s. 232A, Abstr. č. 1020.
- Connors, J. M., O'Reilly, S. E.: Treatment considerations in the elderly patient with lymphoma. *Hematol. Oncol. Clin. North. Amer.*, 11, 1997, č. 5, s. 949 - 961.
- Deisseroth, A. B., Zu, Z., Claxton, D. et al.: Genetic marking shows that Ph-cells present in autologous transplants of chronic myelogenous leukemia contribute to relapse after autologous bone marrow transplantation in CML. *Blood*, 83, 1994, s. 3068 - 3076.
- Dreger, P., Neuhoft, N., Kuse, R. et al.: Sequential high-dose therapy and autologous stem cell transplantation for treatment of mantle cell lymphoma. *Ann. Oncol.*, 8, 1997, s. 401 - 403.
- Dreger, P., Held, H., Sonnen, R. et al.: Treatment of mantle cell lymphoma with sequential high-dose therapy and stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 21, 1998, Suppl. 1, s. 169A, abstr. č. 583.
- Fakan, F., Plank, L., Szepe, P. et al.: Lymfom z pláštěvých buněk (MCL)-histopatologické a klinické znaky. *Čs. Patol.*, 34, 1998, č. 2, s. 47 - 53.
- Freedman, A., Gribben, D., Neuberg, P. et al.: Long-term prolongation of disease-free and overall survival following autologous bone marrow transplantation in patients with advanced relapsed follicular lymphoma. *Proceedings Amer. Soc. Clin. Oncol.*, 16, 1997, May 17 - 20, s. 89a, abstr. č. 314.
- Freedman, A., Gribben, D., Neuberg, P. et al.: High-dose therapy and autologous bone marrow transplantation in patients with follicular lymphoma during first remission. *Blood*, 88, 1996, s. 2780 - 2786.
- Freedman, A., Neuberg, D., Gribben, J. G. et al.: High-dose chemoradiotherapy and anti-B-Cell monoclonal antibody purged autologous bone marrow transplantation in mantle cell lymphoma: No evidence for long-term remission. *J. Clin. Oncol.*, 16, 1998, 1, s. 13 - 18.
- Freedman, A. S., Ritz, J., Neuberg, D. et al.: Autologous bone marrow transplantation in 69 patients with a history of low-grade B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Blood*, 77, 1991, 2524 - 2529.
- Fruehauf, S., Habekorn, M., Hoefl, R. et al.: Isolation of CD34 cells from leukapheresis products: evaluation of lymphoma purging. In Wunder et al., eds, *Hematopoietic stem cells: the Mulhouse manual* AlphaMed Press, Dayton, OH, 1994, 247 - 253.
- Foran, J. M., Rohatiner, A. J., Norton, J. et al.: High-dose therapy with autologous haematopoietic support in patients with transformed follicular lymphoma. *Proceedings Amer. Soc. Clin. Oncol.*, 16, 1997, May 17 - 20, s. 17a, abstr. č. 59.
- Fouillard, L., Gorin, N. C., Laporte, J. Ph. et al.: Feasibility of autologous bone marrow transplantation for early consolidation of follicular non-Hodgkin's lymphoma. *Eur. J. Haematol.*, 46, 1991, 279 - 284.
- Goldman, J. M., Schmitz, N., Niethammer, D. et al.: Allogeneic and autologous transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe in 1998. *Bone Marrow Transplantation*, 21, 1998, s. 1 - 7.
- Gorin, N. C., Lopez, M., Laporte, J. P. et al.: Preparation and successful engraftment of purified CD34+ bone marrow progenitor cells in patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Blood*, 85, 1995, 1647 - 1654.
- Granger, W. B., Seto, M., Boutain, B. et al.: Expression of bcl-2 and bcl-2-Ig fusion transcripts in normal and neoplastic cells. *J. Clin. Invest.*, 80, 1987, 1512 - 1515.
- Gressin, R., Legouffe, E., Leroux, D. et al.: Treatment of mantle-cell lymphomas with VAD +/- chlorambucil regiment with or without subsequent high-dose therapy and peripheral blood stem-cell transplantation. *Ann. Oncol.*, 8, 1997, Suppl. 1, s. 103 - 106.
- Gribben, J. G.: Bone marrow transplantation for low-grade B-Cell malignancies. *Current Opinion in Oncology*, 9, 1997, s. 117 - 121.
- Gribben, J. G., Freedman, A. S., Neuberg, D. et al.: Immunological purging of marrow assessed by PCR before autologous bone-marrow transplantation for B-cell lymphoma. *N. Engl. J. Med.*, 325, 1991, 1525 - 1533.
- Gribben, J. G., Neuberg, D., Barber, M. et al.: Detection of residual lymphoma cells by polymerase chain reaction in peripheral blood is significantly less predictive for relaps than detection in bone marrow. *Blood* 83, 1994, s. 3800 - 3807.
- Gribben, J. G., Neuberg, D., Freedman, A. S. et al.: Detection by polymerase chain reaction of residual cells with bcl-2 translocation is associated with increased risk of relaps after autologous bone marrow transplantation. *Blood*, 81, 1993, s. 3449 - 3457.
- Haas, R., Moos, M., Karcher, A. et al.: Sequential high-dose therapy with peripheral blood progenitor-cell support in low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *J. Clin. Oncol.*, 12, 1994, 8, s. 1685 - 1692.
- Haas, R., Moos, M., Mohle, R. et al.: High-dose therapy with peripheral blood progenitor cell transplantation in low-grade lymphoma. *Bone Marrow Transplant*, 17, 1996, s. 149 - 155.
- Habekorn, M., Fruehauf, S., Haas, R. et al.: Comparison of CD34 selection and B-cell depletion for lymphoma cell purging from leukapheresis products. In Zeller et al.: *Reduction of Anticancer Drug Toxicity. Pharmacol. Biologic. Immunologic and Gene Therapeutic Approaches. Contr. Oncol. Karger Basel*, 48, 1995, s. 112 - 117.
- Horning, S. J.: High-dose therapy and transplantation for low-grade lymphoma. *Hematol. Oncol. Clin. North Amer.*, 11, 1997, s. 919 - 923.
- Horning, S. J., Negrin, R. S., Hoppe, R. T. et al.: High-dose therapy and autografting for follicular low-grade lymphoma in first remission: The Stanford experience. *Blood*, 90, 1997, 10, Suppl. 1, Part 2, s. 594A, abstr. č. 2641.
- Kessinger, A., Vose, J. M., Bierman, P. J. et al.: Peripheral stem cell transplantation in malignant lymphomas. *Hematol. Oncol. Ann.*, 2, 1994, s. 47 - 52.
- Ketterer, N., Salles, G., Espinouse, C. et al.: Intensive therapy with peripheral stem cell transplantation in 16 patients with mantle cell lymphoma. *Ann. Oncol.*, 8, 1997, 7, s. 701 - 704.
- Kiesel, S., Haas, R., Moldenhauer, G. et al.: Removal of cells from a malignant B-cell line from bone marrow with immunomagnetic beads and with complement and immunoglobulin switch variant mediated cytotoxicity. *Leukem. Res.*, 11, 1987, s. 1119 - 1125.
- Klener, P.: Léčebné možnosti u nehodgkinských lymfomů. *Vnitřní Lék.*, 43, 1997, 5, s. 320 - 325.
- Koza, V., Indrák, K., Ivašková, E. et al.: Indikace k alogenním a autogenním transplantacím krve a kostní dřeně. *Praktický Lékař*, 77, 1997, 10, s. 476 - 481.
- Lam, K. S., Zhao, Z. G.: Targeted therapy for lymphoma with peptides. *Hematol. Oncol. Clin. North. Amer.*, 11, 1997, č. 5, s. 1007 - 1010.
- Lazarus, H. H.: Bone marrow transplantation in low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *Leukemia Lymphoma*, 17, 1995, s. 199 - 210.
- Liu, S., Press, O.: The potential for immunocytogenetics in lymphoma therapy. *Hematol. Oncol. Clin. North. Amer.*, 11, 1997, č. 5, s. 987 - 1005.
- Mandigers, C. M. P., Raemaekers, J. M. M., Schattenberg, A. V. M. B. et al.: Allogeneic bone marrow transplantation with T-cell depleted marrow grafts for patients with poor risk relapsed low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *Brit. J. Haematol.*, 100, 1998, s. 198 - 206.
- Marin, G. H., Cortivo, L. D., Gayuela, J. M. et al.: Peripheral blood stem cell CD34+ autotransplant in relapsed follicular lymphoma. *Hematol. Cell Therap.*, 39, 1997, s. 33 - 40.
- Mayer, J., Kobyłka, P.: Čištění kostní dřeně před autogenní transplantací oxazafosforinovými cytostatiky (4-hydroxypexocyclofosamidem a mafosamidem). *Vnitřní Lék*, 43, 1997, č. 7, s. 474 - 480.
- Mayer, J., Vorlíček, J.: Transplantace kmenových krvetvorných buněk periferní krve. Část I až 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 universita* 1997, 70 s.
- McCann, J. C., Kanteti, R., Shilepsky, B. et al.: High degree of occult tumor contamination in bone marrow and peripheral blood stem cell of patients undergoing autologous transplantation for non-Hodgkin's lymphoma. *Biology of Blood Marrow Transplant*, 2, 1996, s. 37 - 43.
- McQuaker, I. G., Haynes, A. P., Anderson, S. et al.: Engraftment and molecular monitoring of CD34+ peripheral blood stem cell transplants for follicular lymphoma. A pilot study. *J. Clin. Oncol.*, 15, 1997, 6, s. 2288 - 2295.
- Miller, T. P., LeBlanc, M., Grogan, T. et al.: Follicular lymphomas. Do histologic subtype predict outcome? *Hematol. Oncol. Clin. North. Amer.*, 11, 1997, č. 5, s. 893-899.

55. Mills, W., Chopra, R., McMillan, A., et al.: BEAM chemotherapy and autologous bone marrow transplantation for patients with relapsed or refractory non-Hodgkin's lymphoma. *J. Clin. Oncol.*, 13, 1995, s. 588 - 595.
56. Morel, P., Laporte, J. P., Noel, M. et al.: Autologous bone marrow transplantation as consolidation therapy may prolong remission in newly diagnosed high-risk follicular lymphoma. A pilot study of 24 cases. *Leukemia*, 9, 1995, s. 576 - 582.
57. Rohatiner, A. Z. S., Johnson, P. W. M., Price, C. G. A., et al.: Myeloablative therapy with autologous bone marrow transplantation as consolidation therapy for recurrent follicular lymphoma. *J. Clin. Oncol.*, 12, 1994, 6 s. 1177 - 1184.
58. Rohatiner, A. Z. S., Freedman, A., Nadler, L. et al.: Myeloablative therapy with autologous bone marrow transplantation as consolidation therapy for follicular lymphoma. *Ann. Oncol.*, 5, 1994, Suppl. 2, s. 143 - 146.
59. Rohatiner, A. Z. S., Gorin, N. C., Taghipour, G. et al.: High-dose therapy for low-grade lymphoma. *Bone Marrow Transplant.*, 19, 1997, Suppl 1, s. 2, Abstr. č. O607
60. Simpson, D. R., Gandhi, A. K., Steward, M. et al.: Autologous marrow and or blood cell transplantation for transformed no-Hodgkin's lymphoma. *Proceedings Amer. Soc. Clin. Oncol.*, 16, 1997, May 17 - 20, s. 11a, abstr. č. 391.
61. Sharp, J. G., Crouse, D. A.: Marrow contamination: Detection and significance. In: *High-Dose Cancer therapy: Pharmacology hematopoietins and stem cells*, edited by J. O. Armitage, K. H. Antman, Baltimore, Williams and Wilkins, 1992, s. 226 - 248.
62. Sharp, J. G., Kessinger, A., Mann, S. et al.: Outcome of high-dose therapy and autologous transplantation in non-Hodgkin's lymphomas based on the presence of tumor in the marrow or infused hematopoietic harvest. *J. Clin. Oncol.*, 14, 1996, 214 - 219.
63. Schnell, R., Bart, S., Diehl, V. et al.: Non-Hodgkin's lymphoma: A review of immunotherapeutic approaches to treatment. *Biodrugs* 8, 1997, Sep., 3, s. 216 - 234.
64. Schouten, H. C.: Aggressive treatment in follicular non-Hodgkin's lymphoma. *Brit. J. Hosp. Med.*, 56, 1996, 10, s. 525 - 528.
65. Schouten, H. C., Bierman, P. J., Vaughan, W. P. et al.: Autologous bone marrow transplantation in follicular non-Hodgkin's lymphoma before and after histologic transformation. *Blood*, 74, 1989, s. 2579 - 2584.
66. Schouten, H. C., Colombat, Ph., Verdonck, L. F. et al.: Autologous bone marrow transplantation for low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *Ann. Oncol.*, 5, 1994, Suppl.2, s. 147 - 149.
67. Schouten, I. C., Raemaekers, J. J. M., Kluijn-Nelemans, H. C. et al.: High-dose therapy followed by bone marrow transplantation for relapsed follicular non-Hodgkin's lymphoma. *Ann. Hematol.*, 73, 1996, 273 - 277.
68. Stewart, D. A., Vose, J. M., Weisenburger, D. D. et al.: The role of high-dose therapy and autologous hematopoietic stem cell transplantation for mantle cell lymphoma. *Ann. Oncol.*, 6, 1995, s. 263 - 266.
69. Swinnen, J. L.: Treatment of organ transplant-related lymphoma. *Hematol. Oncol. Clin. North. Amer.*, 11, 1997, č. 5., s. 963-973.
70. Takvorian, T., Canellos, G. P., Ritz, J. et al.: Prolonged disease-free survival after autologous bone marrow transplantation in patients with non-Hodgkin's lymphoma with poor prognosis. *N. Engl. J. Med.*, 316, 1987, s. 1499 - 1505.
71. Verdonck, L. F.: Allogeneic versus autologous bone marrow transplantation for refractory and recurrent low-grade non-Hodgkin lymphoma. *Blood*, 90, 1997, 10, s. 4201 - 4205.
72. Williams, C. D., Goldstone, A. H., Pearce, R. M. et al.: Purging of bone marrow in autologous bone marrow transplantation for non-Hodgkin's lymphoma: a case matched comparison with unpurged cases by the European Blood and Marrow Transplant lymphoma registry. *J. Clin. Oncol.*, 14, 1996, 9, 2454 - 2464.
73. Zeudek, M., Sana, I., Salzman, D. et al.: Depletion of lymphoma cells from bone marrow: use of sequential positive and negative immunoselection. Third International symposium of recent advances in hematopoietic stem cell transplantation. San Diego, USA, March 16 - 18, 1995, Abstr.

knihy

THE BASIC SCIENCE OF ONCOLOGY, THIRD EDITION
I. F. TANNOCK, R. P. HILL
 MCGRAW-HILL, NEW YORK-LONDON 1998
 539 STR., 285 OBR., 67 TAB., ISBN 0-07-105484-7, CENA 41,99
 GBP

Tato kniha vycházející již ve třetím vydání (první je z r. 1987 a druhé z roku 1992) byla napsána 34 odborníky z Kanady a USA pod vedením editorů z univerzity v Torontu. Text je rozdělen do 20 kapitol s následující tematikou: úvod do biologie nádorů, epidemiologie, metody genetické analýzy, genetické základy nádorů, viry a onkogeny, růstové faktory, proliferace a smrt buněk, chemická a radiační karcinogeneze, mimobuněčné prostředí a rakovina, progresse nádorů a metastázy, imunologie vztahující se k nádorům, hormony a rakovina, molekulární a buněčné základy radioterapie, experimentální radioterapie, buněčné a molekulární základy chemoterapie, farmakologie protinádorových látek, odolnost vůči protinádorovým látkám a experimentální chemoterapie, biologická léčba nádorů, hypertermie a fotodynamická terapie, aplikace diagnostických testů, prognostických faktorů a volba léčebných postupů. V závěru je připojen rozsáhlý slovník vysvětlující terminologii používanou v knize. Dále uvedená tvrzení vybraná ze souhrnů kapitol mají alespoň částečně ilustrovat obsah tohoto velmi zajímavého a aktuálního díla. Epidemiologické studie prokazují značné rozdíly ve výskytu a mortalitě zhoubných nádorů, jež jsou způsobeny jak zděděnými rozdíly mezi populacemi tak environmentálními faktory. Znalost těchto faktorů dovoluje realizaci preventivních programů zaměřených buď na vysoce rizikové podskupiny obyvatel (např. genetický screening) nebo častou detekci nemocí (např. mamografická vyšetření). Je mnoho důkazů podporujících závěr, že zhoubné nádorové onemocnění je nemocí genetickou; zhoubné bujení nastupuje po dvou nebo více mutacích v kmenových buňkách tkání, ale vývoj nádoru závisí na kinetice buněčné proliferace a četných hostitelských faktorech jako např. růstových faktorech a odolnosti hostitele. Některé nádory, např. retinablastom a Wilmsův tumor vznikají primárně akvizicí zděděných a somatických genetických změn v jednom genetickém místě, zatímco jiné - zahrnující sporadické nádory plic,

močového měchýře a střeva - pocházejí ze získaných genetických abnormalit v genech, snad jako důsledek expozice environmentálními faktory.

Na základě znalosti mechanismu působení karcinogenů je možné upravovat biochemické nebo buněčné obranné mechanismy s cílem snížit riziko vzniku zhoubného nádoru. Avšak zatím neefektivnější metodou k redukci zhoubných nádorů je potlačení expozice vysoce rizikovým činitelům např. kouření tabáku. Mnohé studie metastatického procesu odhalily řadu vlastností - zejména ty, jež jsou spojeny s buněčnou adhesí a sekrecí proteolytických enzymů - spojených s tímto procesem, ale snaha o identifikaci specifických biochemických vlastností, jež charakterizují všechny metastatické buňky, je zatím neúspěšná. Naopak, různé biochemické změny v buňkách produkují fenotypy, jež zvyšují schopnost buněk tvořit metastázy. Aktuální problematikou radioterapie je předpověď odezvy tkání k frakcionovanému ozáření a tím i výsledku léčby u jednotlivých pacientů na základě znalosti radiosenzitivity nádoru a normální tkáně, kinetiky nádorových buněk a rozsahu hypoxie.

Zvláštní zmínku zasluhuje poslední kapitola o hodnocení diagnostických testů, prognóze onemocnění, zdrojích biasu (systematických chyb) v prognostických studiích, účelu klinických trialů, hodnocení kvality života nemocných a ekonomických analýzách. I když obdobné kapitoly se vyskytují i v mnoha jiných knihách, výklad v díle Tannockově a Hillově je předělán pěkně uspořádaným a mimořádně názorovým výkladem.

Autoři v předmluvě zdůrazňují, že třetí vydání bylo ve srovnání s druhým zcela přepracováno, aby byl zachycen značný pokrok v uplynulých letech dosažený v oblasti základních disciplín onkologie. Editoři odvedli vynikající práci - text je velmi přehledný, obsah kapitol je uveden na jejich začátku, v závěru každé kapitoly je souhrn, překrytí obsahu jednotlivých kapitol je minimální. V textu jsou odvolávky jen na nejdůležitější literaturu, výklad je jednotlivý a málo narušovaný uváděním protichůdných názorů přebíraných z citovaných prací; jeho srozumitelnosti napomáhají podrobné legendy k ilustracím. Tuto výtečnou knihu ocení jistě nejen odborníci z praxe, ale i pedagogové, kterým poskytne podněty pro zlepšování přednášek a dalších výukových materiálů.

V. H.

VYSOKODÁVKOVANÁ CHEMOTERAPIE U DĚTÍ S EWINGOVÝM SARKOMEM A PERIFERNÍM NEUROEKTODERMÁLNÍM TUMOREM

HIGH DOSE CHEMOTHERAPY IN CHILDREN WITH EWING SARCOMA AND PERIPHERAL NEUROECRODERMAL TUMOR

KAVAN P., NOVOTNÝ J., KABÍČKOVÁ E., MALIŠ J., STAŇKOVÁ J., GAJDOŠ P. A KOUTECKÝ J.

KLINIKA DĚTSKÉ ONKOLOGIE FN MOTOL A 2. LÉKAŘSKÉ FAKULTY UK, PRAHA

Souhrn: Prognózu pacientů s lokalizovanou formou Ewingova sarkomu nebo periferním neuroektodermovým nádorem se podařilo zařazením systémové kombinované chemoterapie a lokální chirurgické léčbě s nebo bez radioterapie zlepšit pětileté přežívání bez známek na 50 - 70%. Navzdory výše uvedenému výsledku zůstává prognóza u nemocných s objemným, primárně inoperabilním nádorem, vzdálenými metastázami nebo relapsem, neuspokojivá a méně než 20 % pacientů přežívá déle než 3 roky. S cílem zlepšit špatnou prognózu přežití jsme zařadili konsolidační terapii megaterapií s autologním převodem hematopoetických krvetvorných buněk. Na své klinice jsme v období 1991 - 1998 transplantovali 31 dětí s Ewingovým sarkomem (27) nebo periferním neuroektodermovým tumorem (4). Věkový průměr byl 12,6 let. Devatenáct dětí jsme transplantovali v první nebo druhé kompletní remisi, 3 ve velmi dobré první parciální remisi, 7 v první či druhé parciální remisi a 2 s progresivní nemocí. Přípravný myeloablační režim obsahoval vždy etoposid a karboplatinu, od roku 1994 byl zařazen navíc melphalan a u některých nemocných i celotělové ozáření. Celkově přežívá s mediánem sledování 19 měsíců 18 dětí (58%). Z 13 zemřelých pacientů (42%) byl u 11 příčinou relaps či kontinuální progresse sarkomu, jedno dítě zemřelo infekcí a u jednoho nemocného se vyvinul sekundární myelodysplastický syndrom s letálním průběhem. Průměrná doba vzniku relapsu po megaterapii byla 9,3 měsíce. Přes krátkou dobu sledování konstatujeme, že ve srovnání s historickými zkušenostmi pozorujeme jistý trend lepšího přežívání transplantovaných vysoce rizikových nemocných s Ewingovým sarkomem a PNETem. Nicméně skutečný význam a role megaterapie musí být dále ověřena a přesněji determinována.

Klíčová slova: Ewingův sarkom, PNET, megaterapie

Summary: The prognosis of patients with either localized Ewing's sarcomas or malignant peripheral neuroectodermal tumors has improved with systemic combination chemotherapy and local control with surgery and/or radiation therapy, and is ranges between 50 - 70% disease free survival at five years. Despite these improvements, survival for those with large, inoperable axial primaries, distant metastases or relapse remains disappointing, with less than 20% of patients surviving more than three years. In an attempt to improve the outcome for these poor prognosis patients, we explored the role of consolidation therapy with megatherapy and autologous hematopoietic rescue. From 1991 to 1998, 27 patients with Ewing's sarcoma and 4 with peripheral neuroectodermal tumors received megatherapy. There were 20 males and 11 females, median age 12.6 years. Twenty two achieved first or second complete or very good remission at the time of transplantation, 7 second partial remission and two had progressive disease. The reparative regimen contained etoposide and carboplatine, melphalan and total body irradiation in some cases. Overall survival 58% (19 month follow up). Thirteen patients died: 11 by disease progression, one by infectious complications and secondary myelodysplastic syndrome developed in one female with lethal outcome. Median time to relapse after megatherapy was 9.3 months. In conclusion, there is evidence that myeloablative therapy has improved the outcome in at least at some patients with high risk Ewing's sarcoma. The exact role of megatherapy remains to be more precisely determined.

Keywords: Ewing's sarcoma, PNET, megatherapy

Úvod:

Ewingův sarkom je druhým nejčastějším kostním nádorem dětského věku. V posledních desetiletích došlo k významnému pokroku v léčbě níže rizikových forem¹⁾. Kombinovanou léčbou chirurgickou, chemoterapií a radioterapií je dnes možné vyléčit více než 65 % nemocných²⁾. Naproti tomu výsledky léčby onemocnění vysokého rizika jsou přes veškerou snahu a dosažený pokrok v oboru dětské onkologie neuspokojivé. Dvouleté přežití nepřevyšuje 10 %, přežití pět let je výjimečné³⁾. Rizikové skupiny nemocných nejsou definovány zcela jednotně. Nicméně iničiálně metastatické postižení, relaps nebo onemocnění vzhledem k lokalizaci inoperabilní (např. pánevní, obratle) jsou standardními nepříznivými prognostickými faktory⁴⁾. Nověji jsou zařazování mezi vysoce rizikové nemocní s objemem primárního tumoru nad 100 cm³.⁵⁾ Definitivní vyhodnocení významu věku⁶⁾ (pod vs nad 15 let), histologické odpovědi na podanou léčbu⁷⁾, proliferativní aktivity⁸⁾, hladiny LDH⁹⁾ a genetických abnormalit¹⁰⁾ vyžadují další studium. Periferní neuroektodermální nádor (PNET) je nádor příbuzný Ewingovu sarkomu, i když existují rozdíly v genové

expresi některých onkogenů¹¹⁾. Léčebním standardem je dnes moderně koncipovaný komplexní přístup využívající léčbu lokální (chirurgickou a radioterapií) a systémovou (chemoterapií). Tímto způsobem je v současnosti možné vyléčit více než 70% dětí s nižším stupněm rizika. Onemocnění vysokého stupně rizika zůstávala navzdory veškeré snaze prognosticky mimořádně nepříznivým. Proto v řadě studií byla od druhé poloviny osmdesátých let zařazována vysokodávkovaná terapie s převodem hematopoetických kmenových buněk jako léčba superkonsolidační u nemocných s chemosenzitivním onemocněním.

Pacienti a metody:

V období od ledna 1992 do března 1998 jsme na klinice dětské onkologie léčili megaterapií s následným převodem autologních hematopoetických kmenových buněk (AHSCT) 31 pacientů. Z nich 20 bylo chlapců a 11 dívek. U dvaceti sedmi klasifikoval patolog onemocnění jako Ewingův sarkom a čtyř PNET (tab. 1). Průměrný věk pacientů v době transplantace byl 12,6 roku (4,4 - 21,0). Indikací k zařazení vysokodávko-

Tab. 1.
Základní charakteristika transplantované skupiny nemocných s Ewingovým sarkomem a periferním neuroektodermovým tumorem

Diagnóza: Ewingův sarkom PNET	27 4
Pohlaví: Chlapci Dívky	20 11
Věk v době transplantace: Chlapci (průměr, rozmezí, medián) Dívky (průměr, rozmezí, medián)	13,6, 4,4 - 21, 15,3 11,7, 4,5 - 20,3, 13
Indikace AHSCT: primárně metastatický tumor relaps radikálně inoperabilní primární tumor	15 3 13
Stav v době vysokodávkované chemoterapie: 1. kompletní remise 2. kompletní remise 1. velmi dobrá parciální remise 1. a 2. Parciální remise progrese onemocnění	19 1 5 4 2
Vysokodávkovaný režim: karboplatina + etoposid karboplatina + etoposid + melfalan ± celotělové ozáření	6 25
Zdroj hematopoetických kmenových buněk: kostní dřeň periferní kmenové buňky periferní kmenové buňky + kostní dřeň	7 17 7

Tab. 2.
Statisticky signifikantně rychlejší přihojení v obou sledovaných liniích při použití periferních kmenových buněk na 5% hladině významnosti, ANOVA test.

	Průměrný počet dní do přihojení štěpu	Standardní odchylka (dny)
Přihojení leukocytů (neutrofilů $\geq 0.5 \times 10^9/l$) kostní dřeň vs periferní kmenové buňky	15 11,3	2.45 0.95
Přihojení trombocytů nad $20 \times 10^9/l$ kostní dřeň vs periferní kmenové buňky	24.2 11.6	7.99 1.71

Tab. 3.
Přípravné režimy používané v průběhu transplantace:

Režim	cytostatika	dávka	den podání	celotělové ozáření
protokol St. Jude Hospital	vepesid karboplatina	600 mg/m ² 700 mg/m ²	1. - 3. den 1. - 3. den	ne
protokol CCG 3891	vepesid karboplatina melfalan	140 mg/m ² 250 mg/m ² 70 mg/m ²	1. - 4. den 1. - 4. den 1. - 2. den	fakultativně 10 - 12 Gy

Tab. 4.
Léčebné výsledky - souhrn

celý soubor pacientů	31
žije	18 (58,1 %)
žije v CR	15 (48,4 %)
žije v PR	1 (3,2 %)
žije v DP	2 (6,4 %)
zemřelo	13 (41,9 %)
relaps	10 (32,3 %)
kontinuální progresse	1 (3,2 %)
sek. myelodysplastický syndrom	1 (3,2 %)
peritransplantační úmrtí	1 (3,2 %)

vané chemoterapie byl nádor primárně metastatický, recidivující nebo radikálně inoperabilní (zejména pánevní oblasti). Devatenáct dětí jsme transplantovali v kompletní remisi (17x v první a 2x ve druhé), 3 ve velmi dobré první parciální remisi a 7 v první nebo druhé parciální remisi. Dva nemocní byli transplantováni při progresi choroby. V úvodní léčbě byl u dvaceti nemocných použit režim německého protokolu CESS - EVAIA (etoposid, vinkristin, adriamycin, ifosfamid, aktinomycin) s lokální radioterapií místa původního postižení (12pct) nebo bez radioterapie (8pct). Režim VAIA (vinkristin, aktinomycin D, ifosfamid, adriamycin) obdrželo pět (3x s radiací primárního tumoru) dětí. Šest pacientů iniciálně léčených na jiném pracovišti a později přeložených na naši kliniku mělo iniciální terapii jinými režimy. Léčba relapsu byla založena na kombinaci vinkristinu, karboplatiny, teniposidu nebo etoposidu a vysokodávkovaného ifosfamidu do léčebných schémat. Základem přípravného předtransplantačního režimu (conditioning) byla podle protokolu pracoviště dětské onkologie St. Jude Hospital v Memphisu karboplatina a etoposid. Conditioning šesti nemocných obsahoval etoposid 1. - 3. den 500 mg/m² + karboplatinu 1. - 3. den 700 mg/m². Od roku 1994 jsme režim modifikovali na kombinaci etoposid 1. - 4. den 160 mg/m² + karboplatina 1. - 4. den 250 mg/m² + melfalan 1. den 140 mg/m², 2. den 70 mg/m². Celotělové ozáření v dávce 10 Gy a 12 Gy jsme zařadili čtyřikrát (preferovali jsme jej při plicních metastázách, limitujícím faktorem byla omezená dostupnost celotělového ozáření) (tab. 3). Zdrojem hematopoetických kmenových buněk byly 17x periferní krevní kmenové buňky (PBSCT), 7x kostní dřeň a 7x kostní dřeň i PBSCT. Převod kmenových buněk jsme ve spolupráci s Ústavem hematologie a krevní transfúze prováděli 48 hodin po skončení chemoterapie. Nemocní byli hospitalizováni v semisterilním prostředí transplantační jednotky kliniky dětské onkologie. Podpůrná léčba respektovala zásady platné pro zdravotnická zařízení provádějící AHSCT. Podávání růstového faktoru G-CSF v dávce 10 ug/kg/den jsme zahajovali 24 hodin po převodu. Preventivně byly aplikovány imunoglobuliny i.v. (1x týdně), fluorochinolony a triazolová antimykotika.

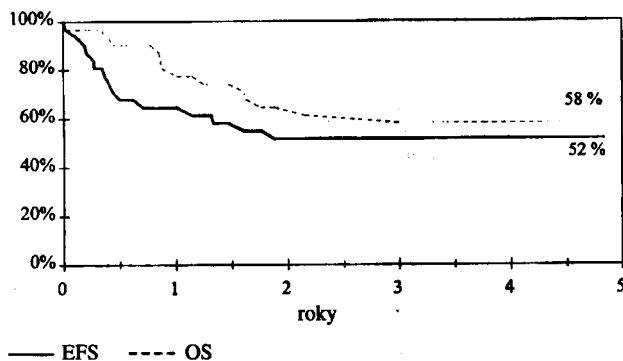
Výsledky:

Všichni pacienti plně rekonstituovali hematopoézu po předchozí myeloablativní léčbě s výjimkou jediného, který časně zemřel (D+19) sepsí s následným multiorgánovým selháním. Přihojení bílé krevní řady definované počtem neutrofilů vyšším $0.5 \times 10^9/l$ jsme po převodu PBSC zaznamenali signifikantně dříve než po převodu kostní dřeně (průměr 11.3 vs 15 dnů). Také obnova produkce trombocytů proběhla rychleji u nemocných transplantovaných PBSC vs kostní dřeň (trombocyty nad $20 \times 10^9/l$: 11.6 vs 24 dnů) (tab. 2). Průměrná doba hospitalizace na transplantační jednotce činila 25 dní (7 - 47).

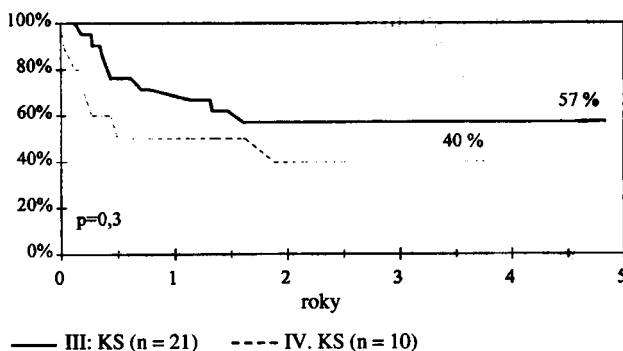
S mediánem sledování 19 měsíců žije 18 dětí (58% overall survival = OS; graf 1), patnáct zůstává v kompletní remisi, jedno v parciální remisi a dvě s progresí onemocnění. Zemřelo 13 transplantovaných pacientů (42%). Z nich u deseti byl příčinou relapsu a u jednoho kontinuální progresse základního onemocnění. Jedno dítě zemřelo sepsí se známkami multiorgánového selhání v časném potransplantačním období (D+19) a u jednoho nemocného se vyvinul sekundární myelodysplastický syndrom s letálním průběhem (tab 4). Event free survival (EFS) celého souboru je 52 % (graf 1). Při univariátní analýze nebyla nalezena statisticky signifikantní závislost mezi přežíváním nemocných a úvodním klinickým stadiem (III vs IV = 57% vs 40%; p = 0.3) (graf 2), pohlavím (chlapci vs dívky = 55% vs 45%; p = 0.7), věkem (pod 15 vs nad 15 let = 58% vs 42%; p = 0.1) (graf 3) nebo typem použitého štěpu (kostní dřeň vs periferní kmenové buňky = 71% vs 47%; p = 0.1) (graf 4), nebo typem conditioningu (VP-16 + karboplatina ± CTO vs VP-16 + karboplatina = 52 % vs 50 %; p = 0,9) (graf 5).

Průměrná doba od transplantace do vzniku relapsu činila 9.3 měsíců. Jednoznačně nejfrekventnějším byl relaps v místě

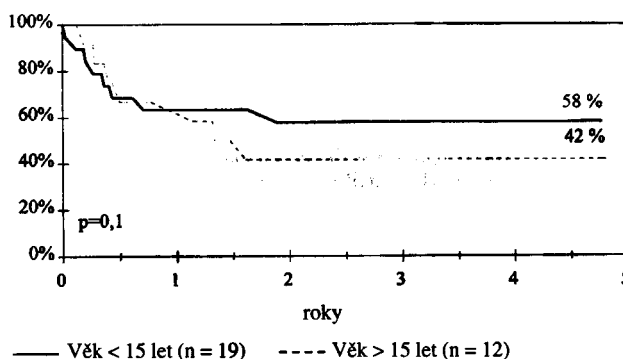
Graf 1.
EFS pacientů s Ewingovým sarkomem/PNET
(n = 31), median sledování 19 měsíců



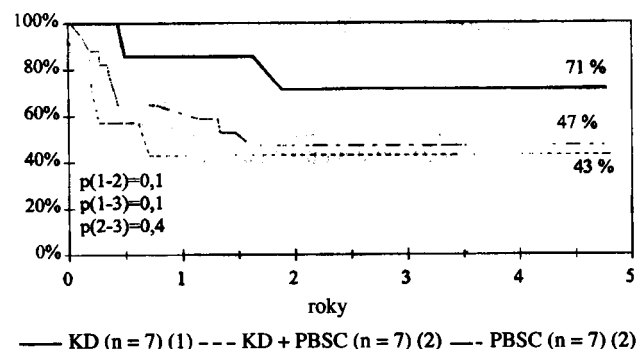
Graf 2.
EFS pacientů s Ewingovým sarkomem/PNET
(n = 31)



Graf 3.
EFS pacientů s Ewingovým sarkomem/PNET
(n = 31)



Graf 4.
EFS pacientů s Ewingovým sarkomem/PNET
(n = 31)

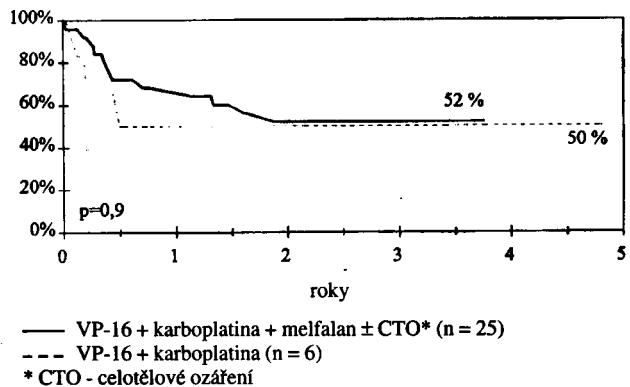


původního postižení (10x). Relaps v původně nepostižených oblastech jsme prokázali u dvou, a kombinovanou formu relapsu u jednoho nemocného. Ze dvou dětí transplantovaných s progresí choroby u jednoho onemocnění trvale progredovalo. Druhý zemřel časnými potransplantačními komplikacemi. Z 10 nemocných transplantovaných v PR nebo velmi dobré parciální remisi (VGPR) přežívá pět bez známek choroby v kompletní remisi navozené megaterapií (5/10, 50%), jeden v částečné remisi a čtyři zemřeli. Z 19 pacientů transplantovaných v kompletní remisi žije 10 trvale bez známek onemocnění, dva žijí s progresí onemocnění a sedm zemřelo relapsem.

Diskuse:

Výsledky léčby rizikových nemocných s Ewingovým sarkomem a PNET jsou při použití standardních léčebných postupů neuspokojivé. Pětileté přežití nemocných nepřevyšuje 30%¹²⁾. Zvláště nepříznivou prognózu mají nemocní s metastatickým postižením skeletu. Dobrá chemosenzitivita obou typů nádorů zdůvodňuje zařazení vysokodávkované chemoterapie. Nejvhodnějšími kandidáty vysokodávkované léčby jsou nemocní v první remisi⁵⁾. Např. italská autoři transplantují nemocné v kompletní nebo velmi dobré parciální remisi dosažené 4 cykly krátkého intenzivního režimu¹³⁾. Transplantace kostní dřeně dosahuje v řadě studií lepších léčebných výsledků (celkové EFS 62,7±11%) proti historickým kontrolám⁵⁾. Publikovaná data Evropského registru transplantace krve a kostní dřeně (EBMTR) vyhodnotila pětileté EFS po transplantaci v první a druhé kompletní remisi 21% a 32%, což je výsledek výrazně lepší, než by se čekalo od léčby bez transplantace (5-leté OS 2%¹⁴⁾)³⁾. Podobně studie 17 transplantovaných nemocných ukazuje RFS v 6 letech RFS 45±12% proti historické kontrolní skupině netransplantované 2%±2%¹⁵⁾. Francouzská studie našla třileté přežití u 16 nemocných po HSCT 71% a EFS 49%, tedy výsledek signifikantně lepší než léčebné výsledky historické kontrolní skupiny¹⁶⁾. Naopak jen okrajové zlepšení přežití bylo nalezeno ve studii srovnávající léčbu se zařazením transplantace (celotělové ozáření a chemoterapie VAC- vinkristin, adriamycin, cyklofosamid) se skupinou léčenou bez zařazení megaterapie¹⁷⁾. Léčebná strategie léčby relapsů závisí na jejich lokalizaci a snad i na době od ukončení léčby. Nemocní se vznikem relapsu déle než 2 roky od stanovení diagnózy mají 50% pravděpodobnost EFS v 5 letech na rozdíl od nemocných s časným vznikem (méně než 2 roky) relapsu, jejichž 5-ti leté EFS je nižší než 2%. Lokální recidiva je často chemorezistentní a výsledky vysokodávkované léčby jsou při ní nepřesvědčivé. Naopak při léčbě vzdáleného relapsu (zejména plicní metastázy) se častěji dosahuje kompletní remise. Transplantaci ve druhé kompletní remisi někteří autoři nepovažují za prospěšnou^{5, 18)}, vzhledem k pouhému 20% EFS, ovšem data z EBMT STR ukazují na shodné léčebné výsledky při transplantaci v první a druhé remisi³⁾.

Graf 5.
EFS pacientů s Ewingovým sarkomem/PNET
v závislosti na conditioningu (n = 29)



Zcela infaustní zůstává prognóza nemocných s mnohohořkovým metastatickým postižením skeletu. Přežití transplantovaných nemocných s rezistentním onemocněním je rovněž velmi špatné s EFS dosahujícím pouze 8% (4). Z tohoto důvodu není chemorezistentní onemocnění vhodnou indikací provedení AHSCT. Léčebné výsledky u našeho souboru nemocných - čtyřleté EFS 52% s mediánem sledování 19 měsíců - jsou srovnatelné s výsledky publikovanými jinými, výše uváděnými pracovišti.

Nejistý zůstává vliv použitého conditioningu na výsledek dlouhodobého přežívání. Data z EBMTR ukazují na přednost režimu založeného na aplikaci melfalanu a busulfanu, s nebo bez cyklofosfamidu. Pětileté EFS je u tohoto režimu 51%. U protokolů s karboplatinou a melfalanem činí 33% a u režimů s BCNU 21% ($p = 0.66$). Rovněž není k dispozici dostatečný důkaz významu zařazení celotělového ozáření (5-leté EFS 34% bez celotělového ozáření a 19% ($p = 0,0006$) u režimů s celotělovým ozářením³⁾). Na svém pracovišti jsme předtransplantační režim karboplatina + etoposid nahradili režimem obsahujícím navíc melfalan a fakultativně i celotělové ozáření. Toxicitu obou protokolů považujeme za přiměřenou. Námí dosažená peritransplantační mortalita 3% odpovídá publikovaným zkušenostem.

Závěrem lze konstatovat, že v současné době považujeme zařazení vysokodávkované terapie s následnou transplantací autologních hematopoetických kmenových buněk, predominantně periferních, do léčebného plánu vysoce rizikových nemocných s Ewingovým sarkomem a PNET v první remisi za pravděpodobně opodstatněné a to navzdory tomu, že tato indikace nebyla zatím jednoznačně potvrzena multicentrickou, randomizovanou studií. Naše vlastní argumentace se opírá o námi dosažený výsledek a historickou zkušenost, obdobné výsledky referované některými jednotlivými zahraničními pracovišti a přijatelnou morbiditu i mortalitu sdruženou se superkonsolidační léčbou. Tato toxicita dnes nepřevyšuje vedlejší účinky sdružené s protrahovanou, konvenčně vedenou pozdní intenzifikací. Rovněž ekonomická nákladnost vychází vzhledem ke zkrácení celkové doby léčby pro vysokodávkovanou terapii příznivě. Lze předpokládat, že léčebné výsledky bude možno, i když v omezeném rozsahu, zlepšit prováděním tandemových transplantací, optimalizací conditioningu, uvážejícím výběrem kandidátů transplantace event. i potransplantační udržovací terapií (imunoterapie?). Přesto ani výše uvedený léčebný postup zřejmě v blízké budoucnosti nedokáže zajistit zásadní zvrat v prognóze této tak nepříznivé skupiny onemocnění.

Literatura:

1. Rosen, G. a kol., *Cancer* 1978, sv. 41, s. 888 - 889, Curability of Ewing's sarcoma and considerations for future chemotherapeutic trials
2. Oberlin, O. a kol., *Eur. J. Clin. Oncol.* 1985, sv. 21, s. 463 - 467, The response to initial chemotherapy as a prognostic factor in localised Ewing's sarcoma
3. Landenstein, R. a kol., *Bone Marrow Transpl* 1995, sv. 15, s. 697 - 705, Impact of megatherapy in children with high-risk Ewing's tumours in complete remission: a report from the EBMT Solid Tumour Registry
4. Stewart, D. A. a kol., *Bone Marrow Transplantation* 1996, sv. 18, s. 315 - 318, High-dose melphalan +/- total body irradiation and autologous hematopoietic stem cell rescue for adult patients with Ewing's sarcoma or peripheral neuroectodermal tumor
5. Madero, L. a kol., *Bone Marrow Transplantation* 1998, sv. 21, s. 795 - 799, Megatherapy in children with high-risk Ewing's sarcoma in first complete remission
6. Cotterill, S. J. a kol., *SIOP XXVIII meeting abstract No O-195*, Prognostic factors in Ewing's tumour - an analysis of 975 patients in the GPOH/CESS and UKCCSG/MRC studies
7. Picci, P. a kol., *J. Clin. Onc.* 1993, sv. 11, s. 1763 - 1769, Prognostic Significance of Histopathologic Response to Chemotherapy in Nonmetastatic Ewing's Sarcoma of the Extremities
8. Schmidt, D. a kol., *SIOP XXVIII meeting abstract No O-177*, Proliferation and prognosis in Ewing's sarcoma
9. Kinsella, T. J. a kol., *Int. J. Rad. Oncol. Biol. Phys.* 1991, sv. 20, s. 389 - 395, Long-term follow-up of Ewing's sarcoma of bone treated with combined modality therapy
10. Hattinger, C. M. a kol., *SIOP XXXVIII meeting abstract No O-168*, Facultative aberrations in Ewing tumors: Do genetic data correlate with clinical parameters
11. Ambros, I. a kol., *Cancer* 1991, sv. 67, s. 1886 - 1893, MIC2 is a specific marker for Ewing's sarcoma and peripheral primitive neuroectodermal tumours. Evidence for a common histogenesis of Ewing's sarcoma and peripheral neuroectodermal tumours from MIC2 expression and specific chromosome aberration
12. Cangir, A. a kol., *Cancer* 1990, sv. 66, s. 887 - 893, Ewing's sarcoma metastatic at diagnosis
13. Tienghi, A. a kol., *Bone Marrow Transplant* 1996, sv. 17, S104, Intensive mobilizing induction chemotherapy followed by high dose chemotherapy with PBPC rescue in patients with high risk Ewing's sarcoma
14. Jaffe, N. a kol., *Cancer* 1976, sv. 38, s. 1925 - 1930, Improved outlook for Ewing's sarcoma and considerations for future chemotherapeutic trials
15. Burdach, S. a kol., *J. Clin. Oncol.* 1993, sv. 11, s. 1482 - 1488, Myeloablative Radiochemotherapy and Hematopoietic Stem-Cell Rescue in Poor-Prognosis Ewing's Sarcoma
16. Valteau-Couanet, D. a kol., *Bone Marrow Transplant* 1996, sv. 17, S105, High efficiency of busulfan-melphalan as consolidation therapy in metastatic Ewing's sarcoma
17. Horowitz, M. E. a kol., *J. Clin. Oncol.* 1993, sv. 11, s. 1911 - 1918, Total-Body Irradiation and Autologous Bone Marrow Transplant in the Treatment of High-Risk Ewing's Sarcoma and Rhabdomyosarcoma
18. Pinkerton, C. R., *ABMT in Solid Tumor Symposium, Proceedings SIOP 1994*, 15, High dose therapy with busulphan and melphalan for high risk Ewing's sarcoma
19. Koza, V. a kol., *Praktický lékař* 1997, sv. 77, s. 476 - 481, Indikace k allogenním a autogenním transplantacím krve a kostní dřeně

MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE NÁDORŮ ZE SKUPINY EWINGOVA SARKOMU

MOLECULAR BIOLOGY OF EWING'S FAMILY OF TUMORS

T. ECKSCHLAGER¹, A. VÍCHA¹, V. ŠMELHAUS¹, P. KAVAN¹, M. CHÁŇOVÁ¹, J. KOUTECKÝ¹, R. KODET², J. SOUKUP², R. NAGY²

¹KLINIKA DĚTSKÉ ONKOLOGIE FN MOTOL A 2. LÉKAŘSKÉ FAKULTY UK, PRAHA
²PATOLOGICKO-ANATOMICKÝ ÚSTAV 2. LÉKAŘSKÉ FAKULTY UK, PRAHA

Souhrn: Na modelu nádorů ze skupiny Ewingova sarkomu (ES) demonstrujeme význam specifických chromozomálních abेरací pro vznik nádoru, možnosti jejich průkazu a význam jejich vyšetření pro diferenciální diagnostiku, určování prognózy a detekci minimální zbytkové choroby. Pro ES jsou typické translokace t(11;22), a t(21;22), ojediněle jsou popisovány t(7;22), t(17;22) a komplexní translokace. Předpokládá se, že fúzní protein podmíněný těmito translokacemi, kde se spojí část genu EWS s částí FL-1, ERG, ETV-1 nebo EIAF, se významně podílí na vzniku těchto nádorů. Kromě výše uvedených translokací se mohou u ES vyskytovat sekundární chromozomální aberace. Dále je u těchto nádorů nacházena zvýšená exprese produktů onkogenů (onkoproteinů) c-myc, c-myb a c-mil/c-raf a bývá amplifikován gen c-myc.

Klíčová slova: nádory skupiny Ewingova sarkomu - Ewingův sarkom, periferní primitivní neuroektodermální nádor /PNET/, translokace t(11;22), t(21;22), t(7;22) a t(17;22); minimální zbytková choroba, metody detekce chromozomálních abेरací.

Summary: The authors demonstrate significance of specific chromosomal aberrations for oncogenesis, differential diagnosis, evaluation of prognosis and detection of minimal residual disease in the Ewing family of tumors (ES). For ES typical translocations are t(11;22), and t(21;22), infrequently are described t(7;22), t(17;22) and complex translocations. It is assumed that a fusion protein caused by one of those translocations, in which are connected parts of gene EWS and FL-1, ERG, ETV-1 or EIAF, give rise to this tumor. In addition there, are described some secondary chromosomal aberrations. Increased expression of products of some oncogenes (oncoproteins) c-myc, c-myb and c-mil/c-raf and amplification of c-myc is found in this cancer.

Key words: the Ewing family of tumors- Ewing's sarcoma, peripheral primitive neuroectodermal tumor /PNET/, translocations t(11;22), t(21;22), t(7;22), and t(17;22), minimal residual disease, methods for detection of chromosomal aberrations.

K nádorům skupiny Ewingova sarkomu /dále jen **Ewingovy sarkomy** - ES/ patří v dnešním pojetí nejen vlastní („původní“) Ewingův sarkom, ale také periferní primitivní neuroektodermální nádor /PPNET, zkráceně PNET/. Mezi maligními kostními nádory dětí a mladistvých jsou nádory této skupiny v pořadí na druhém místě, mohou ovšem vycházet i z měkkých tkání (nádory extraoseální). Vyskytují se zřídka u osob mladších pěti a starších třiceti let, maximum výskytu je mezi desátým a patnáctým rokem věku. Poměr mužů : žen je 1,5 : 1. Převaha chlapců, která není vyjádřena u menších dětí, stoupá s věkem (1). Pro vznik tohoto nádoru nebyl prokázán žádný rizikový faktor (2).

Na klinice dětské onkologie jsme v období let 1978–1995 ošetřovali 2623 dětí s maligními nádory, z nich 116 této skupiny (4,4 %). Kostních Ewingových sarkomů v užším slova smyslu bylo 66,5 %, extraoseálních 13 %, PNETů 20,5 % z toho je 8,5 % kostních a 12 % měkkých tkání(3).

Současné léčebné postupy u ES využívají kombinované přístupy-operace, chemoterapie, radioterapie a u nejrizikovějších pacientů v indikovaných případech i megachemoterapie s následnou transplantací hematopoetických progenitorových buněk. Třileté přežití se pohybuje u dětí a mladistvých s ES mezi 60–70 %, u generalizovaných je však pouze 30 % (1, 3, 4, 5). Prognóza je ovlivněna nejen rozsahem a lokalizací nádoru, ale i molekulární variabilitou tohoto nádoru, kterou zmíníme dále.

O histogenezi Ewingových sarkomů se vedly dlouho spory. V současnosti převládá názor, který předpokládá jejich původ v cholinergních buňkách parasymptiku, které jsou rozšířeny po celém těle. Hlavním důkazem jeho histogeneze v parasymptiku je průkaz cholecystokininu v buňkách ES a studie

in vitro (4, 5). V experimentech in vitro cyklický AMP, NGF (nerve growth factor) nebo forbol-myristát acetat indukovaly v buňkách ES tvorbu neurofilament. ES je považován za nádor z nediferencovaných buněk a PNET za formu diferencovanější (1, 3, 4, 5).

Ewingovy sarkomy se vyznačují specifickými chromozomálními abेरacemi postihujícími 22. chromozom- t(11;22) (q24;q12) a méně často t(21;22) (q22;q12), výjimečně byly popsány t(7;22) (q22;q12), t(17;22) (q12;q12) nebo komplexní translokace postihující 11. a 22. chromozom (1, 4, 5). Pacienti mají zpravidla normální konstituční karyotyp a výše uvedené translokace se nacházejí pouze v nádorových buňkách. U zdravých osob může být nalezena konstituční translokace t(11;22), která je však odlišná od translokace typické pro ES. Tato konstituční translokace je zpravidla asymptomatická a není provázána zvýšeným rizikem vzniku ES ani jiných nádorů (6).

Nejčastější reciproční translokaci t(11;22) (q24;q12) se daří prokázat standardními cytogenetickými metodami u více jak 80 % ES a při použití metod molekulární biologie ve více než 90 % (1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9). Přestavba postihuje gen EWS na 22. chromozomu a gen FLI-1 na 11. chromozomu. Gen FLI-1 kóduje aktivátor transkripce z rodiny ETS (erythroblastotomosis virus transformující sekvence), který se přímo váže na DNA. Rodina ETS genů kóduje proteiny, které obsahují na DNA se vážící doménu- ETS doménu. ETS proteiny, které se vyskytují u všech živočichů, se dělí na různé podrodiny viz tabulka.

Fúzní proteiny obsahující ETS doménu se uplatňují nejen u ES, ale i u chronické myeloidní leukémie t(16;21) gen ERG a t(12;22) gen TEL, u akutní myeloidní leukémie t(5;12) gen

Tabulka.

Přehled genů ETS rodiny. Podtržené geny se podílejí na vzniku nádorů.

Podrodina	Geny
ETS	<u>ETS1</u> , <u>ETS 2</u>
ERG	ERG, FLI-1, FEV
ELG	GABP α
ETS4	<u>TEL</u>
PEA3	<u>E1AF</u> , <u>ERM</u> , <u>ETV1</u> , <u>ER81</u>
TCFs	ELK-1, Sap1a, NET/ERP/Sap2
ELF	ELF1, NERF1b, MEF
SPI	PU1, SPI-B
ERF	ERF, PE-1
ESX	ESX/ESE-1

TEL, u akutní lymfoblastické leukémie z B prekurzorů t(9;12) gen TEL a u karcinomu prsu (zvýšená exprese proteinů z rodiny PEA3). Předpokládá se, že ETS proteiny jsou transkripční faktory a slouží jako vazebné místo proteinu Ras. Tyto proteiny se mohou rovněž uplatňovat při invazivitě a metastázování (souhrnně o genech ETS 10).

O funkci genu EWS je známo pouze to, že jeho produkt obsahuje oblast s vazebnou afinitou k RNA. Fúze genu EWS s jinými geny se uplatňuje i u některých dalších nádorů: u sarkomu z jasných buněk translokace t(12;22), při níž vzniká fúze ATF1 s EWS, u desmoplastického nádoru břišní dutiny z malých kulatých buněk t(11;22), při které s EWS fúzuje gen WT1. Tato translokace tedy není totožná s translokací u ES, i když postihuje stejné chromozomy. U extraskeletálního myxoidního chondrosarkomu byla prokázána t(9;22) fúze TEL s EWS (10, 12, 13, 14). Delece v oblasti 22q11.3-q12 se prokazuje z neurinomu a v oblasti 22q11.2-q12 u menigeomů (15). Zda se tyto hypotetické antionkegony lokalizované na 22. chromozomu uplatňují i u ES, nebo se jedná o pouhou koincidenci, není dosud jasné.

Fúzní gen na derivovaném 22. chromozomu je složen z 5' sekvencí genu EWS a z 3' sekvencí genu FLI-1. Produkt tohoto fúzního genu, kde je aminoterminální část EWS fúzována s ETS doménou genu FL-1, si podržel schopnost vazby na DNA stejně jako produkt normálního genu FLI-1. Terminální doména EWS, která v tomto chimerickém proteinu způsobuje jeho vysoký aktivační potenciál, si zachovala původní schopnost vazby na RNA. Fúzní gen je regulován promotorem genu EWS (5, 16). K zajištění schopnosti vyvolat maligní transformaci je v tomto fúzním genu nezbytná jak 5' oblast genu EWS, tak 3' oblast genu FLI-1-ETS doménu (10, 16). Naproti tomu derivovaný 11. chromozom je u části Ewingových sarkomů sekundárně ztracen a na vzniku nádorů se s největší pravděpodobností neuplatňuje.

Dalšími, u Ewingových sarkomů popisovanými, translokacemi jsou t(21;22)(q22;q12) a výjimečně t(7;22)(p22;q12) nebo t(17;22)(q12;q12). U t(21;22) fúzuje s genem EWS jiný gen z rodiny ETS - ERG na 21. chromozomu (5, 18). Tento fúzní gen vykazuje velkou shodu s fúzním genem EWS-FLI-1, kdy ETS doména genu ERG je v 98 % shodná s ETS doménou genu FLI-1 (11). U třetí translokace t(7;22) fúzuje EWS s dalším genem z této rodiny ETV-1 (5,18). U translokace t(17;22), která je rovněž ojediněle popisována u ES, fúzuje gen EWS s genem E1AF, který je rovněž členem rodiny ETS (19, 20). Translokace t(21;22) se vyskytuje asi u 5 % ES, zbylé dvě translokace t(7;22) a t(17;22) byly nalezeny v jednotlivých případech (1, 3, 4, 5, 19). Kromě těchto translokací literatura uvádí i komplexní translokace postihující geny EWS a FLI-1

t(11;14;22) (q24;q11;q12), t(10;11;22) (q11.2;q24;q12), t(11;17;22) (q24;q22;q11), t(11;18;22) (q24;q22;q12) a t(4;11;22) (q21;q24;q12) (souhrnně 20).

Význam fúzních proteinů pro vznik nádorů byl potvrzen i experimentálně. Transfekce fibroblastů v tkáňové kultuře fúzním genem EWS-FLI-1 nebo EWS-ERG vyvolá transformaci buněk a inhibici apoptózy (10, 20).

Kromě uvedených translokací, které jsou primární, se u Ewingových sarkomů vyskytují ještě sekundární chromozomální aberace – trizomie nebo dokonce tetrazomie 8. a 12. chromozomu a translokace t(1;16)(q10-21;q10-13), která často vede k deleci 16q a ke zmnožení kopií 1q(21, 22). Zda se tyto sekundární chromozomální aberace podílejí na vývoji chování Ewingových sarkomů není dosud zcela jasné. Trisomie 8. a 12. chromozomu je prokazována častěji v relapsech než v primárních nádorech (22). In vitro s délkou kultivace stoupá u buněčných liniích odvozených od ES výskyt tetrazomie 8. chromozomu. To je vysvětlováno rychlejší proliferací nebo menším zánikem (apoptózou) buněk s tetrazomií. Trizomie 8. chromozomu buněk v tkáňové kultuře růstově nevhodňuje (23).

Přesná poloha translokací t(11;22) a t(21;22) je variabilní. Na úrovni DNA se velikost fúzního genu EWS-FL-1 pohybuje v rozsahu 2–40 kilobází, na úrovni RNA mezi 250–600 bázemi. Zlomová místa u t(11;22) jsou v 7.–10. intronu EWS a 3.–9. intronu FLI-1 (16). Dosud je v literatuře uvedeno více než 15 fúzních transkriptů. Tyto chimerické geny kódují velmi podobné proteiny (24). Nejčastěji jsou udávány čtyři různé fúzní sekvence (25). Fúzní gen vždy obsahuje 1. až 7. exon EWS a nejméně 9. exon FLI-1 nebo odpovídající části jednoho z genů ERG, ETV-1 či E1AF (1, 26). Zdá se, že přesný typ přestavby t(11;22) určený polohou zlomových míst by mohl mít prognostický význam. U translokací spojujících 1. až 7. exon EWS a 6. až 9. exon FLI-1 (nejčastější tzv. 1. typ) našli rakouští autoři častěji lokalizované nádory postihující končetiny a u translokací v oblasti 7. exonu EWS a 5. exonu FLI-1 (tzv. 2. typ) byly podstatně častější nádory centrální osy, které metastazovaly (26). Příznivější průběh u 1. typu t(11;22) potvrdili rovněž španělští autoři (27). Zdá se, že přesné určení typu translokace t(11;22) bude sloužit jako nezávislý prognostický znak. Podrobnější specifikace zlomových míst u ostatních translokací není dosud známá vzhledem k jejich řídkému výskytu.

Kromě těchto translokací je u Ewingových sarkomů udávána zvýšená exprese produktů onkogenů (tzv. onkoproteinů) c-myc, c-myb a c-mil/c-raf. ES neexprimují c-sis ani c-fes (28, 29). Gen c-myc bývá na rozdíl od genu N-myc amplifikován (30). Tyto nálezy svědčí pro účast dalších kroků na vzniku nebo vývoji ES a potvrzují tak teorii o víceúrovňovém vzniku nádorů. Mutace genu p53 se u Ewingových sarkomů nalézá pouze zřídka a není ve vztahu k oblasti zlomových míst ani k průběhu onemocnění. Zdá se, že mutace jedné alely p53 provázaná delecí druhé alely je spojena s horší prognózou (31). U většiny Ewingových sarkomů jsou na úrovni RNA i proteinů exprimovány nm 23-H1 i nm 23-H2. Tyto proteiny, které jsou povahy NDP-kinázy, mají u řady nádorů protimetastatický efekt (melanom, karcinom prsu, kolorekta, ledviny a j.). Ztráta genu nm 23-H1 nebo nm 23-H2 se u výše uvedených nádorů projevuje zvýšenou tendencí k metastazování. U nádorů dětského věku může být význam těchto proteinů jiný, protože naopak u neuroblastomu je amplifikace a zvýšená exprese nm23-H1 známkou horší prognózy (32).

V současnosti máme k dispozici několik metod k detekci výše uvedených translokací, které mají význam pro klinickou praxi. Základním postupem je standardní cytogenetické vyšetření. Hlavní přednost cytogenetického vyšetření oproti fluorescenční in situ hybridizaci (FISH) a polymerázové řetězové reakci (PCR) je v tom, že umožňuje zachytit všechny větší chromozomální aberace. Tak lze jedním vyšetřením detekovat například t(11;22), t(21;22), t(7;22), nebo t(17;22), což molekulárně biologické metody neumožňují. Cytogenetické

vyšetření lze při nejistotě zpřesnit pomocí FISH za použití tzv. malovacích sond pro jednotlivé chromozomy. Jedná se o sondy hybridizující s mnohočetnými chromozomálními sekvencemi, kterými lze označit celý chromozom. Tyto sondy, které jsou velmi vhodné zvláště k diagnostice translokací, jsou komerčně dostupné pro všechny chromozomy karyotypu člověka. Tak lze ve sledované mitóze označit celý příslušný chromozom, a pokud je translokován, získáme další světelný signál z jeho translokované části. S výhodou lze použít dvě nebo dokonce tři různobarevně značené sondy (33).

Hlavní nevýhodou cytogenetického vyšetření je technická obtížnost kultivace nádorových buněk zvláště ze solidních nádorů. I na renomovaných pracovištích se nedaří zpravidla získat u více jak 40 % nádorů hodnotitelné mitózy (34). Navíc nemáme při normálním karyotypu jistotu, že hodnocené mitózy pocházejí skutečně z nádorových buněk. Dosud není k dispozici metoda, která by umožnila určit z jaké buňky vyšetřovaná mitóza pochází.

K detekci translokací lze použít i molekulárně biologické metody - FISH a PCR. FISH lze hodnotit jak v mitóze, tak v interfázi. Pokud máme k dispozici dvě různě značené sondy proti oblasti, které se nacházejí na obou chromozomech blízko oblasti zlomu, získáme u normální buňky čtyři signály, vždy po dvou signálech stejné barvy. U buňky s hledanou translokací je místo jedné dvojice fúzní signál, jehož barva odpovídá kombinaci barev obou signálů viz obrázek. Někdy lze jako kontrolu použít dvě sondy lokalizované na stejném chromozomu blízko před zlomovým místem a za ním, které se v interfázi u netranslokovaného chromozomu jeví jako jeden bod a u translokovaného jako body dva. Tímto přístupem lze však prokázat pouze, zda je příslušná část oddělena (deletována nebo translokována) ne však zda a s kterým chromozomem fúzuje. K průkazu t(11;22) u ES byly již připraveny kosmidové sondy (35, 36). Velmi perspektivní metodou k průkazu numerických chromozomálních aberací (chybění nebo zmnožení počtu chromozomů nebo jejich částí) se jeví komparativní genomová hybridizace (CGH) (37).

K dispozici je reversně transkripční PCR (RT PCR) detekující t(11;22)(q24;q12) a t(21;22)(q24;q12) (38, 39). Reversní transkripci je nutné použít vzhledem k variabilitě zlomových míst a k tomu, že oba postižené geny obsahují introny. Velikost produktu vzniklého amplifikací při RT PCR s primery lokalizovanými na 11. a 22. chromozomu umožňuje zjistit, který typ translokace je ve vzorku přítomen (40). RT PCR umožňuje velmi citlivě diagnostikovat přítomnost nádorových buněk již v množství 1 nádorová buňka na 10^3 – 10^4 zdravých buněk. Citlivost průkazu lze ještě o 1–2 řády zvýšit použitím tzv. uhnížděné („nested“) PCR. Jde o PCR reakci z produktu prvního kola PCR s primery, které leží uvnitř tohoto produktu (31). V současnosti byly navrženy primery, které detekují obě nejčastější translokace t(11;22) i t(21;22), protože vycházejí z homologie v ETS doméně. Dalšími RT PCR reakcemi je pak možno určit, o kterou z translokací se jedná (41).

Předností molekulárně biologických metod proti vyšetření cytogenetickému je nesrovnatelně větší citlivost, zvláště u RT PCR, a větší spolehlivost. Odpadá totiž nezbytnost kultivace a záchytu mitóz. Na druhé straně odpoví FISH a PCR pouze na to, zda je hledaná chromozomální aberace přítomna a neodhalí žádnou jinou aberaci. Například výsledek RT PCR s primery k detekci t(11;22) nás neinformuje o t(21;22), t(7;22) nebo t(17;22). Ideální situací je proto kombinace jak vyšetření cytogenetického, tak molekulárně biologického.

Tyto cytogenetické a molekulárně biologické metody zpřesňují diferenciální diagnostiku nádorů dětského věku. Ewingovy sarkomy totiž patří do tak zvané skupiny „nádorů z malých kulatých buněk“. Do této skupiny nádorů zařazujeme ještě neuroblastom, rabdomyosarkom a non-Hodgkinské lymfomy. Přesné odlišení těchto nádorů, které je nezbytné pro výběr správné terapie, je obtížné a někdy dokonce nemožné i pro velmi erudovaného patologa. Morfoligicky jsou nádory z malých kulatých buněk charakterizovány malými hyperchromatickými buňkami s kulatým jádrem, s promínujícím jádrkem a s velmi chudou cytoplazmou. Speciálním barvením lze prokázat u zhruba 90 % ES glykogen. Průkaz glykogenu však není zcela patologomický pro ES, protože byl nalezen i u jiných nádorů z této skupiny (42). Imunohistochemicky lze na buňkách Ewingova sarkomu v užším slova smyslu prokázat vimentin, HBA-71 a MIC2 a u PNETů ještě ostectin, neurospecifickou enolázu a S-100. Ani průkaz těchto antigenů není zcela jednoznačný v diferenciální diagnostice ES (1). K přesné diagnostice nádorů z této skupiny přispívá kromě vyšetření histologického, ultrastrukturálního, imunohistochemického i průkaz chromozomálních aberací (1, 3, 4, 38, 39, 40).

Další význam molekulárně biologických metod spočívá v přesnějším určení klinického stadia (průkaz malého množství nádorových buněk v kostní dřeni) a při detekci minimální zbytkové choroby. Kolektiv francouzských autorů prokázal, že u pacientů s ES nález buněk se specifickými translokacemi v kostní dřeni je známkou horší prognózy. Naproti tomu průkaz nádorových buněk v periferní krvi nemá jednoznačný vztah k prognóze (43). Význam detekce zbytkové choroby v poslední době ještě vzrostl zavedením megachemoterapie s následnou transplantací hematopoetických buněk. Metodou značení geny bylo prokázáno, že alespoň za část relapsů po megachemoterapii je odpovědný přenos buněk štěpem (44). Proto průkaz „bezpečnosti“ štěpu a jejich čištění ex vivo s následnou kontrolou efektu tohoto „purgingu“ může napomoci ke zlepšení prognózy pacientů s nejrizikovějšími formami ES.

Po dalším prověření se může molekulárně biologické vyšetření, které určí typ a zlomová místa příslušné translokace, uplatnit i při zpřesnění prognózy Ewingova sarkomu. Podle některých literárních údajů se při určení prognózy ES může uplatnit i cytometrická analýza. Pacienti s DNA aneuploidními nádory mají horší prognózu (19). Na našem souboru 13 pacientů s ES, u kterých jsme vyšetřili DNA ploidii před zahájením chemoterapie a radioterapie, jsme výrazně horší přežití

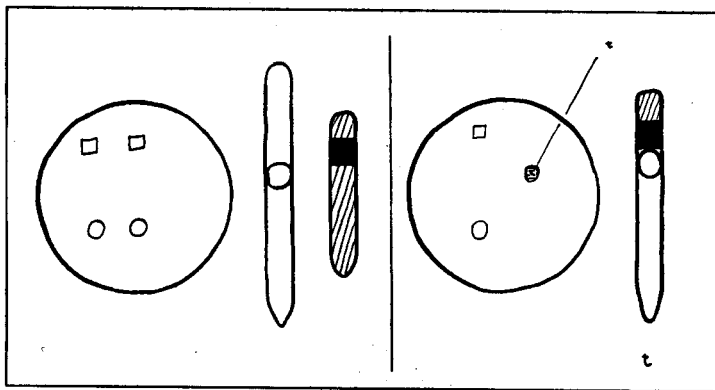


Schéma průkazu translokace metodou FISH při použití dvou sond značených různými fluorochromy – čtvereček a kolečko.

A – normální buňka – dvě dvojice různobarevných signálů
B – buňka s translokací – dva signály různé barvy odpovídající dvěma netranslokovaným chromozomům, třetí signál – t, odpovídající fúznímu genu vzniká spojením obou barev.

u dětí s DNA aneuploidním nádorem nepotvrdili. Tento vztah však sledujeme i nadále a plánujeme jej vyhodnotit u většího souboru pacientů a po delší době sledování.

Na příkladu Ewingova sarkomu jsme se pokusili demonstrovat nejen současné znalosti získané teoretickým výzkumem v oblasti molekulární biologie, ale především význam těchto poznatků pro klinickou praxi a nezbytnost jejich zavádění.

V laboratoři kliniky dětské onkologie 2. lékařské fakulty UK jsme v současné době zahájili program zaměřený na detek-

ci translokací u Ewingových sarkomů metodou nested RT PCR a FISH s cílem zpřesnit diagnostiku, staging a detekci zbytkové choroby. V dilučních testech (nádorové buňky ředěné leukocyty normální krve nebo kostní dřevě) jsme dokázali detekovat jednu nádorovou buňku na 10^5 buněk normálních.

Práce byla podpořena granty IGA MZ ČR č. 2600-5, 2896-5 a Mf/6-3.

Literatura

1. H. Jurgens, A. Barrett, D. Dockhorn-Dworniczak a W. Winhelman: Ewing's sarcoma. v P. A. Voute, C. Kalifa a A. Barrett eds. Cancer in Children. Oxford University Press, Oxford, 1998.
2. J. D. Buckley, T. W. Pendergrass, E. M. Buckley a kol.: Epidemiology of osteosarcoma and Ewing's sarcoma in childhood: A study of 305 cases by the Children's Cancer Group. Cancer, 83, 1440, 1998.
3. J. Koutecký a kol.: Nádorová onemocnění dětí a mladistvých. Karolinum, Praha 1997.
4. E. Grier: The Ewing Family of Tumors. Ped. Clin. N. America, 44, 991, 1997.
5. M. E. Horowitz, M. G. Tsokos, T. F. De Laney: Ewing's Sarcoma. CA, 42, 300, 1992.
6. M. Budarf, B. Sellinger, C. Griffin a B. S. Emanuel: Comparative mapping of the constitutional and tumor-associated 11;22 translocation. Am. J. Hum. Genet., 45, 128, 1989.
7. C. Turc-Carel, A. Aurias, F. Mugneret a kol.: Chromosomes in Ewing's sarcoma. An evaluation of 85 cases of remarkable consistency of t(11;22)(q24;q12). Cancer Genet. Cytogenet. 32, 229, 1988.
8. J. Whang-Peng, T. J. Tricle, T. Knutsen a kol.: Cytogenetic characterization of selected small round cell tumors of childhood. Cancer Genet. Cytogenet., 21, 195, 1986.
9. O. Delattre, J. Zucman, B. Plougastel a kol.: Cloning of the recurrent t(11;22) translocation of Ewing's sarcoma and peripheral neuroepithelioma. Proc. Amer. Assoc. Cancer Res., 3, 604, 1992.
10. J. Dittner a A. Nordheim: ETS transcription factors and human disease. Biochimica Biophysica Acta, 1377, F1, 1988.
11. M. Peter, F. Mugneret, A. Aurias a kol.: An EWS/ERG fusion with a truncated N-terminal domain of EWS in Ewing's tumor. Int. J. Cancer, 67, 1996, 339.
12. J. Zucman, O. Delattre, C. Desmaret a kol.: EWS and ATF-1 gene fusion induced by t(12;21) translocation in malignant melanoma of soft parts. Nat. Genet., 4:341, 1993.
13. J. Ledonyi, W. Gerald: Fusion of the EWS and WT1 in the desmoplastic small round cell tumor. Canc. Res. 52, 2837, 1994.
14. F. Mertens, N. Mendache, F. Mitelman: Cytogenetic analysis in the examination of solid tumors in children. Ped. Hematol. Oncol., 11:361, 1994.
15. J. A. Rey, M. J. Bello, J. M. de Campo a kol.: Abnormalities of chromosome 22 in Human Brain Tumors Determined by Combined Cytogenetic and Molecular Genetic Approaches. Cancer Genet. Cytogenet., 66:1, 1993.
16. O. Delattre, J. Zucman, T. Melot a kol.: The Ewing family of tumors: A subgroup of small - round - cell tumors defined by specific chimeric transcripts. N. Engl. J. Med., 331, 294, 1994.
17. X. Mao, S. Miesfeld, H. Yang a kol.: The FLI-1 and chimeric EWS-FLI-1 oncoproteins display similar DNA Binding Specificities. J. Biol. Chemistry., 269, 199, 18216.
18. P. H. B. Sorensen, S. L. Lessnick, D. Lopez-Terrodá a kol.: A second Ewing's sarcoma translocation t(21;22) fuses the EWS gene to another ETS-family transcription factor, ERG. Nat. Genet., 6, 146, 1994.
19. S. Hon, J. M. Davis, B. S. Braun a kol.: A variant Ewing's sarcoma translocation t(7;22) fuses the gene ETS to the gene ETV-1. Oncogene 10:1229, 1995.
20. M. E. Horowitz, M. M. Malawer, S. Y. Woo a M. J. Hicks: Ewing's sarcoma of bone and soft tissue and the peripheral primitive neuroectodermal tumors. v P. A. Pizzo a D. G. Poplack eds. Principles and Practice of Pediatric Oncology. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1977.
21. Y. Kaneko, K. Yoshida, M. Handa a kol.: Fusion of an ETS-family gene, EIAF, to EWS by t(17;22)(q12;q24) chromosome translocation in an undifferentiated sarcoma of infancy. Genes Chromosomes Cancer, 15, 115, 1996.
22. D. Maurici, A. Perez-Atayde, H. E. Grier a kol.: Frequency and implications of Chromosome 8 and 11 gains in Ewing sarcoma. Cancer Genet. Cytogenet., 100, 106, 1998.
23. L. Trakhtenbrot, Y. Neumann, M. Mandel a kol.: In vitro proliferative advantage of bone marrow cells with tetrasomy 8 in Ewing sarcoma. Cancer. Genet. Cytogenet., 90, 176, 1996.
24. J. Zucman, T. Melot, C. Desmaret a kol.: Combinatorial generation of variable fusion proteins in the Ewing family of tumours. EMBO. J., 12, 4481, 1993.
25. M. Giovaninini, J. A. Bigel, M. Serra a kol.: EW-ERG and EWS-FLI-1 fusion transcripts in Ewing's sarcoma and neuroectodermal tumours with variant translocations. J. Clin. Invest., 94, 489, 1994.
26. A. Zoubek, B. Dockhorn Dworniczek, O. Delattre a kol.: Does expression of different EWS chimeric transcripts define clinically distinct risk groups of Ewing tumor patients. J. Clin. Oncol., 14, 1245, 1996.
27. E. de Alava, A. Kawai, J. H. Healey a kol.: EWS-FLI-1 fusion transcript structure an independent determinant of prognosis in Ewing's sarcoma. J. Clin. Oncol., 16, 1248, 1998.
28. McKeon, C. J. Thiele, R. A. Ross a kol.: Indistinguishable patterns of protooncogene expression in two distinct but closely related tumors: Ewing's sarcoma and neuroepithelioma. Cancer Res. 48: 4307, 1988.
29. L. R. Donner: Cytogenetics and molecular biology of small round-cell tumors and related neoplasms - current status. Cancer. Genet. Cytogenet., 64, 1, 1991.
30. C. J. Thiele, C. McKeon, T. J. Triche a kol.: Differential protooncogene expression characterizes histopathologically indistinguishable tumors of the peripheral nervous system. J. Clin. Invest., 80, 804, 1987.
31. R. Hamelin, J. Zucman, T. Melot a kol.: p53 mutations in human tumors with chimeric EWS/FLI-1 genes. Int. J. Cancer, 57, 336, 1994.
32. D. N. T. Aryee, T. Strobel, K. Kos a kol.: High nm 23-H1/NDPK-A expression in Ewing tumors: paradoxical immunohistochemical reactivity and lack of prognostic significance. Int. J. Cancer, 64, 104, 1995.
33. K. Michalová: Fluorescenční in situ hybridizace (FISH) v klinické cytogenetice. Čas. Lék. Čes., 134, 73, 1995.
34. M. J. Barch: The ACT Cytogenetics Laboratory Manual. Raven Press. New York, 1991.
35. P. Lelleri, G. G. Hermanson, J. H. Enbanks a kol.: Molecular localization of the t(11;22)(q24;q12) translocation of Ewing sarcoma by chromosomal in situ suppression hybridization. Proc. Natl. Assoc. Sci. USA. 88:887, 1991.
36. J. Thorer, J. Squire, S. Chilton-McNeill a kol.: Is the EWS-FLI-1 fusion transcript specific for Ewing sarcoma and peripheral primitive neuroectodermal tumor? Eng. J. Pathol., 148, 1125, 1996.
37. J. Piper, D. Rutovitz, D. Sudar a kol.: Computer image analysis of comparative genomic hybridization. Cytometry, 19, 10, 1995.
38. Pfeiderer, A. Zoubek, B. Gruber a kol.: Detection of tumour cells in peripheral blood and bone marrow from Ewing tumour patients by RT-PCR. Int. J. Cancer 64, 135, 1995.
39. J. R. Downing, D. R. Head, D. M. Parham a kol.: Detection of the (11;22)(q24;q12) translocation of Ewing's sarcoma and peripheral neuroectodermal tumor by reverse transcription polymerase chain reaction. Am. J. Pathol., 143, 1294, 1993.
40. J. R. Downing, A. Khondehor, S. A. Shortleff a kol.: Multiplex RT-PCR assay for differential diagnosis of alveolar rhabdomyosarcoma and Ewing's sarcoma. Am. J. Pathol., 146, 626, 1995.
41. V. S. Meier, T. Kuhna, G. Jundt, F. Gudat: Molecular diagnosis of Ewing tumors: improved detection of EWS-FLI-1 and EWS-ERG chimeric transcripts and rapid determination of exon combinations. Diagn. Mol. Pathol., 7, 29, 1998.
42. D. Schmidt, D. Harm a V. A. Pilon: Small-cell pediatric tumors: histology, immunohistochemistry, and electron microscopy. Clin. Lab. med., 7, 63, 1987.
43. C. Fagnou, J. Michon, M. Peter a kol.: Presence of tumor cells in bone marrow but not in blood is associated with adverse prognosis in patients with Ewing's tumor. J. Clin. Oncol., 16, 1707, 1998.
44. M. K. Brenner, D. R. Rill, R. C. Moen: Gene-marking to trace origin of relapse after autologous bone-marrow transplantation. Lancet, 341, 135, 1993.

POUŽITÍ PROGENITOROVÝCH BUNĚK Z PERIFERNÍ KRVE K PODPOŘE INTENZIVNÍ CYKlickÉ CHEMOTERAPIE U POKROČILÉHO KARCINOMU PRSU

THE USE OF WHOLE BLOOD RICH IN PBPC IN THE HAEMATOPOIETIC SUPPORT OF INTENSIVE CYCLIC CHEMOTHERAPY USED IN ADVANCED BREAST CANCER

MEDKOVÁ V.¹, FILIP S.¹, VAŇÁSEK J.¹, BLÁHA M.², MĚŘIČKA P.³, STRÁNSKÝ P.⁴

¹KLINIKA ONKOLOGIE A RADIOTERAPIE FN HRADEC KRÁLOVÉ

²ODDĚLENÍ KLINICKÉ HEMATOLOGIE FN HRADEC KRÁLOVÉ

³TKÁŇOVÁ ÚSTŘEDNA FN HRADEC KRÁLOVÉ

⁴KATEDRA BIOFYZIKY LÉKAŘSKÉ FAKULTY UK HRADEC KRÁLOVÉ

Souhrn: Přežití nemocných s pokročilým karcinomem prsu zůstává přes pokroky dosažené konvenční chemoterapií špatné. Intenzivní cyklická chemoterapie je jednou z možných cest k zlepšení terapeutické efektivity. Toxicita této léčby však vyžaduje další hledání optimální podpory reparace krvetvorby. V naší studii jsme hodnotili efektivitu podávání plné krve bohaté na PBPC a koncentrátů progenitorových buněk krvetvorby získaných pomocí leukaferézy. Bylo léčeno 29 žen s pokročilým karcinomem prsu, s průměrným věkem 46 let (rozmezí 26-58). Absolvovaly 6 cyklů chemoterapie (epirubicin 150 mg/m² a cyklofosfamid 1250 mg/m²) podaných ve čtrnáctidenních intervalech. V prvním cyklu jsme podávali G-CSF k mobilizaci PBPC (peripheral blood progenitor cell). Leukaferézy byly prováděny ve dnech 11, 12 a 13. Progenitorové buňky jsme po kryokonzervaci rozdělili na tři díly a podali po čtvrtém, pátém a šestém cyklu chemoterapie. Mobilizovaná plná krev byla odebrána ve dni 14 v prvním a druhém cyklu, uchována při 4 °C a aplikována za 48 hodin, t.j. 24 hodin po podání cytostatik. K leukopenii IV. stupně došlo v 72 % cyklů s podporou plnou krví a ve 49 % s podporou PBPC získaných leukaferézou. K trombocytopenii IV. stupně došlo u 29 % cyklů s podporou plnou krví a ve 12 % s podporou PBPC získaných leukaferézou. Po léčbě došlo k statisticky významnému snížení ejekční frakce levé komory, které přetrvávalo ještě po 3 měsících od terapie. Před léčbou byla průměrná hodnota 56 % (SD = 5,2) a po léčbě 52,1% (SD = 5,1). U žádné nemocné nedošlo ke klinickým projevům srdeční nedostatečnosti. Byla potvrzena dobrá efektivita i snášenlivost použité léčby. Je však třeba dále zlepšovat účinnost podpory hematopoiezy plnou krví bohatou na PBPC.

Klíčová slova: karcinom prsu, cyklická intenzivní chemoterapie, růstové faktory, plná krev bohatá na PBPC.

Summary: The survival of patients with advanced breast cancer remains poor in spite of the progress achieved by conventional chemotherapy. One of the possible ways to improve the therapeutic effectiveness is intensive cyclic chemotherapy. The toxicity of this treatment modality needs further investigation for optimal hematopoietic support. In our study, we evaluated the effectiveness of administration of whole blood rich in peripheral blood progenitor cells (PBPC) and cryopreserved PBPC harvested by leucapheresis. 29 women with advanced breast cancer were treated, average age 46 years (range 26-58). Six cycles of chemotherapy (epirubicin 150 mg/m² and cyclophosphamide 1250 mg/m² administered in 14 days intervals) were given. G-CSF for the attenuation of neutropenia and mobilisation of PBPC was used. Leucaphereses were practiced on days 11, 12 and 13. Harvested cells were divided after cryoconservation into three parts and were administered after 48 hours, 24 hours after application of cytostatics. Grade IV leukopenia was found in 72% of the whole blood support group and in 49% in the group in which PBPC was obtained by leucapheresis. Grade IV thrombocytopenia was found in 29% of cycles, in the whole blood support group and 12% with the support of PBPC obtained by leucapheresis. The disease free interval in two years is 70%. There was a statistically significant decrease of the ejection fraction of the left ventricle after treatment. This finding persisted in control examination three months after therapy. There was an average value of 56% (SD 5,2) before treatment and 52,1% (SD 5,1) after treatment. We observed no clinical symptoms of heart failure. Good tolerance of the treatment was confirmed. However, there is a need to attain the same effectiveness by the administration of whole blood as the administration of PBPC obtained by leucapheresis. Therefore, we are looking for better methods of mobilization and harvest.

Key words: breast cancer, cyclic intensive chemotherapy, growth factors, blood rich in PBPC

ÚVOD

Lokálně pokročilý nebo diseminovaný karcinom prsu zůstává závažným problémem pro dosud špatnou prognózu tohoto onemocnění. Samostatná radioterapie nebo operační léčba dosahuje jen malého počtu lokálních kontrol. U pokročilého primárního tumoru vzniká u 45% pacientek relaps do 18 měsíců, u inflamatorního ve 48% do 12 měsíců. Také přežití je špatné (medián menší než 3 roky u lokálně pokročilého a méně než 12 měsíců u inflamatorního) (1).

Zařazení systémové léčby (chemoterapie a hormonální terapie) zlepšilo prognózu ve srovnání se samotnou aktinoterapií a prodloužilo délku přežití, takže medián se pohybuje mezi 2-6 lety (2).

Přesto je při použití konvenční cytostatické léčby prognóza onemocnění špatná a hledají se možnosti jak výsledky léčby zlepšit. Jednou z cest je použití vyššího dávkování cytostatik. Z laboratorních prací je již dlouhou dobu prokázána závislost protinádorového účinku na dávkování cytostatik. Teprve v sou-

časné době se daří prokázat význam vyšší dávkové intenzity v léčbě karcinomu prsu i v klinické praxi (3,4).

Zdůvodněním snahy zvýšit intenzitu léčby zkrácením intervalů mezi kúrami je Nortonův model, který předpokládá akcelerovanou repopulaci nádorových buněk mezi cykly léčby (7).

Stále častěji se v klinické praxi využívá vysokodávkovaná chemoterapie s podpůrnou léčbou pomocí autologních progenitorových buněk získaných z kostní dřenež nebo z periferní krve (PBPC) (5). Podání PBPC umožňuje zvýšení dávkové intenzity chemoterapie jak při jednorázové, tak cyklické intenzivní chemoterapii (6).

Řada autorů poukazuje na to, že při podpůrné léčbě v průběhu vysokodávkované chemoterapie lze s úspěchem místo obvykle používaných kryokonzervovaných buněk získaných leukaferézou podat autologní plnou krev obohacenou o PBPC (8,9,10). Podstatou metody je odběr plné krve a uskladnění při teplotě 4°C po dobu 24-72 hodin. Tento postup redukuje cenu odběru PBPC (klasickým způsobem jsou PBPC odebírány na separátoru) a získaný koncentrát není nutno kryokonzervovat a proto není potřebné použít kryoprotektiva, která mohou být ve vyšších dávkách toxická (8, 10, 11). Problémem této metody je však dosažení takových výtěžků PBPC, které významně ovlivní reparaci krvetvorby. Zdokonalení techniky mobilizace PBPC pokročilo a v současné době jsme dosáhli zvýšení počtu CFU-GM a CD34+ buněk v periferní krvi na více než padesátinásobek normální klidové hodnoty (12). U některých pacientů lze docílit takového vzestupu PBPC v periferní krvi, že jejich počet ve 450-1000 ml krve odpovídá potřebné transplantační dávce (13). Optimální kombinace cytostatik a růstových faktorů však dosud nebyla určena (14,15).

V situaci, kdy jsou používány vyšší dávky cytostatik, než jsou konvenční, začíná se více projevovat vliv nehematologické, orgánové toxicity. Při použití vysokých dávek antracyklinů vzniká především riziko poškození srdce. Zatím je však k dispozici jen málo údajů o kardiotoxicitě intenzivní chemoterapie podporované PBPC (16). Předpokládáme, že v takovém režimu může hrát úlohu i toxicita dimethylsulfoxidu (DMSO), případně rozpadových produktů buněk.

Cílem našeho projektu bylo srovnání účinnosti plné krve oproti kryokonzervovaným PBPC získaným leukaferézou k podpoře reparace krvetvorby při intenzivní cyklické chemoterapii. Dále zhodnocení léčebné účinnosti a toxicity kombinace epirubicin + cyklofosfamid podávané ve čtrnáctidenních intervalech u nemocných s pokročilým karcinomem prsu.

SOUBOR NEMOCNÝCH A METODIKA:

Do studie bylo zařazeno 29 žen s karcinomem prsu podle následujících kritérií:

- věk pod 60 let
- ženy po mastektomii s více než 10 pozitivními axilárními uzlinami
- ženy po mastektomii s 5 a více pozitivními axilárními uzlinami a negativními estrogenovými receptory v maligních buňkách
- ženy s metastatickou chorobou bez postižení mozku, kostní dřenež a bez předchozí chemoterapie
- ženy s lokálně pokročilým karcinomem prsu včetně infiltrativního karcinomu.
- normální funkce srdce (hodnoceno klinickým vyšetřením, vyšetřením ejekční frakce levé komory scintigrafií a EKG), jaterní, ledvinné funkce, normální krevní obraz.
- stav nemocných podle klasifikace WHO 0 nebo 1.
- kontraindikacemi byly gravidita, jiné maligní onemocnění, závažná psychiatrická onemocnění
- u všech nemocných byl získán písemný informovaný souhlas s prováděnou léčbou.

Podle rozdělení do TNM klasifikace je 23 nemocných ve stádiu III a 6 ve stádiu IV. Průměrný věk nemocných byl 46 let v rozmezí 26-58. Po chirurgickém výkonu (modifikovaná radi-

kální mastectomie) bylo 15 pacientek. Rozdělení nemocných podle indikací je uvedeno v tabulce č. 1.

Chemoterapeutický režim

Všechny nemocné dostaly šest cyklů chemoterapie v kombinaci epirubicin 150 mg/m² a cyklofosfamid 1250 mg/m² ve dni 1 (EC). V prvním cyklu za 24 hodin po chemoterapii EC bylo zahájeno podávání G-CSF (Amgen Roche) v dávce 5-10 (μg/kg/den s.c. až do doby ukončení odběrů na separátoru a plné krve. V ostatních cyklech byl G-CSF podáván od sedmého dne po chemoterapii. Ve dnech 11, 12 a 13 po prvním cyklu byly prováděny leukaferézy. Progenitorové buňky získané leukaferézami byly rozděleny do několika vaků, kryokonzervovány, rozděleny na tři přibližně shodné díly a podávány nemocným po čtvrtém, pátém a šestém cyklu chemoterapie.

Plná krev bohatá na PBPC byla odebírána ve dni 14 v prvním a druhém cyklu. Mobilizovanou plnou krev jsme reinfundovali vždy za 24 hodin po podání cytostatik, tj. 48 hodin po odběru.

Metodika odběru PBPC

Leukaferézy jsme prováděli v průběhu podávání G-CSF pomocí automatického separátoru COBE Spectra (Lakewood, Co, USA) s následujícími parametry: 10 000-12 000 ml krve při jedné separaci, průtok 60-70 ml/min. PBPC byly kryokonzervovány s dimethylsulfoxidem (DMSO) v stabilizačním roztoku obsahujícím dextran, sacharosu, dextrosu a antikoagulans. Lidský sérový albumin je přidáván do finální koncentrace 1%. Produkt je zmrazován v programovatelném přístroji Kryo-10 (Planer Biomed, Sunbury on Thames, UK) s kontrolovanou rychlostí zmrazování (-1 °C/min do -90 °C, -5 °C/min do -150 °C). PBPC byly skladovány v tekutém dusíku při -196 °C. Rozmrazování jsme prováděli ve vodní lázni při 37 °C a suspenze byla přímo aplikována z vaku do centrálního venozního katetru bez odstranění kryoprotektiva.

Metodika odběru plné krve bohaté na PBPC

Plná krev byla odebrána 14. den do standardních vaků pro odběry krve (Japan Medical Supply, Singapore) obsahujících 50 ml CPDA roztoku jako antikoagulans. Celkový objem odebrané krve byl 450 ml. Vaky byly uloženy v chladničce v Tkáňové bance při 4 °C po dva dny a aplikovány po dalším cyklu chemoterapie.

Průtoková cytometrie a stanovení koloniformních jednotek
Mononukleáry s expresí CD34+ povrchových membránových antigenů byly kvantifikovány průtokovou cytometrií s použitím Con IgG ±FITC protilátky a CD34 + FITC-konjugované 8G12 protilátky (HPCA-2 FITC, Becton Dickinson, Mountain View, CA, USA). Analýza byla provedena s použitím FACScanneru (Becton Dickinson) po lýze erytrocytů. Minimální počet testovaných buněk byl 10 000.

Počet hematopoetických progenitorových buněk byl stanoven pomocí kultivace CFU-GM. Izolované purifikované mononukleáry byly inokulovány v koncentraci 2x10⁵/ml. Bylo použito 20% Iscovem modifikované Dubelccovo médium suplementované 10% bovinním sérovým albuminem, 20% fetálním telecím sérem, 100 μg 3% glutaminu, 100 μg penicilinu + streptomycinu, 135 l 7,5% NaHCO₃, 10 ng/ml rekombinantního GM-CSF a 0,9% metylcelulosa. Roztok v množství 1 ml byl aplikován na Petriho misky o průměru 35 mm a inkubován po

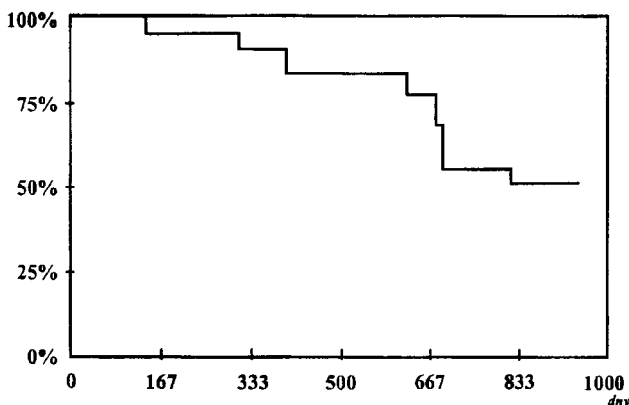
Tab. č. 1
Rozdělení nemocných podle indikací

více než 10 axilárních uzlin	12
více než 5 axilárních uzlin (negat. receptory)	3
diseminace onemocnění	6
inoperabilní tumor	8

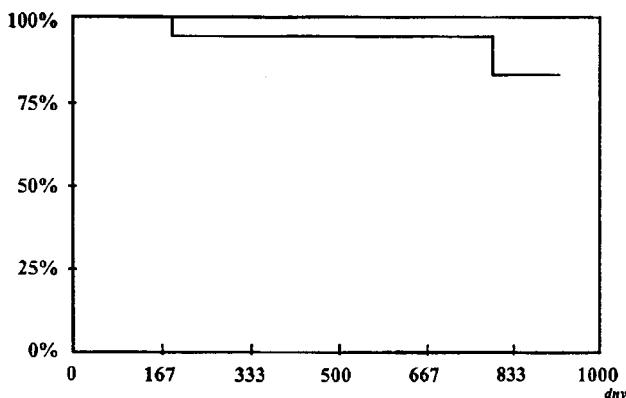
Tab. č. 2.
Stupeň leukopenie a trombocytopenie

leukopenie	plná krev	PBPC ze separátoru
III. stupeň	28 %	51 %
IV. stupeň	72 %	49 %
trombopenie		
III. stupeň	21 %	12 %
IV. stupeň	29 %	11 %

Graf č. 1.
Přežití bez známek choroby



Graf č. 2.
Celkové přežití



14 dní při 37 °C v atmosféře s 5% CO₂ a 100% vlhkosti. Jako kolonie byly počítány agregáty více než 40 buněk pomocí inverzního mikroskopu Olympus OSP-2.

Vyšetření ejekční frakce levé komory srdeční

Vyšetření bylo provedeno před aplikací chemoterapie, po třetím a šestém cyklu a s odstupem 3 měsíců po ukončení terapie. K vyšetření byla použita gamakamera Apex SPX Helix (Elsint, Israel) s kolimátorem HPC 35 v modifikované levé šikmé projekci s bočním sklonem detektoru 40° a se sklonem kraniokaudálním 10° (MALO projekce). Před vyšetřením jsme blokovali akumulaci volného pertechnátu ve štítné žláze aplikací chlorigenu. Nemocným byl nitrožilně aplikován Sn-pyrofosfát v dávce 15 µg. Za 20 minut následovala nitrožilní aplikace 800 Mbq ⁹⁹Tc, změna objemu krve v srdečních komorách byla zaznamenána v průběhu 600 srdečních cyklů.

Statistické zhodnocení výsledků jsme provedli pomocí párového T-testu statistickým programem SOLO.

VÝSLEDKY:

Výtěžky PBPC:

Odběry PBPC jsme zahajovali, jakmile došlo k výraznému vzestupu leukocytů, obvykle ve dni 11 cyklu. Počet leukaferezů byl 3 nebo 4 a maximálních výtěžků jsme dosahovali ve dni 13., kdy došlo v průměru k padesátinásobnému zvýšení CFU-GM v periferní krvi oproti vstupním hodnotám. Průměrný výtěžek CD34+ buněk na jednu leukaferezu byl 2,6x10⁶/kg (rozmezí 0,36-10,54) a průměrný počet CFU-GM dosáhl 1,8x10⁵/kg (rozmezí 0,89-4,20).

Plná krev bohatá na PBPC byla odebírána ve dni 14 s průměrným výtěžkem CD 34+ buněk 1,8x10⁶/kg (rozmezí 0,18-2,66) a výtěžek CFU-GM byl 0,9x10⁵/kg (rozmezí 0,05-1,72).

Reparace hematopoey:

Stupně leukopenie a trombocytopenie u cyklů chemoterapie s podporou plnou krví oproti podpoře kryokonzervovanými PBPC jsou uvedeny v tabulce č.2. Z tabulky vyplývá, že ve skupině s plnou krví byl výskyt leukopenie IV. stupně 1,82 krát vyšší a trombocytopenie IV. stupně dokonce 2,64 krát vyšší než u cyklů s podporou kryokonzervovanými PBPC. To odpovídá skutečnosti, že počet podaných CD34+ buněk a CFU-GM při jedné aplikaci byl v kryokonzervátech téměř dvojnásobný. Při léčbě plnou krví připadlo na jeden cyklus 0,9 transfuze, při léčbě PBPC ze separátoru 0,74 transfuze.

Terapeutická odpověď:

Chemoterapie byla podána 14 nemocným s měřitelnou chorobou. V této skupině došlo k úplnému vymizení nálezu nebo regresi o více než 3/4 u 71% a regresi méně než 3/4 a více než 1/2 u 29%. U jedné pacientky, kde byla chemoterapie podána adjuvantně, došlo v průběhu léčby k progresi jaterních metastáz. Z celého souboru nemocných došlo k relapsu onemocnění u 7 žen. Přežití bez známek choroby ve 2 letech je 70%, křivka přežití bez známek choroby je na obr. č. 1. Celkové přežití nemocných v souboru je na obr. č. 2.

Komplikace léčby:

- infekční a hematologické

Závažné infekční komplikace jsme pozorovali u tří nemocných. Jednou šlo o mykotickou sepsi vyvolanou *Candidou tropicalis*, ve dvou případech o bakteriální sepsi, jejímž zdrojem byl portkatetr.

Nepozorovali jsme dosud vznik pozdních hematologických následků typu myelodysplastického syndromu nebo akutní leukémie.

- kardiologické

V průběhu cytostatické léčby vznikly u 4 pacientek arytmie (časově omezený výskyt polytopních komorových extrasystol) a u jedné perikardiální výpotek bez nutnosti punkce. Tyto změny byly reverzibilní. Průměrná hodnota ejekční frakce levé komory srdeční před léčbou byla 56% (SD 5.2) po 3. cyklu byla 55.3% (SD 7.3), po šestém 52.1% (SD 5.1) a po 3 měsících od léčby 52.5% (SD 6.4). Statisticky významný rozdíl hodnocený párovým T-testem byl mezi vstupní hodnotou EF a kontrolou po šestém cyklu ($p = 0,0026$), vstupní hodnotou a kontrolou po 3 měsících od léčby ($p = 0,042$) i mezi kontrolou po 3. a 6. cyklu ($p = 0,014$). Rozdíly ejekčních frakcí mezi vstupní hodnotou a kontrolou po 3. cyklu a mezi šestým cyklem a kontrolou po 3 měsících nebyly statisticky významné. U žádné nemocné jsme nepozorovali klinické projevy srdeční nedostatečnosti.

- další komplikace

U všech pacientek vznikla úplná alopecie, mírná mukozitida (1-2 stupně podle klasifikace WHO) a nauzea. U více než poloviny cyklů došlo ke zvracení, bylo však zvládnutelné ondasetronem a netrvalo déle než 24 hodin. V průběhu léčby nedošlo k úmrtí spojenému s cytostatickou terapií.

DISKUSE

Cílem naší studie bylo zjistit vhodnost podpory krvetvorby pomocí kombinace autologní plné krve bohaté na PBPC a G-CSF v průběhu intenzivní cyklické chemoterapie prováděné kombinací epirubicin a cyklofosfamid.

Koncepce cyklické intenzivní chemoterapie vychází z toho, že jedna kúra chemoterapie většinou není ani při vysoké účinnosti dostatečně efektivní k eradikaci maligního onemocnění, a to ani u velmi senzitivních tumorů (17). U konvenční chemoterapie je více cyklů účinnějších než jeden, takže cyklická terapie je při konvenčním dávkování standardním postupem a je u chemosenzitivních malignit potenciálně kurativní i v případě některých diseminovaných nádorových onemocnění (18).

V adjuvantním podání pak lze docílit zlepšení přežití i u méně senzitivních nádorů jako jsou i tumory prsu (19). Je proto možné předpokládat, že více cyklů intenzivní chemoterapie bude účinnější než jeden, respektive intenzivní cyklická chemoterapie může být účinnější než konvenční.

Intenzivní chemoterapeutické režimy testované v léčbě karcinomu prsu obvykle obsahují antracykliny a cyklofosfamid, protože vysoká účinnost těchto cytostatik je ověřena.

V prospektivní randomizované studii byla prokázána závislost efektu na dávce a dávkové intenzitě při konvenční chemoterapii. Dále bylo prokázáno, že při ekvimolární koncentraci má epirubicin stejnou účinnost a nižší toxicitu než doxorubicin a je tedy vhodným cytostatikem pro intenzivní režimy (20,21). Proto proběhla řada studií testujících účinnost kombinace epirubicin + cyklofosfamid s podporou růstovým faktory nebo PBPC. Byl prokázán vysoký počet odpovědí, není však jasné, zda takto pojatá léčba zlepšuje dlouhodobé přežití (22,23,24). Účinnost této kombinace byla zjištěna i v našem souboru, kde odpověděly na léčbu všechny nemocné s měřitelnou chorobou a k progresi v průběhu terapie došlo v jediném případě.

Podpora hematopoézy v průběhu intenzivní cytostatické léčby může být prováděna pomocí růstových faktorů nebo podáním progenitorových buněk z kostní dřeně nebo periferní krve. Hansen a spol. prokázali v prospektivní randomizované studii signifikantní zkrácení neutropenie pomocí aplikace GM-CSF po chemoterapii kombinací epirubicin (130 mg/m²) a cyklofosfamid (2,5 g/m²) ve 28 denních intervalech (22). Použití G-CSF testovali Takashima a spol. a prokázali zkrácení neutropenie po chemoterapii kombinací epirubicin (130 mg/m²) + cyklofosfamid (1000 mg/m²) podávané ve třítydenních intervalech (23).

Výsledky řady studií potvrzují možnost dosáhnout pomocí aplikace PBPC dalšího zvýšení dávek cytostatik, respektive zkrácení intervalů mezi cykly (24).

Podání kryokonzervovaných PBPC získaných pomocí leukaferéz však s sebou přináší další náklady a riziko toxicity spojené s opakovaným podáním kryoprotektiv. Použití plné krve bohaté na PBPC po mobilizaci růstovými faktory je jednou z perspektivních možností, jak snížit cenu i toxicitu intenzivní cyklické chemoterapie. Petengellová a spol. prokázali stejnou efektivitu tohoto postupu, jakou má podání produktů získaných leukaferézou za použití kombinace ifosfamid, karboplatina, etoposid + G-CSF. Na druhé straně však existují práce, které při srovnání podpory hematopoézy plnou krví nebo G-CSF neprokazují významný rozdíl (25).

Důvodem může být řada problémů, které jsou s použitím plné krve bohaté na PBPC spojené. Především není znám minimální počet CFU-GM/kg tělesné hmotnosti potřebný pro zkrácení období leukopenie při použití nemyeloablativní chemoterapie. Při podpoře reparace krvetvorby pomocí PBPC získaných leukaferézou je obvykle podáváno množství CD 34+ buněk respektive CFU-GM, které přesahuje hranici potřebnou i pro myeloablativní chemoterapii (24). Při použití plné krve jsme v řadě případů získali jen relativně malé množství progenito-

rů a reparace krvetvorby byla v průměru ve srovnání s cykly s podporou PBPC získanými leukaferézou horší. Proč při některých cyklech byly výtěžky menší je obtížné jednoznačně stanovit. Rozdíly v reparaci krvetvorby po chemoterapii mohou být ovlivněny integritou mikroprostředí kostní dřeně, endogenní produkcí cytokinů a případně dalšími vlivy (26,27). V experimentu byly zjištěny až desetinásobné rozdíly odpovědi na GM-CSF u syngenních myší (28). U nemocných s karcinomem prsu s normocelulární kostní dřeně je popsán dvánásobný rozdíl výtěžků leukaferéz mezi nemocnými (24). Jednou z nezodpovězených otázek při mobilizaci je vliv předchozího podání růstového faktoru na proliferativní aktivitu progenitorů v kostní dřeně nemocného a tím zvýšení toxicity následujícího cyklu chemoterapie. Danova a spol. stejně jako De Wit zjistili vyšší riziko poškození kostní dřeně po podání cytostatik v krátkém odstupu několika dní od ukončení aplikace G-CSF (29,30).

Při intenzivní chemoterapii stoupá význam nehematologické toxicity. S podáváním antracyklinů je spojeno především riziko kardiotoxicity. V našem souboru jsme zjistili signifikantní snížení ejekční frakce levé komory v průběhu cyklické chemoterapie, u žádných nemocných však nedošlo ke klinickým projevům středního selhávání. Toto pozorování je ve shodě s literárními údaji (31). Srdeční selhání se sice může objevit i po několika letech, avšak obvykle vzniká v průběhu terapie nebo za 4-8 týdnů po jejím ukončení. Nepředpokládáme proto, že by se v budoucnu objevilo další významné zhoršení funkce myokardu. Je pravděpodobné, že kardiotoxicita závisí především na kumulativní dávce cytostatik a je málo závislá na množství léku při jednotlivé aplikaci (32).

Intenzivní cyklická chemoterapie s podporou plné krve bohaté na PBPC je i přes některé obtíže nadějnou možností, jak docílit zvýšení účinnosti chemoterapie při minimální toxicitě a ceně. Největším problémem jsou rozdílné a někdy i nízké výtěžky, které mohou být málo účinné pro rychlou reparaci krvetvorby. Řešení předpokládáme nalézt v odběru většího množství plné krve, které provádějí jiní autoři (9).

Zlepšení výsledků odběrů PBPC a zvýšení protinádorového účinku léčby je v současnosti hledáno testováním kombinací růstových faktorů a cytostatik vysoce efektivních v protinádorové léčbě, jako jsou paclitaxel, antracykliny a etoposid (13).

ZÁVĚR

Intenzivní cyklická chemoterapie v léčbě karcinomu prsu je jednou ze slibných možností, jak dosáhnout zvýšení terapeutické účinnosti. Výsledky studie potvrdily údaje o možnosti dosáhnout vysokého počtu odpovědí. Léčba je spojena s vysokým počtem leuko a trombocytopenií, avšak závažné infekční komplikace jsme pozorovali jen tři. Vysoká dávka antracyklinových cytostatik vedla k signifikantnímu snížení ejekční frakce levé komory, ne však ke klinickým projevům srdeční nedostatečnosti. Průměrná hodnota EF před léčbou byla 56% (SD 5.2), při kontrole za 3 měsíce od ukončení terapie 52.5% (SD 6.4). Jako další, méně významné komplikace vznikají alopecie, mukozitida, nauzea a zvracení.

Kombinace epirubicinu (150 mg/m²) cyklofosfamid (1250 mg/m²) ve dni 1 následovaná za 24 hodin podáváním G-CSF (5-10 µg/m²) po 13 dní dosáhla ve dni 13 padesátinásobného zvýšení CFU-GM v periferní krvi. Průměrný výtěžek CD34+ buněk na jednu leukaferézu byl 2,6x10⁶/kg (rozmezí 0,36-10,54) a průměrný počet CFU-GM dosáhl 1,8x10⁵/kg (rozmezí 0,89-4,20). Ve 450 ml plné krve byly výtěžky CD 34+ buněk 1,8x10⁶/kg (rozmezí 0,18-2,66) a CFU-GM 0,9x10⁵/kg (rozmezí 0,05-1,72), což není dostatečné k optimální reparaci krvetvorby. Zvýšení počtu progenitorů chceme docílit zvětšením objemu odebrané krve a modifikací mobilizačního režimu.

Literatura

1. Zucali, R., Uslenghi, C., Kenda, R., Bonadonna, G.: Natural history and survival of inoperable breast cancer treated with radiotherapy and followed by radical mastectomy. *Cancer*, 37, p. 1422-1431, 1976.
2. Kantarjian, H.M., Hortobagay, G.N., Smith, T.L. et al.: The management of locally advanced breast cancer: a combined modality approach. *Am.J.Clin.Oncol.*, 8, p. 134-141, 1985.
3. Bonadonna, G., Valagussa, P.: Dose-response effect of adjuvant chemotherapy in breast cancer. *N. Engl. J. Med.*, 304, p. 10-15, 1981.
4. Wood, W.C., Budman, D.R., Korzun, A.H. et al.: Dose and dose intensity of adjuvant chemotherapy for stage II_a, node positive breast carcinoma. *N. Engl. J. Med.*, 18, p. 1253-1266, 1994.
5. Antman, K., Armitage, J.O., Horowitz, M.M.: Autotransplants for breast cancer in North America. *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.*, 1994, 13: 69-72.
6. Fenelly, D., Vahdat, L., Schneider, J. et al.: High-intensity chemotherapy with peripheral blood progenitor cells support. *Semin. Oncol.*, 1994, 21:21-25.
7. Norton, L., Simon, R.: The Norton-Simon hypothesis revisited. *Cancer Treat. Rep.*, 1986, 70: 163-169.
8. Pettengell, R., Wohl, P.J., Thatcher, N., et al.: Multicyclic dose-intensive chemotherapy supported by sequential reinfusion of hematopoietic progenitors in whole blood. *J. Clin. Oncol.*, 1995, 13:148-156.
9. Ossenkoppele, G.J., Jonkhoff, A.R., Huijgens, P.C., Nauta, J.P., Van der Hem, K.G., Drager, A.M., Langenhuijsen, M.A.C.: Peripheral blood progenitors mobilized by G-CSF (Filgrastim) and reinfused as unprocessed autologous whole blood shorten the pancytopenic period following high-dose malphalan in multiple myeloma. *Bone Marrow Transplant.*, 1994, 13:37-41.
10. Vaňásek, J., Filip, S., Medková, V., Bláha, M., Měřička, P., Volenec K.: Mobilization of peripheral blood progenitor cells (PBPC) through a combination of chemotherapy and G-CSF in breast cancer patients and possibility of unprocessed whole blood collection. *Bone Marrow Transplant.*, 1998, 21: 123-126.
11. Bláha, M., Filip, S., Měřička, P. et al.: Peripheral stem cell concentrates for transplantation-our technical and clinical experience. In: *Tromboza a hemostáza*, 1995, Praha, Galén:91.
12. Pettengell, R., Demuynck, H., Testa, N.G., Dexter, T.M.: The engraftment capacity of peripheral progenitor cells (PBPC) mobilized with chemotherapy ± G-CSF. *Int. J. Cell Cloning*, 1992,10: 59-61.
13. Demirer, T., Besinger, W.I.: Optimization of peripheral blood stem cells collection. *Curr. Opin. Hematol.*, 1995, 2:219-226.
14. Sutherland, H.J., Eaves, C.J., Lansdorp, P.M., Phillips, G.L., Hogge, D.E.: Kinetics of committed and primitive blood progenitor mobilization after chemotherapy and growth factor treatment and their use in autotransplants. *Blood*, 1994, 83: 3808-3814.
15. Haas, R., Ho, A.D., Bredthauer, U. et al.: Successful autologous transplantation of blood stem cells mobilized with recombinant human granulocyte-macrophage colony stimulating factors. *Exp. Hematol.*, 1990,18:94-98.
16. De Graaf, H., Dolsma, W.V., Williemse, P.H.B. et al.: Cardiotoxicity from intensive chemotherapy combined with radiotherapy in breast cancer. *Brit. J. of Cancer*, 1997, 76:943-945.
17. Crown, J., Norton, L.: Potential strategies for improving the results of high-dose chemotherapy in patients with metastatic breast cancer. *Ann. Oncol.*, 1995, 6 (Suppl 4):s21-s26.
18. de Vita, V.T., Serpick, A.A., Carbone, P.P.: Combination chemotherapy in the treatment of advanced Hodgkins Disease. *Ann. Intern. Med.*, 1970, 73:891-895.
19. Bonadonna, G.: Conceptual and practical advances in the management of breast cancer. *J. Clin. Oncol.*, 1989, 7: 1380-1397.
20. Focan, C., Andrien, J.M., Clison, M.T., et al.: Dose-response relationship of epirubicin-based first line chemotherapy for advanced breast cancer: a prospective randomized trial. *J. Clin. Oncol.*, 1993,11:1253-1263.
21. Gasparini, G., Fior, S.D., Panizzoni, G.A. et al.: Weekly epirubicin versus doxorubicin as second line therapy in advanced breast cancer. *Am. J. Clin. Oncol.*, 1991, 14:38-44.
22. Hansen, F., Stenbygaard, L., Skvosgaard, T. et al.: Effect of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) on hematologic toxicity induced by high-dose chemotherapy in patients with metastatic breast cancer. *Acta Oncol.*, 1995, 354:919-924.
23. Takashima, S., Saeki, T., Adachi, I. et al.: A phase II study of high-dose epirubicin (EPI) plus cyclophosphamide (CPA) with G-CSF for breast cancer patients with visceral metastases or hormone-independent tumors: a trial of the Japan clinical oncology group. *Jpn. J. Clin. Oncol.*, 1997, 27(5):325-330.
24. Basser, R.L., To, L.B., Begley, C.G. et al.: Adjuvant treatment of high-risk breast cancer using multicycle high-dose chemotherapy and filgrastim-mobilized peripheral blood progenitor cells. *Clin. Cancer Res.*, 1995, 1:715-721.
25. De Wit, R., Kruit, W.H.J., Lamers, C.H.J. et al.: A phase I/II study of multicyclic dose-intensive chemotherapy supported with G-CSF, or G-CSF and hematopoietic progenitor cells in whole blood, in two consecutive cohorts of patients. *Br. J. Cancer*, 1998,77(12): 2363-2366.
26. Greenberger, J.S.: Toxic effects on the hematopoietic microenvironment. *Exp. Hematol.*, 1991, 19:10 109.
27. Haas, R., Gericke, G., Witt, B. et al.: Increased serum levels of granulocyte colony-stimulating factor after autologous bone marrow or blood stem cell transplantation. *Exp. Hematol.*, 1993,21:109-113.
28. Metcalf, D., Begley, C.G., Williamson, D.J. et al.: Hemopoietic responses in mice injected with purified recombinant murine GM-CSF. *Exp. Hematol.*, 1987, 15:1-9.
29. Danova, M., Rosti, V., Mazzini, G. et al.: Cell kinetics of CD-34 positive hematopoietic cells following chemotherapy plus colony-stimulating factors in advanced breast cancer. *Int. J. Cancer*, 1995, 63:646-651.
30. De Wit, R., Verweij, J., Bontenbal, M. et al.: Adverse effect on bone marrow protection of prechemotherapy granulocyte-colony stimulating factor support. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1996, 88:1393-1398.
31. Shepherd, F.A., Feld, R., Blackstein, M. et al.: Administration of high-dose bolus epirubicin is not associated with increased cardiotoxicity. *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.*, 1989, 8:335.
32. Basser, R.L., Green, M.D.: Strategies for prevention of anthracycline cardiotoxicity. *Cancer Treat. Rev.*, 1993, 19:57-77.

Projekt byl podpořen grantem IGA MZ ČR č. 9347.

HODNOTY SÉROVÉ THYRIDINKINÁZY U NEMOCNÝCH S NEHODGKINSKÝMI LYMFOMY

SERUM THYRIDINE KINASE VALUES IN PATIENTS WITH NONHODGKIN'S LYMPHOMAS

NEKULOVÁ M.¹, NĚMEC J.¹, ŠIMÍČKOVÁ M.¹, PECEN L.², BEDNAŘÍK O.¹, KOVÁŘOVÁ M.¹

¹ MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV, BRNO

² ÚIVT AV ČR, PRAHA

Souhrn: *Východiska:* Thymidinkináza (TK) katalyzuje fosforylaci thymidinu za přítomnosti adenosin trifosfátu na thymidinmonofosfát, který je transformován na trifosfát a inkorporován do DNA. Je označován za enzym "záchranné cesty" syntézy DNA. Sérové hodnoty TK jsou považovány za parametr buněčné proliferace. U pacientů s nehodgkinskými lymfomy (NHL) patří k markerům sledovaným vzhledem k relapsu choroby i posouzení efektu terapie. *Typ studie a soubor:* TK jsme vyšetřovali v souboru 39 nemocných s NHL při první diagnóze choroby ke zjištění vztahu iniciální sérové hladiny TK ke klinickému stadiu, histologickému typu i přítomnosti B symptomů, abychom mohli posoudit tento proliferativní marker jako případný prognostický faktor. *Metody a výsledky:* Ke stanovení TK v séru byla použita souprava pro radioenzymatické stanovení fy Immunotech, CR. Ke statistickému vyhodnocení jsme použili metodu analýzy rozptylu (ANOVA) a další metody, pomocí kterých se neprokázal vztah TK k histologickému typu nádoru ani přítomnosti B symptomů, ale byl patrný vztah ke klinickému stadiu ($p < 0.086$). *Závěry:* Prokázali jsme korelaci mezi zvýšenou hladinou sérové TK u nemocných před zahájením terapie NHL a pokročilejším klinickým stadiem choroby.

Klíčová slova: sérová thymidinkináza, nehodgkinské lymfomy

Summary: *Background:* Thymidine kinase (TK) catalyses the phosphorylation of thymidine to thymidine monophosphate (TMP) in the presence of adenosine triphosphate. TMP is transformed to triphosphate and then is incorporated into DNA. TK has thus been designated as a salvage enzyme of DNA synthesis. TK values in serum are considered to be a marker of cell proliferation. Patients with nonHodgkin's lymphomas are routinely monitored by serum TK to evaluate the therapeutic effect or in effort to detect disease progression. *Design and Subjects:* TK serum values were examined in 39 patients with recently determined diagnosis of nonHodgkin(s) lymphoma to ascertain the correlation between initial level of serum TK and clinical stage of disease, histological type and presence of B symptoms. *Methods and Results:* TK levels in serum were assayed by radioenzymatic method (Immunotech, CR). For statistic evaluation, the method of variance analysis for variable pretreatment serum TK levels classified by clinical stage or by other parameters was used. The method did not identify any correlation between the initial serum TK values and histological type or presence of B symptoms, but the relationship to the clinical stage of disease was evident ($p < 0.086$). *Conclusions:* We found a correlation of elevated pretreatment serum level of thymidine kinase in patients with nonHodgkin(s) lymphoma and advanced clinical stage of disease.

Key words: serum thymidine kinase, nonHodgkin(s) lymphomas

Úvod

U nemocných se systémovými nádorovými chorobami se z nádorových sérových markerů vyšetřují hodnoty beta-2-mikroglobulinu (B2M), thymidinkinázy (TK) a ferritinu. Tyto markery se stanovují jak před zahájením terapie, kdy mohou mít prognostický význam vzhledem k přežití, tak pro monitorování průběhu choroby i efektu terapie. U nehodgkinských lymfomů (NHL) bývají zvýšené hodnoty TK a B2M některými autory popisovány zejména u vyšších klinických stadií. Kausitz (1) našel zvýšené hodnoty TK zvláště u méně diferencovaných forem onemocnění.

Cíl práce

Hladiny sérové TK jsme vyšetřovali u nemocných s NHL před zahájením terapie, abychom mohli posoudit případnou korelaci tohoto parametru s klinickým stadiem choroby, přítomností B symptomů a typem malignity (nízká versus střední a vysoká).

Tato práce si všimá pouze iniciální hodnoty sérové TK jako možného prognostického parametru, ne sledování TK v průběhu choroby. Hodnoty TK při stanovení diagnózy hodnotíme v korelaci s dalšími uvedenými klinickými parametry.

Soubor nemocných a metodika

V souboru 39 nemocných (průměrný věk = 53 let, 21 mužů, 18 žen) byli nemocní ve všech klinických stadiích choroby, nízké, střední a vysoké malignity. Jejich rozložení vzhledem k iniciální hodnotě TK uvádí Tab. č. 1a, b.

Ke stanovení TK v séru byla použita souprava pro radioenzymatické stanovení fy Immunotech. Stanovení je založeno na přeměně jodem značeného substrátu 5-deoxyuridinu thymidinkinázou obsaženou ve vzorcích na 5-joddeoxyuridin monofosfát. Diskriminační hranice normálních a patologických hodnot je do 9 U/l.

Ke statistickému vyhodnocení jsme použili metodu analýzy rozptylu (ANOVA) a další běžné metody.

Výsledky

U 17 nemocných s čerstvě stanovenou diagnózou NHL jsme nenalezli zvýšenou hodnotu sérové TK (Tab 1b). U 22 nemocných byla iniciální hodnota TK zvýšená (Tab 1a). Rozložení těchto hodnot TK ve vztahu k typu malignity a klinickému stadiu uvádí také obr.č.2 (korelace iniciálních hodnot TK a klinického stadia choroby) i histogramy na obr. č.1 (histogramy četností iniciálních hladin TK dle klinického stadia a typu

Tab. 1a

Zvýšené iniciační hodnoty TK vzhledem ke klinickému stádiu a typu malignity

pacient číslo	histologie	klinické stádium	iniciační TK (U/l)
1	níz. mal.	IV A	19,9
2	níz. mal.	IV A	14,5
3	níz. mal.	IV A	38,1
4	níz. mal.	IV B	30,2
5	níz. mal.	IV B	18,9
6	níz. mal.	II A	20,8
7	níz. mal.	II A	26,3
8	níz. mal.	II B	9,6
9	níz. mal.	I A	14,2
10	níz. mal.	I A	10,8
11	stř. a vys.	IV A	68,3
12	stř. a vys.	IV A	34,2
13	stř. a vys.	IV A	10,3
14	stř. a vys.	IV A	9,6
15	stř. a vys.	IV B	41,8
16	stř. a vys.	IV B	38,1
17	stř. a vys.	III B	39,1
18	stř. a vys.	II A	12,1
19	stř. a vys.	II A	21,4
20	stř. a vys.	II B	9,8
21	stř. a vys.	II B	10,2
22	stř. a vys.	I A	11,3

Tab. 1b

Nezvýšené iniciační hodnoty TK vzhledem ke klinickému stádiu a typu malignity

pacient číslo	histologie	klinické stádium	iniciační TK (U/l)
23	níz. mal.	III A	3,4
24	níz. mal.	III A	6,9
25	níz. mal.	II A	3,2
26	níz. mal.	II A	8,6
27	níz. mal.	I A	1,8
28	níz. mal.	IV B	3,4
29	stř. a vys.	IV B	2,8
30	stř. a vys.	IV B	6,9
31	stř. a vys.	IV A	2,4
32	stř. a vys.	III A	4,6
33	stř. a vys.	III B	8,7
34	stř. a vys.	III B	5,8
35	stř. a vys.	II A	6,4
36	stř. a vys.	II A	1,9
37	stř. a vys.	II A	8,4
38	stř. a vys.	I A	5,8
39	stř. a vys.	I A	6,9

Tab. 2

Iniciační hodnoty TK podle klinického stadia metodou ANOVA

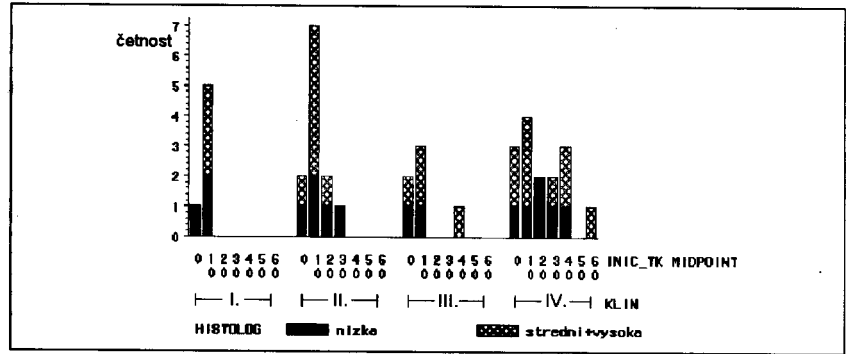
Stádium	N	Průměr	mezi skupinami	uvnitř skupin
I.	6	8.4666667	447.945756	188.741148
II.	12	11.4166667		
III.	6	11.4166667	F = 2.373	p < 0.086
IV.	15	22.6266667	blíží se hraniční významnosti	

malignity). Z těchto 22 nemocných mělo 9 přítomny B symptomy. Nepodařilo se prokázat žádný vztah iniciační hodnoty sérové TK k B symptomům ani typu malignity. Tab.č.2 hodnotí průměrné hodnoty TK v jednotlivých podskupinách i mezi nimi metodou analýzy rozptylu (ANOVA) u jednotlivých klinických stadií choroby a rozptyl se blíží hraniční významnosti ($p < 0.086$).

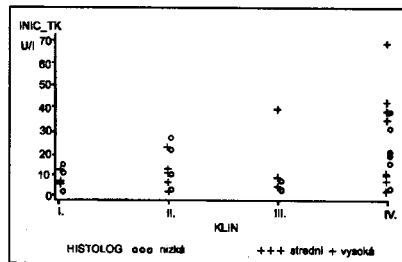
Diskuse

Za normálního stavu buňky probíhá biosyntéza thymidinmonofosfátu (TMP), který je klíčovým meziproductem v syntéze DNK, hlavní cestou, t.j. syntézou de novo pomocí thymi-

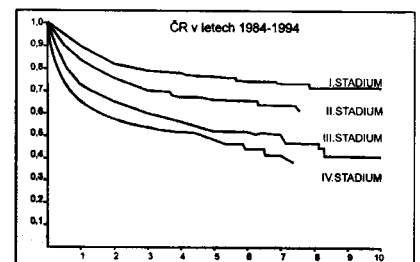
Obr. 1. Histogramy četností iniciačních hladin TK podle klinického stadia a typu malignity



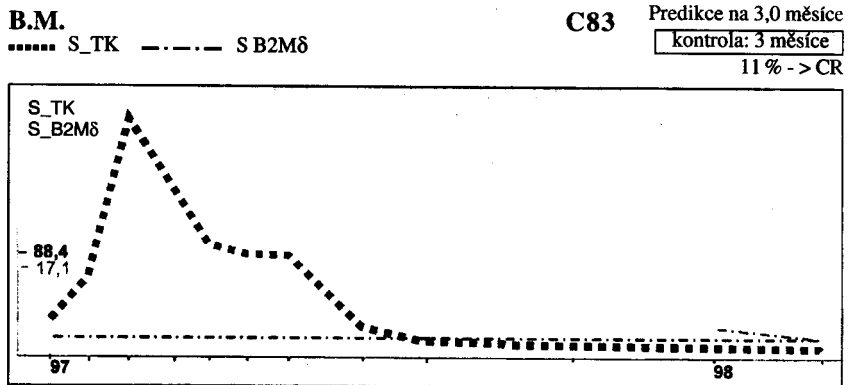
Obr. 2. Korelace iniciačních hodnot TK a klinického stadia choroby



Obr. 4. Přežívání nemocných s non-Hodgkinovými lymfomy v ČR za posledních 10 let



Obr. 3. Přetrvávající vysoká hodnota TK při zablokování chemoterapií



dylátsyntetázy z deoxyuridinmonofosfátu za přítomnosti kyseliny listové a vitamínu B12. Při zablokování této cesty např. některými cytostatiky využívá organismus cesty pomocí TK. Je tedy enzymem náhradní záchranné cesty syntézy DNK. Katalyzuje fosforylaci thymidinu v přítomnosti adenosintrifosfátu na TMP.

U nás se sérová TK vyšetřuje v průběhu sledování nemocných s NHL pro upozornění na relaps choroby, případně pro posouzení efektu terapie.

Falešná pozitivita zvýšené TK v séru bývá referována u některých virových infekcí, zejména herpetických virů, u některých plicních onemocnění jako je fibróza, sarkoidóza nebo absces. Na našem pracovišti vyšetřujeme TK v séru v době stanovení diagnózy před zahájením terapie a dále nemocné sledujeme pomocí tohoto parametru vzhledem k případné detekci relapsu choroby i posouzení efektu terapie. Ve většině případů dosažení kompletní remise (CR) signifikantně koreluje s normalizací sérové TK. Pouze vzácně došlo k poklesu sérové TK opožděně (obr.č.3), což je možno vysvětlit zablokováním hlavní cesty syntézy DNK cytostatiky a aktivací záchranné cesty pomocí TK. Tento fakt vysvětluje také dřívější pozorování některých autorů (2), kdy v některých případech i po úspěšné chemoterapii může přetrvávat výrazně zvýšená hodnota TK po dobu 4-8 týdnů i v případě potvrzené kompletní remise. Po

terapii MTX a 5-FU byly tyto případy popsány i v terapii solidních nádorů. Tento protražený pokles TK po terapii by neměl být zaměřován s prudkým vzestupem TK v prvních dnech po chemoterapii. Posledně uvedená elevace je způsobena zvýšením propustnosti buněčných membrán nádorových buněk poškozených cytostatiky (lysis fenomen). Jelikož poločas sérové TK je asi 2 dny, tento fenomen záhy odezní. Naopak v současné době se uvádí možnost použití tohoto jevu k časnému monitorování efektu léčení - vzestupem sérové TK těsně po podání terapie.

Pokud v terapii není použito cytostatikum inhibující syntézu TMP de novo, zůstává TK markerem korespondujícím s průběhem léčení a bývá ukazatelem buněčné proliferace. Její senzitivita se pohybuje až kolem 90% a je považována za základní sérový marker pro ne Hodgkinské lymfomy.

TK bývá také stanovována v cytosolu nádorů (TK1 isoenzym nebo cytosol-TK se nachází v cytosolu buněk ve stadiích buněčného dělení G1 až S) a bývá považována za prognostický faktor (3, 4). Také sérová TK bývá uváděna jako vhodný marker s prognostickým významem pro ne Hodgkinské lymfomy (5). Poley a spol. (6) uvádějí sérové hodnoty TK před terapií vyšší než 10 U/l za špatný prognostický parametr celkového přežívání nejen pro mnohočetný myelom, ale i pro nemocné s NHL. Podle jejich výsledků je vyšetřování sérové TK vhodné nejen pro sledování průběhu choroby během terapie, ale i pro predikci prognózy nemocných NHL. Christiansen (7) považuje sérové hodnoty TK spolu s dalšími parametry (laktátdehydrogenáza, B2M , orosomukoid a další) za vhodný prognostický parametr u NHL. Pro posouzení sérové TK jako nezávislého prognostického parametru bude nutno v naší studii srovnat iniciální hodnoty nemocných určitých klinických stadií a jejich celkové přežití. Výchozí

hodnota TK v séru je také nutná při dalším vyhodnocování tohoto enzymu jako nezávislého prognostického parametru při hodnocení bezpříznakového i celkového přežití nemocných v této skupině. Toto posouzení stejně jako hodnocení validity TK v průběhu onemocnění bude předmětem dalších sdělení.

Závěr

Za posledních 20 let se incidence ne Hodgkinských lymfomů výrazně zvýšila (přírůstek o 36% pro USA udává publikace National Cancer Institute z r.1995). Změna v nárůstu mortality však byla jen zhruba poloviční. Podobné změny vidíme v ČR, kde incidence ne Hodgkinských lymfomů se v 90. letech pohybuje mezi 15 - 50 pro ženy a 25 - 65/100 000 pro muže (roste s vyšším věkem). V pětiletém přežívání došlo k podstatnému zlepšení, v průměru se pohybuje kolem 50%, zřejmě vlivem účinných chemoterapeutických režimů (viz obr. č.4). Ke zlepšení terapeutických možností přispívá také jejich účinné sledování pomocí TK a dalších nádorových markerů.

V naší práci jsme prokázali korelaci iniciálních hladin sérové TK pouze s klinickým stadiem choroby. Korelaci s přítomností B symptomů ani histologickým typem NHL se nám nepodařilo prokázat. Hodnocení senzitivity TK vzhledem k progresi choroby či efektu terapie v této studii, stejně jako posouzení falešné pozitivivity však bude publikováno později. V dalším sdělení bychom rádi zhodnotili iniciální hodnoty TK ve vztahu k přežívání nemocných a event. prokázali korelaci iniciální hodnoty TK a celkového i bezprogresového přežití sledovaných nemocných.

Práce byla podpořena grantovým projektem IGA Mzd č. 3480-3.

Literatura:

1. Kaušitz J.: Rádioimunoanalýza v onkologii. Vydala Veda,1991, Bratislava, 145
2. Lejško J., Jungerová J., Topolčan O., Koza V.: Thymidinkináza u maligního lymfogranulomu a ne Hodgkinských lymfomů. Prakt. Lék. (Praha),72,1992,č.5, 171-173
3. Kausitz J., Kuliffay P., Pecan L. et al.: Correlation of cytosolic concentrations of ER, PS2, Cath-D, TPS, TK and cAMP in primary breast carcinomas. Neoplasma,41, 1994, 331-336
4. Roman S., Christensen I. J., Chinot O. et al.: Prognostic value of cytosolic thymidine kinase activity as a marker of proliferation in breast cancer. Int.J.Cancer, 61, 1995, 7-12
5. Hallek M., Wanders L., Strohmeyer S., Emmerich B.: Thymidine kinase: a tumor marker with prognostic value for non-Hodgkin's lymphoma and broad range of potential clinical applications. (Review), An.Hematol.,65, 1992, 1-5
6. Poley S., Stieber P., Nussler V. et al.: Serum thymidine kinase in non-Hodgkin lymphomas with special regard to multiple myeloma. Anticancer Res. 17 (4B) 1997: 3025-9
7. Christiansen I., Gildlof C., Kalkner K.M. et al: Elevated serum levels of soluble ICAM-1 in non-Hodgkin's lymphomas correlate with tumour burden, disease activity and other prognostic markers. Br J Haematol. 92 (3)1996: 639-46

ANDROGENOVÝ RECEPTOR, PROLIFERACE, APOPTÓZA A DIFERENCIACE U PROSTATICKEHO KARCINOMU: KORELUJE POUZE RECEPTOR S NÁDOROVOU PROLIFERACÍ

ANDROGEN RECEPTOR, PROLIFERATION, APOPTOSIS AND DIFFERENTIATION IN PROSTATE CANCER: CORRELATION BETWEEN ANDROGEN RECEPTOR AND PROLIFERATION ONLY.

VAGUNDA V., JANDÁKOVÁ E., VERMOUSEK I., ROVNÝ A.*, ROVNÝ F.*, DOROCIÁK F., KREJČÍ E.

MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV, BRNO
*FAKULTNÍ NEMOCNICE U SVATÉ ANNY, BRNO

Souhrn: *Východiska:* U prostatického karcinomu jsou v centru pozornosti proliferačně-apoptické prediktivní a prognostické faktory ve vztahu k androgenovému receptoru (AR). *Typ studie a soubor:* Provedli jsme retrospektivní studii na souboru 52 prostatických karcinomů. *Metody a výsledky:* Imunohistochemicky jsme stanovili expresi proliferačních markerů PCNA a Ki-67, dále proteinů bcl-2, c-MYC, p-glykoproteinu a AR, kde byla také použita biochemická ligand-saturační analýza. Spearmanovým testem jsme určili vzájemné statistické korelace se zahrnutím podskupin podle použité předoperační hormonální terapie. Nalezli jsme pouze korelaci mezi obsahem AR zjištěným biochemickou metodou a expresí Ki-67 proteinu. U bcl-2 a c-myc jsme neprokázali souvislost s proliferací ani s diferenciací karcinomu prostaty. *Závěry:* Nálezy ukazují, že AR se podílí na řízení proliferace prostatického karcinomu a nesouvisí přímo s apoptózou.

Klíčová slova: Androgenový receptor, proliferace, apoptóza, karcinom prostaty, p-glykoprotein, korelace

Abstract: *Backgrounds:* Proliferative-apoptotic predictive and prognostic factors are explored in prostatic carcinoma in relation with androgen receptor (AR). *Design and subjects:* We tested 52 prostatic carcinomas obtained by radical prostatectomy in a retrospective study. *Methods and results:* Immunohistochemistry was used for detecting AR, bcl-2, c-myc, p-glycoprotein, PCNA and Ki-67 proteins. For AR, biochemical dextran charcoal method was used as well. By Spearman's rank test, we found correlation only between AR and Ki-67. For apoptosis related proteins bcl-2 and c-myc we did not found correlations with proliferation or differentiation of prostatic carcinoma. *Conclusions:* The results suggest that AR plays role in proliferation control but is not directly related to frequency of apoptosis in prostatic carcinoma.

Keywords: Androgen receptor, proliferation, apoptosis, prostate cancer, p-glycoprotein, correlation

Úvod

Expresí proliferačních antigenů a proteinů zúčastněných v procesu apoptózy u karcinomu prostaty se zkoumá s ohledem na jejich prognostickou či prediktivní hodnotu¹⁻⁵.

Proliferace je základní parametr který je stanovován u různých nádorů v souvislosti s určením stupně jejich malignity. Kromě mitotického indexu jsou stanovovány především proteiny PCNA a Ki-67¹²⁻¹⁵. Ne vždy je u nádorů prokázána korelace exprese těchto proteinů, kromě toho absolutní hodnoty PCNA pozitivity jsou vyšší. Zkoumá se rovněž, zda proliferace koreluje s expresí androgenového receptoru (AR) a s frekvencí apoptóz. Role androgenového receptoru není zcela jasná. Některé práce prokazují jeho souvislost s diferenciací karcinomu prostaty a prognostický význam intenzity jeho exprese, jiné nenalezly souvislost s grade, stadiem nebo prognózou nádoru. Na rozdíl od jiných nádorů, jako je například karcinom prsu nebo endometria, není role steroidních receptorů u karcinomu prostaty v současné době objasněna^{1-5, 16-24}.

Vzhledem k tomu, že androgeny kontrolují růst prostatické tkáně a při blokování jejich působení dochází k masivní apoptóze buněk tkáně prostaty, je možné očekávat asociaci exprese androgenového receptoru s některými proteiny, zúčastněnými v procesu apoptózy¹⁸. Z proteinů zúčastněných v procesu apoptózy jsou důležité bcl-2 a c-myc⁶⁻¹¹. P-glykoprotein (pGp) je transmembránový glykoprotein, kte-

rý je častou příčinou multirezistence nádoru k chemoterapii. Rovněž je užíván jako marker diferenciací některých nádorů^{25, 26}.

Hlavním cílem naší práce bylo stanovení proliferace a apoptózy (nepřímo detekcí bcl-2 proteinu) u karcinomu prostaty, stanovení jejich vzájemné korelace a závislosti na expresi AR, c-myc, gradu nádoru, expresi pGp a různých typech předoperační hormonální terapie.

Materiál a metody

Bioptický materiál byl získán radikální prostatektomií. Do studie bylo zařazeno 52 pacientů. Soubor jsme rozdělili na tři skupiny podle použité předoperační terapie. 15 pacientů bylo bez terapie, u 26 byla použita metoda totální androgenní blokady (TAB), což je použití analogu LH-RH a antiandrogenu. U 11 pacientů byla použita jen antiandrogenní terapie (podávání samotného antiandrogenu). Jako analog LH-RH byl použit tiporelin nebo leuprorelin, jako antiandrogen flutamid nebo bicalutamid.

Materiál byl zpracován standardní technikou - formalinovou fixací a zalitím bloků do parafinu. Části tumoru byly odděleny ještě před fixací a po homogenizaci v nich byla stanovena koncentrace androgenového receptoru (AR) biochemickou ligand-saturační analýzou. K vyhodnocení byly použity vzorky odebrané z těsné blízkosti reprezentativního bloku, určitého pro imunohistochemická barvení.

Imunohistochemie byla provedena na rehydratovaných tkáňových řezech. K detekci byl použit imunoperoxidázový ABC detekční kit firmy Novocastra. U antigenů AR, Ki-67, PCNA, bcl-2 a pGp byla použita metoda tepelné revitalizace mikrovláknou troubou, u c-MYC byla užitá pro revitalizaci antigenu proteináza K.

Jako primární protilátky byly použity: monoklonální myší protilátka proti AR F39.4.1 firmy Novocastra, polyklonální králičí protilátka proti AR sc-816 firmy Santa Cruz, monoklonální myší protilátka Ki67-MIB1 (Biogenex), Ki67-MM1, bcl-2, pGp, cMYC a PCNA-PC10 (vše Novocastra)

Jako imunohistochemicky pozitivní jsme hodnotili intenzivní hnědé zabarvení (podle použité protilátky nukleární či plazmatické) v místech s maximem pozitivitu. Dále jsme semikvantitativně v % vyhodnocovali pozitivitu AR, Ki67, pGp a PCNA a semikvantitativně od – do ++++ pozitivitu bcl-2 a c-MYC.

AR byl dále stanoven biochemickou ligand saturační analýzou na tkáňovém homogenátu pomocí 3H-methyltrienolonu. Výsledky jsou udány v fmol/mg tkáně.

Ke statistickému vyhodnocení výsledků jsme použili Spearmanův test korelace pořadí a χ^2 test.

Výsledky

V celém souboru korelovaly signifikantně hodnoty AR zjištěné biochemicky a imunohistochemicky za použití monoklonální protilátky ($r = 0,32$; $p = 0,02$) a rovněž hodnoty zjištěné imunohistochemicky za použití dvou různých protilátek ($r = 0,39$; $p = 0,002$)²⁷. Dále korelovaly hodnoty imunohistochemické pozitivitu Ki-67 a Ki-67-MIB-1 ($r = 0,61$; $p < 0,0001$) a také množství AR zjištěné biochemicky a pozitivita Ki-67-MIB-1 ($r = 0,33$; $p = 0,02$). Korelace pozitivitu bcl-2 a MIB-1 byla na hranici signifikance ($r = 0,28$; $p = 0,05$).

Ve skupině léčené TAB korelovaly signifikantně hodnoty stanovené protilátkami Ki-67 a MIB-1 ($r = 0,69$; $p = 0,002$), dále množství AR stanovené biochemickou metodou a Ki-67 ($r = 0,61$; $p = 0,006$), množství AR stanovené biochemicky a MIB-1 ($r = 0,53$; $p = 0,02$), negativně koreloval grade nádoru podle Gleasona a hodnoty PCNA ($r = -0,53$; $p = 0,02$), na hranici signifikance byly korelace imunohistochemických pozitivit AR za použití monoklonální protilátky a Ki-67 ($r = 0,43$; $p = 0,05$), resp. MIB-1 ($r = 0,45$; $p = 0,04$).

Ve skupině léčené antiandrogenní terapií (AAT) korelovala negativně imunohistochemická pozitivita AR (monoklonální protilátka) a exprese MIB-1 ($r = -0,9$; $p = 0,01$), na hranici signifikance byla korelace Ki-67 a MIB-1 ($r = 0,78$; $p = 0,04$) a dále negativní korelace exprese c-MYC a množství AR stanoveného biochemicky ($r = -0,7$; $p = 0,05$).

Ve skupině bez preoperační terapie korelovala signifikantně pozitivita Ki-67 a MIB-1, na hranici signifikance byla korelace MIB-1 a imunohistochemická pozitivita AR stanovená polyklonální protilátkou ($r = 0,85$; $p = 0,04$).

Diskuse

Při hodnocení proliferace se projevila absence korelace imunohistochemických pozitivit PCNA a Ki-67. Tyto proteiny jsou užívány často jako markery proliferace a z našich výsledků je zjevné, že v jejich expresi u prostatického karcinomu není žádná souvislost. V dřívějších studiích sice byla nalezena korelace mitotického indexu s PCNA a Ki-67, ale s lepšími výsledky pro Ki-67. Proto je Ki-67 považován za marker, který více odpovídá intenzitě proliferace ve tkáni. Tento protein je exprimován v kratší části buněčného cyklu než PCNA. Navíc má PCNA delší poločas rozpadu a je exprimován nejen během proliferace, ale také při opravě poškozené DNA. Dalším problémem jsou technické obtíže, především

vyšší pozadí při stanovení PCNA. Z metodického hlediska nejsou překvapivé korelace Ki-67 a Ki-67-MIB, v případě neshody bychom museli uvažovat o chybě v technickém postupu.

Inverzní korelace exprese PCNA a nádorového grade ve skupině léčené TAB má nejasný význam. Náhodný výsledek je zde nepravděpodobný a pravděpodobně jde o souvislost s typem hormonální terapie.

Korelace imunohistochemických pozitivit AR zjišťovaných použitím dvou různých protilátek byly očekávané. Zjistili jsme vyšší specifitu monoklonální protilátky, kterou tedy lze doporučit pro další studie²⁷.

Korelace proliferčních antigenů Ki-67 s koncentrací androgenového receptoru stanovenou ligand-saturační analýzou se objevuje u celého souboru i v jednotlivých podskupinách. Pravděpodobně jde o regulační vliv AR na proliferaci, ovšem pro potvrzení této hypotézy by bylo třeba dalších studií. Vzhledem k tomu, že tato závislost byla nalezena jen u biochemického stanovení AR, může jít o souvislost s poměrem mezi volnými a obsazenými AR, s mutacemi AR nebo o vliv dosud neznámého faktoru.

Co se týče bcl-2 proteinu jako antiapoptotického faktoru, překvapivě jsme nezaznamenali korelaci s žádným z vyšetřovaných proteinů, kromě korelace s expresí Ki-67-MIB-1 v celém souboru. Pokládáme ji spíše za náhodný výsledek vzhledem k nízkému korelačnímu koeficientu a hraniční hladině významnosti, protože se na rozdíl od celého souboru podobný výsledek neobjevuje ani u jedné z podskupin. Nález by znamenal inverzní korelaci apoptózy a proliferace. Mohlo by tedy jít o specifický nález odlišný od jiných tumorů, například lymfomů či mamárního karcinomu, kde prokazatelně kladně koreluje mitotický a apoptotický index.

Co se týče výsledků u různých podskupin podle použité terapie, výrazné rozdíly jsme zachytili jen u stanovení AR²⁷. U jiných markerů jsme nenalezli signifikantní rozdíly. Bylo by vhodné podobnou studii zopakovat na větším souboru případů, protože některé ze skupin neměly dostatečnou velikost pro spolehlivou statistickou analýzu. Konečným výsledkem by mělo být stanovení nezávislých prognostických faktorů, to ovšem bude možné až po dlouhodobém sledování celého souboru a vyhodnocení intervalů bezpříznakového přežití a celkového přežití.

Inverzní korelace exprese PCNA a nádorového gradu ve skupině léčené TAB naznačuje, že je možná souvislost mezi proliferací a diferenciací nádoru, kdy použitý Gleasonův grade je založen na diferenciaci a růstové charakteristice nádoru, bez zřetele k proliferaci¹². Pravděpodobně se však týká jen dané podskupiny a souvisí s určitým typem hormonální terapie. U pGp jako markeru diferenciaci, exprese nekoreluje s apoptózou ani proliferací. Jeho význam pro praxi se tedy omezuje na predikci účinku specifické chemoterapie.

U c-myc nebyla nalezena, byť literárně citovaná, korelace s apoptózou ani proliferací, což potvrzuje i jinde uváděný duálně funkční typ tohoto onkogenu a naopak zatím nepodporuje terapeutické implikace, které by se mohly hledat jen v úzce vymezených podskupinách nádoru.

Závěr

Další studie by se měly zaměřit na zkoumání souvislostí proliferace a apoptózy z hlediska detekce apoptotických figur, stanovení apoptotického a mitotického indexu a jejich korelací s expresí bcl-2, p53, c-myc a dalších proteinů souvisejících s apoptózou. V centru dalšího výzkumu také zůstává ověření prognostického významu kombinovaných proliferčně-apoptotických indexů, včetně indexu apoptóza plus mitóza.

Studie byla podpořena grantem č. 301/96/K047 Grantové agentury České republiky, grantem Interní grantové agentury MZ ČR č. 2922-3, darem Kanadského velvyslanectví v Praze z výtěžku Běhu Terryho Foxe a firmou Ferring-Léčiva a.s. Praha. Autoři děkují za spolupráci paní Libuši Rašovské, Heleně Bursově a Evě Mikoškové.

Literatura

- Prins, G. S., Sklarew, R. J., Pertschuk, L. P. Image Analysis of Androgen Receptor Immunostaining in Prostate Cancer Accurately Predicts Response to Hormonal Therapy. *J Urol* 1998 Mar;159:641-649.
- Pertschuk, L. P., Schaeffer, H., Feldman, J. G., Macchia, R. J., Kim, Y. D., Eisenberg, K., Braithwaite, L. V., Axiotis, C. A., Prins, G., Green, G. L. Immunostaining for Prostate Cancer Androgen Receptor in Paraffin Identifies a Subset Men With a Poor Prognosis. *Lab Invest* 1995 Aug;73:302-305.
- Sadi, M. V., Walsh, P. C., Barrack, E. R. Immunohistochemical Study of Androgen Receptors in Metastatic Prostate Cancer. Comparison of Receptor Content and Response to Hormonal Therapy. *Cancer* 1991 Jun 15;67:3057-3064.
- Takeda, H., Akakura, K., Masai, M., Akimoto, S., Yatani, R., Shimazaki J. Androgen Receptor Content of Prostate Carcinoma Cells Estimated by Immunohistochemistry is Related to Prognosis of Patients with Stage D2 Prostate Carcinoma. *Cancer*, 77:934-40, 1996 Mar.
- Sadi MV, Barrack ER. Androgen Receptors and Growth Fraction in Metastatic Prostate Cancer as Predictors of Time to Tumour Progression After Hormonal Therapy. *Cancer Surv* 1991;11:195-215.
- Matsushima H., Hosaka Y., Suzuki M., Mizutani T., Ishizuka H., Kawabe K. Bcl-2 Expression on Prostate Cancer and Its Relationship to Cell Cycle and Prognosis. *Int J Urol*, 3:113-7, 1996 Mar.
- Lipponen P., Vesalainen S. Expression of The Apoptosis Suppressing Protein bcl-2 In Prostatic Adenocarcinoma Is Related to Tumor Malignancy. *Prostate*, 32:9-15, 1997 Jun 15.
- Bubendorf L., Sauter G., Moch H., Jordan P., Blöchlinger A., Gasser TC., Mihatsch MJ. Prognostic Significance of Bcl-2 In Clinically Localized Prostate Cancer. *Am J Pathol*, 148:1557-65, 1996 May.
- Bauer JJ., Sesterhenn IA., Mostofi FK., McLeod DG., Srivastava S., Moul JW. Elevated Levels of Apoptosis Regulator Proteins p53 and Bcl-2 Are Independent Prognostic Biomarkers in surgically treated clinically localized prostate cancer. *J Urol*, 156:1511-6, 1996 Oct.
- Moul JW., Bettencourt MC., Sesterhenn IA., Mostofi FK., McLeod DG., Srivastava S., Bauer JJ. Protein Expression of p53, bcl-2, and Ki-67 (MIB-1) as Prognostic Biomarkers in Patients With Surgically Treated, Clinically Localized Prostate Cancer. *Surgery*, 120:159-66; discussion 166-7, 1996 Aug.
- Theodorescu D., Broder SR., Boyd JC., Mills SE., Frierson HF Jr. P53, bcl-2 and Retinoblastoma Proteins as Long-term Prognostic Markers in Localized Carcinoma of The Prostate. *J Urol*, 158:131-7, 1997 Jul.
- Botticelli AR, Casali AM, Botticelli L, Zaffe D. Immunohistochemical Detection of Cell-cycle Associated Markers on Paraffin Embedded and Formalin Fixed Needle Biopsies of Prostate Cancer: Correlation of p120 Protein Expression With AgNOR, PCNA/cyclin, Ki-67/MIB1 Proliferation-scores and Gleason Gradings. *Eur J Histochem* 1998;42(1):41-8.
- Golusinski W, Szmeja Z, Olofsson J, Biczysko W, Krygier-Stojalowska A, Majewski P. Retrospective Analysis of Selected Tumor Markers (p53, PCNA, Ki67; DNA ploidy) and Ultrastructure in Patients With Larynx Carcinomas HNO 1998 Mar;46(3):233-40. McLeod DG. Hormonal Therapy in the Treatment of Carcinoma of the Prostate. *Cancer* 1995;75:1914-9
- Carson HJ, Reddy V, Taxy JB. Proliferation Markers and Prognosis in Merkel Cell Carcinoma. *J Cutan Pathol* 1998 Jan;25(1):16-9.
- Aranda FI, Laforga JB. Cellular Proliferation in Breast Ductal Infiltrating Carcinoma. Correlation With Clinical and Histopathological Variables. *Pathol Res Pract* 1997;193(10):683-8.
- Graham SD, Keane TE, Petros JS, Sanders WH. Perioperative Hormonal Therapy in Locally Advanced Adenocarcinoma of the Prostate. *Cancer* 1995;75:1969-71.
- Van der Kwast TH, Tetu B, Fradet Y, Dupont A, Gomez J, Cusan L, Diamond P, Labrie F. Androgen Receptor Modulation in Benign Human Prostatic Tissue and Prostatic Adenocarcinoma During Neoadjuvant Endocrine Combination Therapy. *Prostate* 1996 Apr;28:227-231.
- Honn KV, Aref A, Chen YQ, Cher ML, Crissman JD, Forman JD, Gao X, Grignon D, Hussain M, Porter AT, Pontes JE, Powell I, Redman B, Sakr W, Severson R, Tang DG, Wood DP. Prostate Cancer. Old Problems and New Approaches. *Path Onc Res* Vol 2 No3, 1996 191-211.
- Brolin J, Skoog L, Ekman P. Immunohistochemistry and Biochemistry in Detection of Androgen, Progesterone and Estrogen Receptors in Benign and Malignant Human Prostatic Tissue. *Prostate* 1992; 20: 281-295.
- Montie JE. Staging of Prostate Cancer. Current TNM Classification and Future Prospects for Prognostic Factors. 1995;75:1814-8.
- Miyamoto KK, McSherry SA, Dent GA, Sar M, Wilson EM, French FS, Sharief Y, Mohler JL. Immunohistochemistry of the Androgen Receptor in Human Benign and Malignant Prostate Tissue. *J Urol* 1993 May;149:1015-101.
- Cohen RJ., Cooper K., Haffejee Z., Robinson E., Becker PJ. Immunohistochemical Detection of Oncogene Proteins and Neuroendocrine Differentiation in Different Stages of Prostate Cancer. *Pathology*, 27:229-32, 1995 Jul.
- Leav I, McNeal JE, Kwan PW, Komminoth P, Merk FB Androgen Receptor Expression in Prostatic Dysplasia (Prostatic Intraepithelial Neoplasia) in The Human Prostate: An Immunohistochemical And In Situ Hybridization Study. *Prostate* 1996 Sep;29(3):137-45.
- Chen CT, Gan Y, Au JL, Wientjes MG. Androgen-dependent and -independent Human Prostate Xenograft Tumors as Models For Drug Activity Evaluation. *Cancer Res* 1998 Jul 1;58(13):2777-83.
- Stavrovskaya A, Turkina A, Sedyakhina N, Stromskaya T, Zabolina T, Khoroshko N, Baryshnikov. A Prognostic Value of P-glycoprotein and Leukocyte Differentiation Antigens in Chronic Myeloid Leukemia. *Leuk Lymphoma* 1998 Feb;28(5-6):469-82.
- Molnar J, Szabo D, Mandi Y, Mucsi I, Fischer J, Varga A, Konig S, Motohashi N Multidrug Resistance Reversal in Mouse Lymphoma Cells by Heterocyclic Compounds. *Anticancer Res* 1998 Jul-Aug;18(4C): 3033-8.
- Vagunda V., Pochmon D., Vermousek I., Jandáková E., Rovný F., Rovný A.: Assessment of androgen receptor in prostatic carcinoma: good correlation between immunohistochemical and biochemical methods. *Arch. anat. cytol. path.clin. exp. path.* Vol. 46, no 5-6, p.436.

O PRVENSTVÍ ČESKÉ REPUBLIKY

Second World Conference of Cancer Organisations, Atlanta, 19.-23.5.1999.

J. ŽALOUĐÍK

UNIVERZITNÍ ONKOLOGICKÉ CENTRUM V BRNĚ

Světové konference onkologických organizací navazující ve dnech 19.-23.5.1999 v Atlantě bezprostředně na kongres ASCO '99 (Atlanta, 14.-18.5.1999) jsem se zúčastnil jako jediný zástupce z České republiky za prostředky stipendia American Cancer Society. Během konference mi kdosi blahopřál k prvenství českých hokejistů. Vychutnal jsem však i další české prvenství, o němž pojednám. Trochu jsem zalitoval, že nejsem v Atlantě za hokejisty.

Konference přivádějící na společné jednání zástupce všech organizací, které se jakoukoli formou profesionálně nebo dobrovolně zabývají bojem proti rakovině, z celého světa se sešla teprve podruhé. Poprvé to bylo před třemi lety v australském Melbourne. Na konferenci kombinující plenární zasedání, semináře a edukační kurzy v mnoha místnostech hotelu Hilton Towers v Atlantě se sešlo asi 1 000 delegátů ze 116 zemí. Dopolední plenární zasedání všech delegátů, společné snídaně, obědy i večere vytvořily na konferenci o „pouhé“ tisícovce účastníků ve srovnání se sedmnáctitisícovým mraveništem ASCO_99 atmosféru přehledného kolektivu s možností neformální diskuze k nastiňeným problémům. To uvádím zejména proto, že již první den jednání se dostala bez jakéhokoli mého přičinění na přetřes situace v České republice.

Již v první plenární přednášce Američana Dr. Thuna analyzujícího celosvětový stav incidence a mortality na zhoubné nádory a podíl preventivních onkologických programů na jejich ovlivnění byla Česká republika (pod názvem Československo, Slovensko však bylo vedeno zvlášť) označena za exemplární příklad státu se stále stoupající incidencí i mortalitou na rozhodující onkologické diagnózy, tedy karcinom plic, prsu a kolorekta, i na zhoubné nádory vcelku. Strmě stoupající červená křivka s označením Československo byla zúčastněnými velmi silně vnímána zejména v protikladu k chválené situaci ve Finsku, kde tyto křivky klesají podobně jako v některých dalších evropských zemích i v USA. Toto naše prvenství mezi státy, které incidenci a mortalitu na zhoubné nádory sledují (protože lze namítnout, že ještě horší může být situace v zemích, kde data zcela chybí), je nutno vidět v kontextu současného zjištění, že křivky mortality se v USA, Australii a skandinávských zemích začínají poprvé v historii u několika hlavních diagnóz oplošťovat a dokonce klesat.

V dalších formálních diskuzích na seminářích i neformálních v kuloárech jsem se stal (ač nerad) vyhledávanou osobou, která měla vysvětlit důvody českého prvenství. Sdělovali mi, že „negative experience“, negativní zkušenost, je rovněž velmi důležitá a stal jsem se tedy „expertem na negative experience“. Nepříjemnější však byly otázky informovaných zástupců vedení UICC proč není Česká onkologická společnost členem UICC, proč se neúčastníme některých preventivních evropských programů, proč nejsou naše data ve studii EURO CARE z roku 1998 hodnotící 1-a 5-leté přežívání asi 14 nejčastějších typů zhoubných nádorů, jaký je náš národní onkologický program, proč není na konferenci zástupce národního onkologického programu nebo ústavu, máme-li jaký, proč neprošel zákon proti reklamám na tabákové výrobky, kolik je u nás dobrovolných organizací zabývajících se bojem proti rakovině

a jaký mají potenciál, jaký je objem nestátních prostředků věnovaných boji proti rakovině a další. Ponechám na čtenářích této zprávy, aby se sami zkusili přenést do uvedené situace a otázky zodpovědět při zachování image České republiky jako státu s rozvinutým zdravotnictvím. Role, jíž jsem se musel zhostit byla nezáviděníhodná, avšak uvědomil jsem si v ní jak málo skutečně konstruktivních kroků máme za sebou, abychom mohli deklarovat kompatibilitu našeho zdravotnictví s rozvinutějšími zeměmi.

Je zřejmé, že nejde o srovnávání s poměry v USA, ale třeba právě s Finskem nebo Dánskem. V současné době se zdůrazňuje, že v hlavních onkologických diagnózách je až 30%-ní ovlivnitelnost mortality preventivními opatřeními. Při soustředěné strategii onkologické prevence a racionální onkologické péče zaměřené především na časnou detekci je pokládáno za reálné aspoň u tzv. preventabilních nádorů (karcinom plic, prsu, cervixu, kolorekta a melanom) křivky mortality během 5 let stabilizovat a během dalších 5 let snižovat aspoň o 5-10 %. Naším problémem je však zároveň, že neznáme v celonárodním kontextu vlastní léčebné výsledky a chybí nám tudíž srovnání se zeměmi, kde křivky začínají klesat. Nevíme, zda nás čeká více úkolů v prevenci nebo v samotném zkvalitnění onkologické léčebné péče. Nevím zda u nás někdo uvedenou strategii, která by zohlednila nejen opatření zdravotnická, nýbrž i výchovná a legislativní, zpracovává nebo zpracovává, pokud ano, nesetkávám se s její popularizací ani s jejími dopady. Jako člen výboru České onkologické společnosti od března 1999 se však již cítím za náš neblahý stav spoluzodpovědným a bral bych rady, jichž se mi především od evropských kolegů ke kompatibilitě národních onkologických programů dostalo, velmi vážně.

Na konferenci jsem se účastnil především seminářů a kurzů o managementu onkologické péče, dále o informačních technologiích, fundraisingu a kurzu v učebně centrály ACS o internetovém napojení na Globalink. Poznatků o měnící se koncepci neziškových organizací v mergery a korporativní modely je celá řada a zasloužily by si samostatné sdělení, třeba na některých onkologických dnech renesančního charakteru jako bývají českokrumlovské. V informatice se mimo jiné dostává na program jednání zavádění „smart cards“ nebo „smart medical records“, tedy zdravotnické dokumentace vázané na elektronický záznam, respektive čipovou kartu. To bude paradoxně vyžadovat více úsilí od lékařů než od informatiků a organizátorů, protože v medicíně je zatím parametrický způsob uvažování a vedení záznamů spíše vzácností. Poznatků o funkci webových stránek UICC, Globalinku (<http://www.globalink.org>), využijeme, jak doufám, již brzy v provozu připravovaných webových stránek České onkologické společnosti.

Konferenci na závěr oslovil i bývalý prezident George Bush s manželkou, kteří se sami pokládají za příznivce a dobrovolné aktivisty American Cancer Society. Na World Conference of Cancer Organisations upozorňují českou onkologickou veřejnost jako na přínosnou a reprezentativní událost, která si příště zaslouží naši větší přípravu i návštěvnost. Již také proto, aby role obhájce zatím neradostných výsledků České republiky v mortalitě na zhoubné nádory nezůstala na jednotlivci nebo aby měl příště pro obhajobu naplňování našeho národního onkologického programu více pozitivních argumentů. K tomu však bude zapotřebí formulovaný a všeobecně podporovaný národní onkologický program vůbec mít. Další světová konference se koná až v příštím tisíciletí - už za tři roky.

ODHAD VÝSKYTU NÁDORŮ A EKONOMICKÁ PODPORA JEJICH VÝZKUMU VE SPOJENÝCH STÁTECH.

CANCER ESTIMATE AND ECONOMICAL SUPPORTING OF THEIR RESEARCH IN THE U.S.

GERYK, E.

Masarykův onkologický ústav, Brno

Důsledky zdravotního stavu obyvatel pro ekonomiku Spojených Států jsou stále více předmětem zájmu zdravotníků, politiků a široké veřejnosti. Úřady nemocí se konkrétní navrhovaná opatření týkají primární a sekundární prevence jako rozhodujícího řešení současného stavu. Pozornost výzkumu, podpořená analýzami ekonomů, se ve zvýšené míře týká zhoubných nádorů.

V posledních čtyřiceti letech vždy začátkem ledna zpracovává Americká onkologická společnost (ACS) odhady počtu nových případů nádorů a jejich úmrtí, očekávaných v nadcházejícím roce v celých Spojených státech a v každém z 51 států Unie. Kromě všech nádorových lokalizací přehled obsahuje 40 nejčastějších diagnóz (1, 2).

Od roku 1995 byl výpočet těchto odhadů podstatně zpřesněn na podkladě rostoucích požadavků odborníků a manažerů z center onkologické péče a výzkumu, nádorových kontrolních programů a plánování, zástupců kongresu a sdělovacích prostředků.

Z důvodů rozlohy a organizačních nároků nepůsobí ve Spojených Státech celonárodní registr nádorů ve smyslu celoplošné evidence, jak ji v ČR provádí Národní onkologický registr (NOR). Kontrola hlášení malignit a ověřování údajů v jednotlivých státech Unie (3, 4) je proto složitější a popis systému je nad rámec tohoto sdělení. Stručně lze uvést, že k výpočtu očekávané incidence a mortality používá ACS dva zdroje dat. Věkově specifická incidence nádorů je získána z programu SEER (Surveillance, Epidemiology, End Results), řízeného Národním onkologickým institutem (NCI), od roku 1979 zaměřeného na prezentaci nejnovějších údajů (5). Dalším zdrojem pro data příslušného roku jsou údaje Úřadu pro evidenci obyvatel (6).

Z vypracovaných podkladů vyplývá, že v roce 1998 bylo očekáváno ve Spojených státech 1,2 mil. nových nádorů a 564.800 úmrtí na nádory (7). Pořadí pěti nejčastějších diagnóz podle počtu nových případů nezahrnuje melanomy a nádory kůže (33.800 muži, 19.300 ženy): U mužů převažují (bez nádorů kůže a ca in situ) nádory prostaty, plic, kolorekta, močového měchýře a NH lymfomy, u žen nádory prsu, plic, kolorekta, dělohy a vaječniku. Srovnání s ověřenými počty v ČR za rok 1995 (8) ukazuje u mužů nižší zastoupení nádorů prostaty, NH lymfomů a vyšší zastoupení plic a kolorekta. U žen je nižší zastoupení nádorů prsu, plic a vyšší zastoupení kolorekta (tab. 1). Podle současného životního stylu lze v dalších letech očekávat v ČR mezi ostatními malignitami postupný nárůst zastoupení nových nádorů prostaty, prsu a plic u žen. K jejich porovnání mezi populacemi jednotlivých států jsou rozhodující hodnoty hrubé a standardizované incidence, případně mortality ve stejných časových obdobích. Komparaci údajů ČR a dalších zemí podpoří dokončená publikace (9).

Ukázkou výsledků ACS (7) jsou přetištěné grafy odhadu počtů čtyř diagnóz z let 1979-94:

Nádory plic - počet nových případů u mužů po dlouhodobém nárůstu začíná od roku 1993 klesat, u žen trvale roste (graf 1, 2).

Nádory tlustého střeva - po nárůstu nových případů u obou pohlaví a kulminaci v 90. letech jsou známky poklesu (graf 3, 4).

Nádory prostaty - po navýšení nových případů v letech 1990 až 1992 následoval pokles s očekávaným pokračujícím trendem růstu (graf 5).

Nádory prsu - počet nových případů vykazuje pozvolný nárůst s možnou stagnací v dalších letech (graf 6). Celonárodní Pochod proti rakovině napříč Amerikou, vyvolaný informovaností široké veřejnosti o situaci kolem výskytu nádorů, uskutečněný roku 1998 (10), přinesl první významné výsledky. Rozhodnutím Kongresu Spojených států bylo z rozpočtu roku 1999 na cíle NCI uvolněno 2,927,187,000 dolarů, což je zvýšení o téměř 400 mil., tj. 15,1% proti roku předchozímu. Na projekty Národního institutu výzkumu srdce, plic a krve bylo schváleno 1,794,000,000 dolarů s navýšením o 211 mil. dolarů a pro Národní institut alergie a infekčních nemocí přiděleno 1,570,000,000 dolarů tj. o 221 mil. více proti roku minulému. Celkově bylo pro Národní institut zdraví schváleno 15,652,386,000 dolarů, což je zvýšení o více než 2 miliardy (11).

Zvláštní pozornost věnoval americký prezident Bill Clinton otázce ekonomické podpory výzkumu nádorů ve svém projevu v Bílém domě 21.10.1998 při příležitosti vyhlášení měsíce října měsícem uvědomění si rakoviny prsu v USA.

Při této příležitosti paní Hillary Rodham Clintonová oznámila brzké zahájení projektu STAR (Studie Tamoxifen-Raloxifen). Z projevu prezidenta, dostupného z materiálu White House Home Page, jsou uvedena stanoviska, týkající se nádorů (12):

„Mnohokrát vám děkuji a jsem potěšen, že jsem zde s vynikajícími lidmi. Doufám, že se mi podaří vám sdělit alespoň část z toho, co se snažíme v oblasti zdraví udělat. Před 25 lety vyhlásila Amerika rakovině válku. Tehdy jsme měli šanci ji vyhrát. Věřím, že tato válka bude mít pro naše děti stejný význam jako válka z roku 1812. Doufám, že naše školní děti už nepoznají, co představuje chemoterapie. Téměř šest let jsme usilovně pracovali: pomáhali jsme onkologicky nemocným zajistit jejich zdravotní výdaje při změně zaměstnání, urych-

Tab. 1
Počty nových případů nádorů v USA a ČR 1998. Zpracováno podle (7, 8).

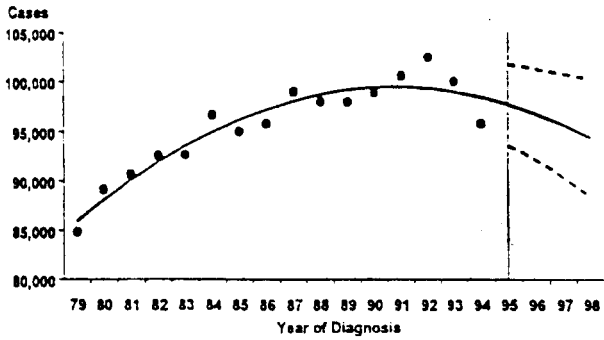
Muži	USA ¹⁾		ČR ²⁾	
	abs.počet	%	abs.počet	%
ZN prostaty	184.500	29,4	2.228	10,4
ZN plic, bronchů	91.400	14,6	4.711	22,0
ZN kolorekta	64.600	10,3	3.667	17,1
ZN moč. měchýře	39.500	6,3	1.274	5,9
NH lymfomy	31.100	5,0	418	2,0
Všechny ZN ³⁾	627.900	100	21.412	100
Ženy				
ZN prsu	178.700	29,7	4.449	21,6
ZN plic, bronchů	80.100	13,3	1.118	5,4
ZN kolorekta	67.000	11,2	2.989	14,5
ZN corpus uteri	36.100	6,0	1.535	7,5
ZN ovaria	25.400	4,2	1.169	5,7
Všechny ZN ³⁾	600.700	100	20.602	100

¹⁾ předpokládané počty 1998

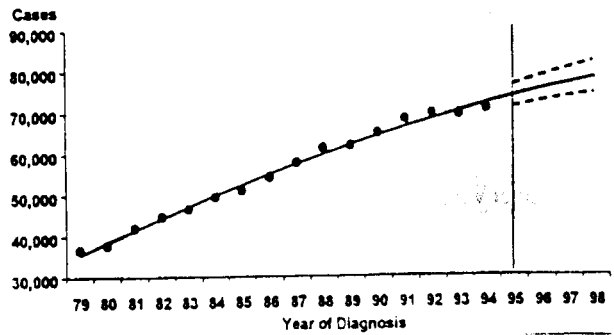
²⁾ nahlášené počty do NOR 1995

³⁾ bez nádorů kůže a ca in situ

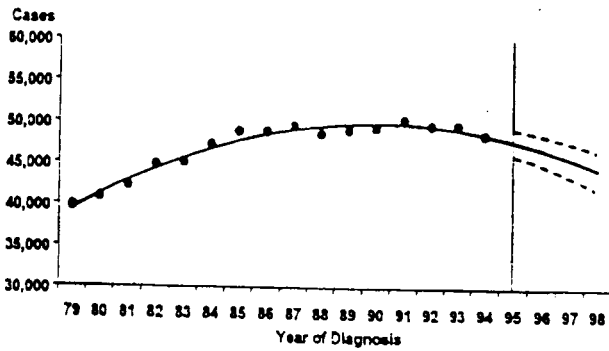
Graf 1
Estimated Lung Cancer Cases, Males, 1998



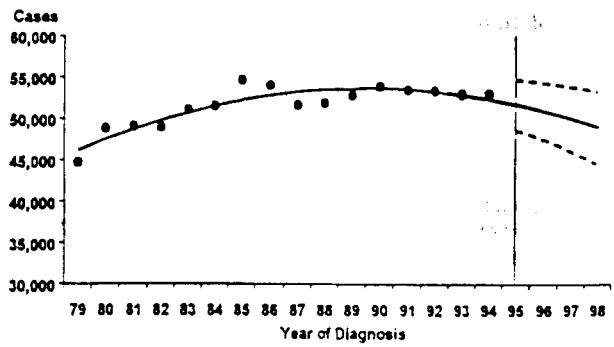
Graf 2
Estimated Lung Cancer Cases, Females, 1998



Graf 3
Estimated Colon Cancer Cases, Males, 1998

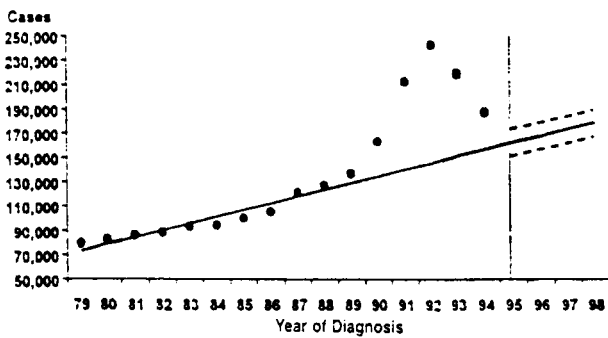


Graf 4
Estimated Colon Cancer Cases, Females, 1998

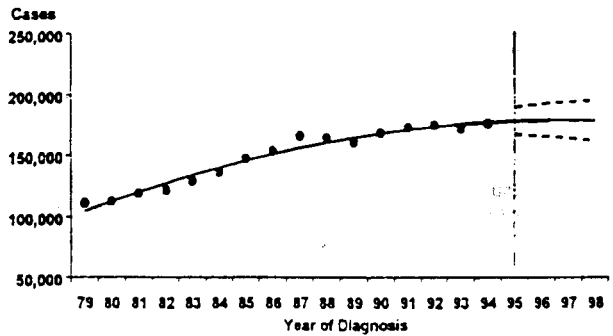


Graf 5
Estimated Prostate Cancer Cases, 1998

Linear Regression



Graf 6
Estimated Female Breast Cancer Cases, 1998



● Actual Cases — Modeled Estimates of Cases - - - 95% Confidence Limits



lovali jsme schvalování léků proti nádorům při zachování jejich bezpečnosti a průběžně jsme zvyšovali finanční podporu výzkumu rakoviny.

Díky práci řady z vás zde přítomných jsme dosáhli vynikajícího pokroku. Přibližujeme se nyní ke genetickým příčinám nádorů prsu, tlustého střeva, prostaty a zkoušíme léky, které by těmto nádorům skutečně zabránily. Nové postupy skríningu a diagnostiky jsou mnohým pacientům příslibem dlouhého a zdravého života. V letech 1991 až 1995 poprvé v naší historii poklesly počty úmrtí na nádory.

Zvláště jsem hrdý na pokrok, kterého jsme dosáhli za posledních pět let v prevenci, odhalování a léčbě nádorů prsu. Neuplyne jediný den, abych nevzpomněl na svou matku a jejím prostřednictvím na všechny ostatní ženy v naší zemi, které tato obávaná nemoc postihla. Vyrovnat se s touto chorobou vyžaduje víc než odvalu. Všichni máme vůči sobě a naší budoucnosti trvalý závazek podpory a provádění výzkumu, který by jednou provždy vyhrál válku proti rakovině. Bez výzkumu by nebyla mamografie, nebyly by genetické testy osob náchylných ke vzniku nádoru prsu. Bez výzkumu by nebyl Tamoxifen. Dnes odpoledne jsem podepsal vyrovnaný rozpočet, o který jsme v Kongresu tolik usilovali. Mezi jiným přináší pro naši zemi také změnu s velkým navýšením financování výzkumu nádorů v dalších letech. Je to součástí závazku, který jsme Hillary a já učinili, když jsme požádali Američany, aby uvítali nové tisíciletí tím, že svým jednáním uctí svoji minulost a budou předvídat svoji budoucnost.

Jsem rád, že nový rozpočet obsahuje rekordní nárůst 400 milionů dolarů na podporu Národního onkologického institutu, který bude z částky téměř 3 miliard dolarů schopen financovat kriticky nový výzkum včetně rozšířeného využití Herceptinu k léčbě nádoru prsu a ověření deseti dalších klinických testů nové léčby tohoto nádoru. Je to důležité vítězství k dosažení zdraví žen. Vyrovnaný rozpočet je projevem ocenění našich hodnot. Rád bych v této záležitosti, podobně jako v řadě jiných, poděkoval panu viceprezidentovi, který stál v čele našeho snažení prosadit financování výzkumu do rozpočtu.

Dovolte mně, abych znovu zdůraznil, že jsem velmi hrdý na to, jak tento rozpočet podpoří výzkum nádorů. Jsem hrdý na to, co všichni společně děláme, abychom vyřešili rakovinu prsu. Chci, abyste věděli, že osobně věřím tomu, že máme na dosah léčebné prostředky a preventivní strategie nedozírného dosahu. Stále musíme mít na paměti, že ve skutečně důleži-

tých věcech jako je výzkum nádorů, zajištění sociálních jistot občanů nebo výchova našich dětí, musí být tato země vždy jednotná.“

Pro pozorného čtenáře jsou uvedena slova příkladem angažovanosti politika a naplňování dlouhodobých záměrů státu v podpoře zdraví. Jejich tvůrci se při hledání optimálního modelu onkologické diagnostiky, terapie a prevence nevyhnu problémům, na které se občas poukazuje. Americké hledání řešení je současně záslužné pro země s omezenými ekonomickými možnostmi. Vzájemnou spoluprací mohou tyto země ve své zdravotní politice využít ověřené postupy k tolik očekávanému zlepšení ukazatelů onkologické statistiky. Jejich nevyužití má své časové hranice a může mít v podmínkách ČR vážné ekonomické a organizační důsledky při trvalém nárůstu každoročního počtu téměř 60.000 nových nádorů a zajištění onkologické péče pro 270.000 onkologicky nemocných. Další vývoj by neměl připustit váhání při rozhodování o ekonomické podpoře protinádorové prevence a včasné léčby u české populace na konci 20. a začátku 21. tisíciletí.

Literatura:

1. ASC: Cancer Facts & Figures 1998. Atlanta, GA: American Cancer Society, 1998, 135 p.
2. Landis, S.H., Murray, T., Bolden, S., Wingo, P.A.: Cancer statistics 1998, CA, 1998, 48, p. 6-29.
3. State cancer registries: status of authorizing legislation and enabling regulations - United States. October 1993, MMWR, 1994, 43, p. 71-75.
4. Howe H.L., Lehnerr M. (eds.): Cancer incidence in North America 1989-1994. Vol. I: Incidence. Sacramento, Calif. North Amer. Assoc. of Central Canc. Registries, April, 1997, 211 p.
5. Ries, L.A.G., Kosary, C.L. et al.: SEER cancer statistics review 1973-1994 - tables and graphs. Bethesda, Nat. Canc. Inst. 1997, NIH Publ. p. 97-2789.
6. United States Bureau of the Census: Current population reports. P-25-1095, U.S. Population estimates by age, sex, race and Hispanic origin 1980-1991. Washington, U.S. Government Printing Office, 1993.
7. Wingo, P.A., Landis, S., et al.: Using cancer registry and vital statistics data to estimate the number of new cancer cases and deaths in the United States for the upcoming year. J. Registry Management, 1998, 5, p. 43-51.
8. ÚZIS: Novotvary ČR 1995. Zdravotnická statistika. ÚZIS ČR, Praha, 1998, s. 53-63.
9. Kolcová, V., Geryk, Jechová, M.: Zhubné novotvary - Česká republika a vybrané státy. Galén, 1999, 52 s. v tisku.
10. Geryk, E.: Americký pochod proti rakovině. Klin. onkol. 1999, 12, 3, s. 111.
11. Editor: NCI's appropriation for 1999 up nearly \$ 400 million. J. Nat. Canc. Inst. 1998, 90, 22, p. 1699.
12. Editor: Excerpts of remarks by U.S. president Bill Clinton at National breast cancer awareness month event. J. Nat. Canc. Inst. 1998, 90, 22, p. 1699-1700.

ALLGEMEINE GYNÄKOLOGISCHE ONKOLOGIE

4. AUFLAGE

H. G. BENDER (ED).

URBAN UND SCHWARZENBERG, MÜNCHEN - WIEN - BALTIMORE 1999

407 str., 148 obr., 108 tab., ISBN 3-541-15104-8, cena DM 220,-

Tato kniha vycházející jako 10. svazek v ediční řadě *Klinik der Frauenheilkunde und Geburtshilfe* byla napsána za spolupráce 26 německých a dvou švýcarských odborníků. Sestává z 21 kapitol seřazených do následujících tematických okruhů (v závorce jsou temata kapitol): základy růstu nádorů (epidemiologie gynekologických nádorů, biologické a molekulární základy, včasná diagnostika), základy speciální diagnostiky nádorů (cytologická vyšetření, histologická a imunohistochemická vyšetření, sonografie, výpočetní tomografie, pozitronová emisní tomografie, zobrazování na základě magnetické rezonance, nádorové markery), výběr metod pro určité problémy (racionální preoperativní diagnostika, preoperativní a pooperativní stážování), základy onkologické léčby (operativní zákroky, obecná radioterapie, endokrinní terapie, chemoterapie, imunoterapie, genová terapie, nespecifické metody léčby), psychologické aspekty, následná péče a rehabilitace (péče o nemocné, následná péče o nemocné se zhoubnými nádory, rehabilitace a sociální pomoc). Pro ilustraci poměrně jednotné skladby kapitol zmíníme podrobněji obsah pojednání o chemoterapii z druhého tematického okruhu; skládá se z následujících odstavců (pododstavce jsou uvedeny v závorce): úvod, farmakokinetika a farmakodynamika, rezistence na chemoterapii, množství aplikované látky za jednotku času, směrnice k provádění léčby cytostatiky (cíle, posuzování výsledků, indikace, kontraindikace, informování pacientek, monitorování během léčby), formy a aplikace léčby cytostatiky (polychemoterapie, způsoby aplikace), cytostatika v gynekologické onkologii (alkylační látky, analoga platiny, antimetabolity aj.), chemomodulující látky aj.

Probírá se podrobně úloha screeningu, anamnestických údajů a klinických vyšetření pro včasné rozpoznání zhoubných onemocnění ženských genitálií a prsu. Sonografie je integrální součástí primární diagnostiky zejména nádorů prsu obtížně prokazatelných palpací, endometria a vaječnicků; dále je tato vyšetřovací metoda používána při hledání metastáz a kontrole léčby. Poměrně skepticky vyznívá v knize hodnocení diagnostického přínosu MRI pro diagnostiku zhoubných nádorů mléčné žlázy, uvádí se však, že tuto metodu čeká slibná budoucnost. Vysoká senzitivita pozitronové tomografie je výhodná při diagnostice recidiv a posuzování odezvy na léčbu. Značná pozornost je věnována úskalí při používání nádorových markerů, např. nesprávné indikace, nerealistická očekávání přínosu, nesprávná interpretace výsledků aj. Velkou nadějí pro úspěšnou léčbu nádorů je stále více uplatňovaný multimodální přístup ve spolupráci chirurgů, radiálních onkologů, odborníků na medikamentózní léčbu a patologů. Jedním z cílů výzkumu je překonání radiorezistence nádorů děložního hrdla a děložního těla. Nespecifické léčebné metody, např. dieta, rostlinné produkty, fyzikální a bioelektrické metody, psychologické postupy aj. by neměly být používány jako alternativní, nýbrž jen jako doplňující; předpokladem ovšem je, aby byla prokázána jejich účinnost a nezávadnost.

Text vyniká mimořádnou přehledností a grafickou úpravou; v textu, tabulkách, grafech a nadpisech kapitol a podkapitol se používá dvou barev - černé a červené. Dále se využívá rozdílných druhů písma v nadpisech podkapitol a v podrobných legendách k obrázkům, méně významné partie jsou tištěny menším písmem. Mimořádně důležité poznatky v rozsahu jedné věty jsou zaznamenány na okrajích stránek červeně. Každá kapitola začíná velmi podrobným obsahem, položky citované literatury jsou tištěny zcela netradičně v pěti sloupcích na každé stránce. Snímky z pozitronových tomografií a některé snímky z ultrazvukových přístrojů jsou reprodukovány barevně o vysoké kvalitě. Použitelnost této výtečné knihy je univerzální - může sloužit jako rádce onkologům a radiologům v denní praxi, učebnicový charakter ji předurčuje jako úvod do problematiky začínajícím pracovníkům i jako pomůcku v postgraduálním vzdělávání.

V ediční řadě *Klinik der Frauenheilkunde und Geburtshilfe* vyšly již *Endokrinologie und Reproduktionsmedizin* (1. až 3. svazek), *Schwangerschaft und Geburt* (4. až 7. svazek) a *Gutartige gynäkologische Erkrankungen* (8. a 9. svazek). 10. svazek, který je předmětem této recenze, je prvním ze tří svazků souboru *Gynäkologische Onkologie*; dalšími dvěma svazky bude ediční řada s výše uvedeným názvem uzavřena. V. H.

BREAST IMAGING, 2nd EDITION

KOPANS D. B.

PHILADELPHIA, LIPPINCOTT-RAVEN 1998.

896 str., 1570 obr., cena 201,- USD. ISBN 0-397-51302-X.

Zobrazování onemocnění prsu zůstává stále aktuálním námětem. Jedním z hlavních důvodů je pokračující nárůst incidence karcinomu prsu, která vzrostla z 60 žen na 100 000 obyvatel ve 40. letech na 112/100 000 v roce 1987. Ideálním řešením problematiky karcinomu prsu by byla prevence - jak ji však uskutečnit, když přesně neznáme příčiny tohoto onemocnění? Zatím je tedy důležité snažit se odhalit co nejčasnější stádia. V tom se významně uplatňují zobrazovací metody, zejména mamografie. V posledních letech se v této oblasti stále více prosazuje i ultrazvuk a také magnetická rezonance. Recenzovaná kniha je věnována především problematice karcinomu prsu, ale nejen jí. Obsahuje kompletní přehled celé oblasti zobrazování prsu včetně zobrazovacími metodami řízených intervencí. Oproti podobným knihám stejného rozsahu (téměř 900 stran velkého formátu) má jednu zvláštnost - je dílem jediného autora, pouze na dvou kapitolách se podíleli další dva spolupracovníci.

Obsah je rozdělen do 26 kapitol. V úvodních třech je popsána anatomie, histologie, fyziologie a patologie prsu a epidemiologie, etiologie, rizikové faktory a prevence karcinomu prsu. Následuje oddíl věnovaný screeningu karcinomu prsu, poté zhodnocení radiálního rizika mamografického vyšetření. Je zde zdůrazněno, že ionizační záření je jedním z rizikových faktorů vzniku karcinomu prsu, přičemž důležitou skutečností je věk v době ozáření. Zde, ale opakovaně i na dalších místech knihy, se objevuje názor autora, že mamografie je především screeningovou metodou. Proto by její použití mělo být omezeno na takové skupiny žen, u nichž se screening ukázal jako přínosný. Následují kapitoly o stážování karcinomu prsu a detekci, diagnostice a prognostických indikátorech časných stádií karcinomu prsu. Další 150 stran je věnováno mamografii. Jsou popsány nejen základní předpoklady k získání kvalitních snímků, tedy požadavky na přístroj, ale i správné pozice při snímání a především podrobně a systematicky hodnocení mamogramů. Opětovně je tu zdůrazněno, že nejdůležitější je poznání časných forem karcinomu. Podrobně jsou rozebrány typické i méně časté obrazy maligních lézí, nechybí ale ani popis jednoznačně či pravděpodobně benigních ložisek. Ultrazvukové vyšetření prsu se stalo rutinně používaným doplňkem mamografie, a proto je na tomto místě zařazena kapitola věnovaná této problematice. Následuje popis hodnocení prsů během těhotenství, laktace, po biopsiích, mastektomiích, ozařování a implantacích. 14 stran je věnováno mužskému prsu. Zatímco převážná část knihy je organizována systémem od detekce procesu k diagnóze, je 19. kapitola uspořádána odlišně - srovnává patologické, mamografické a ultrazvukové nálezy běžných i vzácnějších patologických procesů prsu. V oddíle o magnetické rezonanci prsu jsou uvedeny možnosti této techniky, která je v současnosti schopna detekovat časná stádia karcinomu i v mamograficky hutných prsech. Je to však „vykoupeno“ vysokou cenou vyšetření, na které se významně podílí nutnost podání paramagnetické kontrastní látky. Dále jsou probrány lokalizace nehmátných lézí, podán návod k řešení problematických případů a uvedeny indikace zobrazovacích metod u hmatných lézí, které jsou podle autora významně menší než jak jsou v praxi používány. Kapitola o popisech mamografických nálezu je podrobná, vychází z postupů vypracovaných „The American College of Radiology“. Poslední část naznačuje budoucí možnosti zobrazování prsu. Autor si nejvíce slibuje od digitální mamografie.

Text všech kapitol je napsán velmi srozumitelně a přehledně, je logicky uspořádan. Doplňuje jej velké množství kvalitních obrázků. V potřebných případech jsou doprovázeny názornými schématy. Kniha je určena čtenářům s různým stupněm znalostí. Je podrobnou učebnicí vhodnou pro seznámení se s možnostmi jednotlivých zobrazovacích metod a jejich hodnocením, lze ji ale výhodně využít i při řešení problémů každodenní praxe. Celým dílem se prolíná mnohokrát opakovaný názor autora, že základní zobrazovací metodou v diagnostice onemocnění prsu je mamografie, jejíž nejvýznamnější místo je v oblasti screeningu karcinomu prsu. Pro řešení diferencially diagnostických problémů zcela upřednostňuje biopsii, která je podle jeho názoru snadno proveditelnou a bezpečnou metodou. I když je kniha určena zejména radiologům, stane se jistě cenným přírůstkem v knihovně i dalších odborníků zabývajících se problematikou diagnostiky a léčby onemocnění prsu.

Adresa nakladatelství: Lippincott-Raven Publishers, 227 East Washington Square, Philadelphia, PA 19106-3780, USA. M. H.

onkologické společnosti

ZÁPIS ZE ZASEDÁNÍ VÝBORU ČOS DNE 22. 6. 1999

1. Kontrola zápisu:

- a) V prozatímní verzi doporučených postupů onkologické péče chybí nádory prostaty, ledviny, močového měchýře, čípku a těla děložního, nádory štítné žlázy, ORL oblasti a sarkomy.

Dopracování zajistí do příštího zasedání výboru:

Čípek a endometrium	Jelínková, Příbylová
Nádory urologické	Petruželka, Klener
Nádory ORL oblasti	Petruželka
Nádory štítné žlázy	Koutecký

Do příštího vydání budou zapracovány připomínky členů, standardy budou považovány za nepodkročitelné minimum onkologické péče.

- b) Proveden kvalifikovaný odhad spotřeb erythropoetinu u solidních nádorů pro kategorizační komisi – 20 milionů Kč ročně
- c) Proveden kvalifikovaný odhad spotřeby preparátu Maphthera pro kategorizační komisi – 15–20 milionů Kč ročně
- d) Koordinace činnosti regionálních odborníků pro klinickou onkologii a radioterapii – přesunuto na příští jednání

2. Návrh koncepce onkologických pracovišť

Výbor projednal koncepci onkologických pracovišť s rozdělením na pracoviště I. a II. typu. Na dotaz doc. Žaloudíka, zda je Masarykův onkologický ústav přihlášen do výběrových řízení, jako zařízení, jako zařízení celostátní nebo jako zařízení jihomoravského kraje, odpověděl výbor, že jako zařízení jihomoravského kraje. Dále doc. Žaloudík upozornil, že v síti onkologických zařízení je dvakrát tolik pracovišť, než byla projednávána. Výbor uvedl, že k výběrovým řízením jsou přijata zařízení, jejichž ředitelé tato pracoviště přihlásili. Výbor navrhuje:

- I) Návrh vybraných diagnóz a léčebných postupů, které by měly být řešeny výhradně v centrech I. typů. (důvod: komplexní léčebný postup s potřebou vysoce erudované podpůrné péče a koncentrace léčby sporadicky se vyskytujících nádorů.

A) Chemoterapie s kurativním záměrem:

1. Testikulární nádory (diagnostika a terapeutické rozhodnutí)
2. Trofoblastická nemoc
3. Maligní lymfomy (diagnostika a terapeutické rozhodnutí)

B) Adjuvantní chemoterapie

Vysoce rizikové nemocné s karcinomem prsu mladšího věku

C) Vzácně se vyskytující tumory:

1. Thymomy
2. Nádory nadledvin
3. Karcinoid – metastazující a hormonálně aktivní

D) specializované léčebné postupy:

1. vysokodávkovaná nemyeloablační chemoterapie
2. konkomitantní chemoterapie (nádory hlavy a krku, plic, čípek děložní)
3. Biochemoterapie (karcinom ledviny, maligní melanom)
4. regionální chemoterapie
5. sarkomy
6. nádory štítné žlázy

3. Stížnosti na postupy non lege artis – došlo málo připomínek, bude vyčkáno do příštího zasedání výboru ČOS.

4. Korespondence

- a) MUDr. Špírek Mzd – mezioborové centrum pro výzkum a léčbu rakoviny, vzhledem k nevyjasněným ekonomickým podmínkám výstavby výbor nedoporučuje (Klener)
- b) MUDr. Čuřínová – studie s protilátkou proti nádorovým buňkám karcinomu prsu – výbor byl prof. Klenerem seznámen s metodickými chybami v protokolu – rozhodnutí o povolení studie je na Mzd ČR.

5. Do soutěže o Cenu Onkologické společnosti za rok 1998 přišly tři práce:

MUDr. Příbylová O. a kol.: Srovnání adjuvantní chemoterapie karcinomu prsu kombinací cyklofosfamid, metotrexat, 5-fluorouracil (CMF) a AC (doxorubicin, cyklofosfamid). První výsledky národní kooperativní studie. Klener P., Vorlíček J. et al.: Podpůrná léčba v onkologii Lemeš P., Marešová J.: Efficacy of Dexrazone as a Cardioprotective agent in Patients Receiving Mitoxantrone- and Daunorubicin – Based Chemotherapy.

Výbor navrhuje:

Na cenu ČLS: Klener P., Vorlíček J. et al – Podpůrná léčba v onkologii – monografie

Na cenu ČOS: Příbylová O. a kol. – práce je ceněna jako úspěšný výsledek první národní kooperativní studie, na které se podílelo 10 pracovišť z celé ČR.

Výbor navrhuje na cenu společnosti JEP následující práce: Klener Příbylová

6. Výbor projednal záštitu nad seminářem organizovaným prof. Jirsou: Fotodynamická diagnostika a terapie a záštitu převzal. Seminář je plánován 3. 11. 1999 v Lékařském domě.

7. Výbor vzal na vědomí hlášení neobvyklých vedlejších reakcí po CDDP. Řešit bude SÚKL.

8. Chirurgická sekce v rámci onkologické společnosti – pokračují přípravné práce (Žaloudík).

9. NOR připravuje publikaci zhoubné novotvary v ČR v porovnání s vyspělými státy. Výbor vzal na vědomí.

10. Historie ČOS výbor schválil bude odesláno na ČLS JEP.

11. Přijati noví členové: Dvořák Josef, Šmakal Martin, Vykoukal Jan.

12. MUDr. Petr Seidl z firmy ASTRA ZENECA prezentoval návrh projektu výroby, technického a finančního zabezpečení [www.stranky ČOS](http://www.stranky.cos). Prof. Klener bude kontaktovat ČLS JEP v otázce delegace právní subjektivity na ČOS a možnosti uzavření partnerského vztahu mezi ČOS a firmou.

13. Další zasedání výboru ČOS se uskuteční 31. 8. 1999 v 10 hod. na I. interní klinice VFN.

Za výbor ČOS:

Prof. MUDr. Pavel Klener, DrSc., předseda ČOS

Doc. MUDr. Luboš Petruželka, CSc., vědecký sekretář ČOS