

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 SPOLEČNOSTI

THE JOURNAL OF THE CZECH AND SLOVAK
ONCOLOGICAL SOCIETIES

VEDOUcí REDAKTOR: REJTHAR ALEŠ

ZÁSTUPCE VEDOUcíHO
REDAKTORA: KOZA IVAN
VÝKONNÝ REDAKTOR: FAIT VUK

REDAKTOŘI:

BEDNAŘÍK OTAKAR	SHEARD MICHAEL
MAYER JIŘÍ	KOCÁK IVO
ČOUPEK PETR	NĚMEC JAROSLAV
	ŽALOUĐÍK JAN

REDAKČNÍ RADA

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

Přehled

Kala M., Cwiertka K., Hajdúch M. Nové trendy v chemoterapii nádorů mozku- obecné aspekty	103
Kala M., Cwiertka K., Hajdúch M. Nové trendy v chemoterapii nádorů mozku- léčba dle histologických diagnóz	107
Štěrba J. Některé aktuální aspekty chemoterapie maligních nádorů centrálního nervového systému u dětí	112
Coufal O., Žaloudík J., Maláska J., Vyzula R. Tamidylát syntáza a její význam v prediktivní onkologii	116
Původní práce	
Tomaškin R., Eliáš B., Kliment J. Klinický význam prostatického specifického antigenu (PSA), alkalické fosfatázy (ALP), stupňa diferenciácie nádorových buniek a lokálneho klinického štádia při predpovedi kostných metastáz u pacientov s novozisteným karcinómom prostaty	122
Anton M., Lukáš Z., Nenutil R., Rejthar A., Vojtěšek B. Srovnání detekce HPV infekce u karcinomu děložního čípku pomocí hybridizace in situ a imunohistochemického průkazu papilomavirového proteinu E6	126
Javorka K., Švihra J., Lupták J., Eliáš B., Kliment J. Hodnotenie kvality života po transrektálnej biopsii prostaty pod ultrazvukovou kontrolou a jej komplikácie	131
Sdělení	
Regner B. Neuronové sítě a jejich využití v onkologii	134
Zprávy	
Fait V., Vagunda V. XXX setkání WHO melanoma Group 26.5.2000, Szeged	136
Jubileá	
Informace	
- omluva	106
- knihy	121, 125
- pozvánka	130
Onkologické společnosti	139

CONTENTS**Reviews**

Kala M., Cwiertka K., Hajdúch M. New trends in chemotherapy of the brain tumors – general aspects	103
Kala M., Cwiertka K., Hajdúch M. New trends in chemotherapy of the brain tumors – treatment according to tumor types	107
Štěrba J. Some actual issues in chemotherapy of brain tumors in children	112
Coufal O., Žaloudík J., Maláska J., Vyzula R. Thymidylate synthase and its significance in predictive oncology	116
Original Papers	
Tomaškin R., Eliáš B., Kliment J. Clinical value of prostate specific antigen (PSA), alkaline phosphatase (ALP), tumor grade and local clinical stage in predicting bone metastases in new patents diagnosed with prostate cancer	122
Anton M., Lukáš Z., Nenutil R., Rejthar A., Vojtěšek B. HPV detection in cervical carcinoma – an in situ hybridisation of DNA compared to HPV E6 protein immunohistochemistry	126
Javorka K., Švihra J., Lupták J., Eliáš B., Kliment J. Quality of life patients undergoing ultrasound guided transrecta biopsy of prostate	131
Notification	
Regner B. Neural networks	134
Reports	
Fait V., Vagunda V. XXX W.H.O. Melanoma group review meeting, Szeged, 2000 May 26	136
Jubilee	
Information	
- plea	10
- book	121, 125
- invitation	130
Oncological societies	139

NOVÉ TRENDY V CHEMOTERAPII NÁDORŮ MOZKU - OBECNÉ ASPEKTY

NEW TRENDS IN CHEMOTHERAPY OF THE BRAIN TUMORS - GENERAL ASPECTS

¹KALA M., ²CWIERTKA K., ³HAJDŮCH M.

¹ NEUROCHIRURGICKÁ KLINIKA FN, OLOMOUC

² ONKOLOGICKÁ KLINIKA LF UP A FN, OLOMOUC

³ LABORATOR EXPERIMENTÁLNÍ MEDICÍNY, DĚTSKÁ KLINIKA LF UP A FN, OLOMOUC

* KORESPONDUJÍCÍ AUTOR, NEUROCHIRURGICKÁ KLINIKA FN OLOMOUC, I.P.PAVLOVA 6, 775 20 OLOMOUC

Souhrn: Autoři podávají přehled současných možností chemoterapie nádorů mozku, která má vzhledem k hematoencefalické bariéře svou specifickou problematiku. Uvedeny jsou studie zabývající se osmotickým a farmakologickým ovlivněním hematoencefalické bariéry, které však dosud nedoznaly širšího uplatnění, ale jsou předmětem dalších studií. Posuzování účinnosti chemoterapeutik testováním in vitro je stále diskutovanou otázkou. V chemoterapii nádorů mozku lze předběžně vyšetření chemorezistence in vitro pokládat za užitečné, i když s jistými výhradami.

Klíčová slova: maligní nádory mozku, chemoterapie

Summary: The paper deals with current possibilities of brain tumour chemotherapy. The problems associated with the hematoencephalic barrier and multidrug resistance of tumour cells to current anticancer compounds are analysed in detail. The studies focused on the osmotic and pharmacologic disruption of hematoencephalic barrier are discussed. Although these treatment approaches have been intensively studied, their clinical application remains controversial. The other part of the paper focuses on the prediction of tumour response to chemotherapy according to the responses of the patient's tumour cells to anticancer compounds in vitro.

Key words: malignant brain tumours, astrocytoma, glioblastoma, oligodendroglioma, primary nervous system lymphoma, chemotherapy.

Hematoencefalická bariéra a možnosti jejího překonání

Hematoencefalická bariéra je významným faktorem ovlivňujícím účinnost chemoterapeutik v léčbě nádorů mozku. (Krola, Neuwelt, 1998). Anatomickým základem hematoencefalické bariéry byly dle původních představ výběžky astrocytů, teprve v 60. letech byla přiznána rozhodující role specifickému mezibuněčnému spojení mezi endoteliálními buňkami kapilár (v anglickém jazyce označeno jako „tight junctions“). Význam má rovněž lamina basalis.

Průnik chemických látek přes hematoencefalickou bariéru závisí na jejich rozpustnosti v tucích, molekulové hmotnosti a elektrickém náboji. Normální hematoencefalická bariéra brání průniku ionizovaných ve vodě rozpustných molekul s vyšší molekulovou hmotností než je 180Da. (Běžně používaná chemoterapeutika však mají molekulovou hmotnost v rozmezí 200-1200Da.) Jejich průnik přes fyziologicky fungující hematoencefalickou bariéru je tedy značně ztížen. Přitom je známo, že přes hematoencefalickou bariéru procházejí i některé velké molekuly např. insulin a transferin pomocí aktivní endocytózy závislé na specifických receptorech. Albumin a některé další bílkoviny procházejí pasivní endocytózou bez vazby na specifické receptory. Jejich průnik tedy neprobíhá přes mezibuněčné spoje, ale přes endoteliální buňky.

V souvislosti s chemoterapií bývá užíváno i termínu hematoencefalicko-nádorová bariéra (blood-brain tumor barrier) (Zlokovic a Apuzzo, 1998), která je ve srovnání s cévami normální mozkové tkáně pokládána za poměrně propustnou. Cévní permeabilita je odlišná u různých typů nádorů a dokonce i u jed-

notlivého konkrétního nádoru se vyznačuje značnou heterogenitou. Pro chemoterapii je rozhodující permeabilita cév v periférii anebo v těsné blízkosti nádoru, což je oblast, která odpovídá za jeho růst. U rychle rostoucích nádorů je však významná cévní permeabilita i v jeho centru a to do doby, než centrum zněkrotizuje.

Otevření cévní bariéry mozku je možno dosáhnout několika způsoby. Jedním z nich je transitorní osmotické ovlivnění endoteliálních buněk intraarteriální aplikací hypertonického roztoku, nejčastěji manitolu (tzv. BBBB - blood-brain barrier disruption) (Rapoport a spol., 1972, 1980).

Po intraarteriálním podání manitolu dochází nejen k svrštění endoteliálních buněk, ale rovněž k ovlivnění biochemických pochodů v nich. Nicméně větší dostupnost hematoencefalické bariéry při provádění chemoterapii vede rovněž ke zvýšené toxicitě v důsledku větší koncentrace chemoterapeutik v normální mozkové tkáni. Další možné ovlivnění hematoencefalické bariéry je farmakologické, kdy se uplatní zejména bradykinin, histamin, leukotrien C4, interferon beta a tumor necrosis factor alfa. Tyto látky působí jak na hematoencefalickou tak na hematoencefalicko-nádorovou bariéru. Bradykinin při podávání do vnitřní krkavice zvyšuje selektivně dostupnost hematoencefalicko-nádorové bariéry již v malých dávkách (Inamura a Black 1994). Testován je selektivní agonista bradykininu B2 nazvaný RMP-7 (Inamura a spol., 1994; Matsukado spol., 1996), firemní produkt má název CEREPOR. Působí zejména na hematoencefalicko-nádorovou bariéru a hematoencefalické bariéře zachovává její původní vlast-

nosti. RMP7 je rezistentní vůči enzymům degradujícím bradykinin.

Přestože je hematoencefalická bariéra různým způsobem narušena právě vlivem přítomnosti mozkového nádoru, zůstává zejména v oblasti kde nádor nejvíce proliferuje dostatečně funkční, aby zabránila či omezila průnik cytostatik.

Je všeobecně známo, že některé maligní gliomy a také primární maligní lymfomy mozku nevykazují při vyšetření výpočetní tomografií postkontrastní syčení. Rovněž pokud dochází v důsledku léčby k regresi nádoru, propustnost hematoencefalické bariéry se nadále snižuje (Ott a spol., 1991).

V pokusech na krysách bylo prokázáno (Rapoport a spol., 1980), že osmotické otevření hematoencefalické bariéry dosahuje po intraarteriální infuzi hypertonického manitolu maxima po 5-15 minutách, poté dochází k rychlému poklesu permeability a k úplné úpravě k normě do 2 hodin. Manitol v intraarteriální aplikaci byl testován již i v klinických pokusech.

Platí, že cévní permeabilita velmi kolísá mezi různými oblastmi mozku a že otevření hematoencefalické bariéry v nádoru je obtížnější než otevření hematoencefalické bariéry v ipsilaterálním kortexu. Otevření hematoencefalické bariéry rovněž zvyšuje průnik chemoterapeutika do perivaskulárního Virchow-Robinova prostoru a tedy i do likvoru. Nabízí se tedy, že takto prováděná chemoterapie dosáhne vysoké koncentrace léku jak v likvoru, tak v perivaskulárním prostoru a je tedy vhodné zvážit tuto formu chemoterapie před intratékální chemoterapií u nemocných s pozitivním cytologickým nálezem v likvoru.

Selektivní ovlivnění hematoencefalicko-nádorové bariéry se jeví jako výhoda, ale u nádoru typu maligního gliomu anebo u vícečetných metastáz lze vzhledem k charakteru růstu těchto nádorů očekávat větší přínos od ovlivnění hematoencefalické bariéry, což však má svá omezení vzhledem k zmíněné vyšší toxicitě (Williams a spol., 1995).

Efekt bradykininu a RMP-7 v různých pokusech velmi kolísá, závisí zejména na typu nádoru, ale i typu anestezie (Kroll a spol., 1998).

Dle Krolla a Neuwelta, kteří provedli metaanalytické porovnání výsledků některých studií jiných autorů vede radioterapie provedená před chemoterapií s otevřením hematoencefalické bariéry k horším výsledkům, než provedení pouze chemoterapie s otevřením hematoencefalické bariéry bez radioterapie.

Provádění radioterapie před chemoterapií vede k vyšší toxicitě (neurotoxicitě), což se projevuje vyšším výskytem leukoencefalopatie, zejména pak u dětí s hemoblastomy, které jsou po ozáření léčení methotrexatem. Rovněž se předpokládá, že i dospělí nemocní s primárním nádorem mozku léčení zářením před chemoterapií s otevřením hematoencefalické bariéry mají horší prognózu (Dahlborg a spol., 1996).

Podobně i řada pokusů na zvířatech prokazuje delší přežívání u zvířat léčených chemoterapií s otevřením hematoencefalické bariéry bez následné radioterapie než u zvířat, u kterých před takto provedenou chemoterapií bylo provedeno ozáření (Remsen a spol., 1997).

Vzestup cévní permeability po intraarteriální aplikaci manitolu je výrazný zejména v oblastech mozku zásobených cévami s dobře fungující hematoencefalickou bariérou, zatímco u cév např. maligního gliomu, jehož cévy jsou vysoce permeabilní, není již další zvýšení permeability tak markantní a koncentrace chemoterapeutika je blízka koncentraci po intraarteriální chemoterapii. (Zünkeler a spol., 1996).

Další zkoumanou možností podávání chemoterapie spočívá v užití konjugátu monoklonální protilátky s enzymem potřebným k aktivaci protinádorového léku. V prvé řadě je aplikován tento konjugát, který se naváže na nádorové buňky (stačí na některé). Poté je aplikován „prodrug“, který je relativně málo toxický. Enzym konvertuje „prodrug“ do aktivní formy, což se však odehrává zejména v oblasti výskytu nádoru. Tím je do značné míry snížena celková toxicita aktivní formy léku.

Jsou již známy řady enzymů, které mohou aktivovat různá chemoterapeutika a lze je tudíž v tomto léčebném postupu použít (Kroll a Neuwelt, 1998).

Pro léčbu nádorů mozku chemoterapií s využitím BBBD vznikl v USA národní program, který je řízen z Oregonu (Kroll a Neuwelt, 1998). Léčebné protokoly zahrnují nitrožilní a intraarteriální chemoterapii prováděnou při BBBD. National BBBD Program zahrnuje tři protokoly:

1. methotrexat, cyklofosfamid a etoposid (MTX tridrug),
2. karboplatina, cyklofosfamid, etoposid (carboplatin tridrug),
3. MTX a cyklofosfamid

MTX, karboplatina a etoposid jsou aplikovány intraarteriálně, cyklofosfamid pak nitrožilně. Léčba různých druhů nádorů probíhá podle následujícího schématu:

- Nemocní s primárním lymfomem mozku jsou léčeni MTX tridrug.
- Nemocní s primitivním neuroektodermálním nádorem, germ cell nádorem, gliomy a metastázami jsou léčeni trojkombinací s karboplatinou.
- Kombinace MTX s cyklofosfamidem je vyhrazena pro vysokostupňové gliomy.

Úlohu radioterapie a rovněž vhodnost jejího provedení před či po chemoterapii bude nutno ještě posoudit, k čemuž vlastně mj. National BBBD Program slouží. National BBBD Program však nebude schopen odpovědět na otázku, zde je lepší chemoterapie s BBBD anebo bez BBBD a to z toho důvodu, že skupina nemocných léčených bez BBBD není do programu zařazena. Určité pochybnosti o významu BBBD v chemoterapii mozkových nádorů tedy zůstanou.

Možnosti předběžného posouzení účinnosti chemoterapie.

Klíčovým problémem protinádorové chemoterapie je odhad její účinnosti v eradikaci nádoru a současné míry její toxicity pro pacienta. Není zcela zřejmé, proč jeden pacient reaguje na standardní dávku projev systémové toxicity, proč jiný pacient odpovídá na chemoterapii, a další, při stejné dávce a typu nádoru nikoliv. Příčiny variability v odpovědi na cytostatickou léčbu můžeme v zásadě rozdělit do dvou skupin: závislé od nádoru a závislé od hostitele. Z faktorů závislých od hostitele se uvádějí: věk nemocného, jeho pohlaví, renální a jaterní funkce, vazebná kapacita plazmatických proteinů pro cytostatika, souběžná léčba jinými medikamenty a farmakogenetická výbava nemocného. Úspěšnost chemoterapie ovlivňují také vlastnosti samotného nádoru: typ nádoru, jeho velikost a lokalizace, agresivita, metastatická aktivita, předchozí léčba, hladina biologických markerů nádorové nemoci a farmakogenetický fenotyp samotného nádoru. I když se v posledních letech dosáhlo významného pokroku v identifikaci faktorů odpovědných za variabilitu ve farmakoterapii nádorů, většina z nich zůstává neznámá. Jejich identifikace a další výzkum v této oblasti je motivován snahou o individualizaci léčebného protokolu s cílem zvýšit odpovídavost nádoru při menší systémové toxicitě.

Schopnost nádorových buněk odolávat účinkům cytotoxických látek je jednou nejzávažnějších komplikací protinádorové léčby (Mihál a spol., 1995-99, Hajdúch a spol., 1996). Nejdůležitější příčinou selhání je léková rezistence. Předpokládá se, že tento fenomén určuje prognózu nemocného, doposud však bylo získáno jen omezené množství znalostí o klinických formách a mechanismech lékové rezistence u různých zhoubných nemocí. Studium klinické lékové rezistence bylo podníceno zavedením cytotoxických in vitro testů, jako je MTT test (Mihál a spol., 1995, 1996, 1997, 1999, Hajdúch a spol., 1996), které lze aplikovat na většinu vzorků obsahujících nádorové buňky. Rovněž byly rozpoznány klíčové mechanismy nádorové rezistence, které spočívají v 1) regulaci exprese membránových transportérů nadaných schopností pumpovat cytostatikum z nádorové buňky extracelulárně (P-glykoprotein 170, MRP, LRP), 2) inhibici exprese cílových enzymů na které se cytostatika vážou (topoizomeraza I a II,

dihydrofolát reduktáza), 3) mutaci/modifikaci cílových proteinů ve vazebných místech pro cytostatika (tubuliny, dihydrofolát reduktáza, topoizomeraza I a II), 4) zástavě buněčného cyklu nádorových buněk ve fázi snížené citlivosti k chemoterapii (obvykle G_0, G_1), atd. I když bylo prokázáno, že in vitro rezistence nádorové populace na cytostatika zjištěná MTT testem vykazuje vysokou korelaci s klinickou odpovědí nemocných (Mihál a spol., 1996, 1997, 1999), v klinické praxi se tento postup zatím rutinně neujal. Navíc, cílená léčba dle in vitro testů byla v řadě studií prokazatelně úspěšnější než standardní léčebné protokoly.

Von Hoff (1990) se zamýšlí nad příčinou, která vede k ignorování výsledků testů na chemorezistenci in vitro, které se kupodivu nestaly součástí rutinních diagnostických postupů. Při zpracování velkého množství publikací, zahrnujících 2300 nemocných zjišťuje, že u 69 % nemocných byla zjištěna citlivost in vitro i in vivo a u 91 % nemocných, kteří in vitro prokazovali chemorezistenci byla tato rezistence zjištěna i při léčbě. (Testy in vitro byly prováděny metodou capillary cloning assay.) Autor pokládá dnes již běžné vyšetření citlivosti na antibiotika za přibližně stejně přesné a z toho důvodu označuje ignorování testů chemorezistence in vitro doslova za hanbu. **Ignorování testů vychází ze skutečnosti, že do současné doby nebyla publikována žádná prospektivní randomizovaná studie, která by jednoznačně dokazovala, že respektování výsledku testu rezistence/senzitivity in vitro při výběru cytostatik zvyšuje procento odpovědí na léčbu a prodlužuje přežití nemocných. Současně přibývají publikace (Xu a spol., 1999, Norgard a spol., 1999, Taylor a spol. 1998 a další), které poukazují na přínos testování rezistence na cytostatika in vitro pro klinickou praxi. Všichni autoři však upozorňují na nutnost dalšího ověření v rámci kontrolovaných klinických studií. Z tohoto důvodu je vhodné, aby nemocní, u kterých je dostupné stanovení rezistence in vitro byli zařazováni do takovýchto studií. Zároveň je třeba varovat před nekritickým využíváním této metody v klinické praxi.**

Je prokázáno, že chemosenzitivita je velmi variabilní i u stejného histologického typu nádoru (Barranco a spol., 1973), což vysvětluje různou léčebnou odpověď. Tato skutečnost je známa již mnoho let. Přispěly k tomu práce celé řady badatelů (Gazso a Afra, 1969; Mealey a spol., 1974; Kornblith a Szypko, 1978; Easty a Wylie, 1963; Rosenblum a spol., 1982; Bullard a spol., 1981).

Thomas a spol. prokázal v roce 1985, že nemocní, jejichž gliomové buňky byly chemosenzitivní vůči prokarbazinu (PCB) anebo CCNU in vitro měli po provedení chemoterapii lepší prognózu než nemocní jejichž nádorové buňky (gliom) byly rezistentní vůči těmto dvěma nebo alespoň vůči jednomu z uvedených chemoterapeutik. Práce skupiny kolem Thomase je jasnou pobídkou k tomu, aby se vyšetřování chemosenzitivity in vitro stalo součástí diagnostického a léčebného plánu pro každého nemocného postiženého maligním gliomem. Nejsou dosti jasné důvody, proč se to dosud nestalo pravidlem.

Chemosenzitivita in vitro má pravděpodobně svůj vztah i k biologické malignitě gliomu označené stupněm (grade) III anebo IV. Buněčné kultury připravené z nádorů grade III byly častěji senzitivní k prokarbazinu anebo CCNU než kultury připravené z nádorů označených grade IV (Bloom, 1982; Levin a spol., 1980; Thomas a spol., 1985). Práce Rosenbluma (1982) nachází vyšší citlivost vůči derivátům nitrosourey in vitro u nádorových buněk pocházejících od nemocných mladšího věku, totéž zjistil Thomas a spol. (1985).

Kimmel a spol. (1987) shrnují veškeré výhody a nedostatky testování chemorezistence maligních gliomů ve své přehledné práci. Pokládá za nutné další studie a vzhledem k určitým limitům testů in vitro předpokládá velký přínos experimentů prováděných na zvířatech.

Je známou skutečností, že dokonce buněčné klony získané z jedné biopsie prokazují různou chemosenzitivitu, jak to pro-

kázal např. Yung a spol. (1982). Tato diference platí nejen pro citlivost vůči PCB, CCNU a vinkristinu, ale vztahuje se například i na adriamycin, bleomycin, 5-fluorouracil a další cytostatika.

Nitronádorová chemoterapie

Jednou z možností jak dosáhnout vysoké koncentrace farmaka v mozkové tkáni je jeho přímá intracerebrální aplikace. Tato cesta je zkoumána rovněž pro podávání velkých molekul imunotoxinů či pro přenos genetické informace pomocí virů. Pokusy jsou zatím prováděny na zvířatech a onkologické diagnózy jsou samozřejmě na prvním místě (Laske a spol., 1994; Oldfield a spol., 1993).

Nitronádorová chemoterapie má v léčbě nádorů mozku zřejmě velmi dobrou perspektivu. Tento způsob aplikace chemoterapeutik dovoluje obejít hematoencefalickou bariéru a tak docílit poměrně vysokou a dlouhodobou koncentraci farmaka v nádorové tkáni a to bez nepříznivých systémových účinků. Metod nitronádorové aplikace bylo v klinické praxi vyzkoušeno několik. Nejjednodušší metodou je zavedení katetru do nádorové tkáně, kdy periferní konec katetru je vyveden zevně. Výrazně menší riziko zánětlivých komplikací představuje nitronádorová chemoterapie prováděná prostřednictvím do podkoží implantovaných rezervoárů anebo pump. Další z možností je aplikace chemoterapie do lůžka nádoru po provedené exstirpaci v podobě biodegradabilních polymerů, které slouží jako nosič pro cytostatika (Walter, 1995; Brem, 1995). Jejich jedinou nevýhodou je, jak se zdá, pouze fakt, že jejich náplň není obnovitelná bez další chirurgické intervence. Existuje však možnost použití polymerů ve formě mikrosfér, které lze aplikovat stereotakticky, tedy minimálně invazivní operační metodikou (Meney a spol., 1994).

V podávání chemoterapie přímo do nádoru je nutno důsledně vyřešit tyto problémy:

- optimalizovat výběr chemoterapeutika, eventuálně zařadit do testování látky nové s vyšší účinností,
- zjistit optimální koncentraci podávaného cytostatika,
- zajistit dlouhodobé uvolňování cytostatika a tím dostatečnou koncentraci v tkáni na dobu nezbytně nutnou v závislosti na biologických vlastnostech nádorové tkáně,
- docílit dostatečnou penetraci cytostatika do tkáně,
- zvážit možnost použití kombinací cytostatik,
- posoudit přínos v kombinaci se systémovou chemoterapií,
- vhodnost a časování radioterapie, využití inhibitorů angiogeneze apod.

Práce Waltera a spol. (1995) sumarizuje četné experimentální a klinické studie zahrnující většinou malé počty nemocných navíc různých histologických diagnóz. Ne všechny výsledky jsou úplně přesvědčivé a nenaplní zcela očekávání, které bylo do lokální chemoterapie vkládáno. Lokální chemoterapie je postupem logickým a po zvážení všech parametrů (překonání hematoencefalické bariéry apod.) by bylo možno očekávat léčebné výsledky výrazně lepší než je tomu u chemoterapie systémové. Zbývá však mnoho problémů, které budou vyžadovat dořešení aby byla lokální chemoterapie skutečným a plně přesvědčivým přínosem. Mezi chemoterapeutika lokálně podávaná patří: BCNU, methotrexat, 5-fluorouracil, mitomycin C, adriamycin, taxol a doxorubicin. (Nierenberg a spol., 1991; Partheni a spol., 1998; Walter a spol., 1995).

Preparát Gliadel wafer obsahuje 7,7mg BCNU v jedné oplatce a byl schválen americkou Komisí FDA pro terapii recidivujícího maligního gliomu. Olivi a spol. prokázal, že lze bez komplikací a bez známek toxicity pacientům aplikovat lokálně velmi vysoké dávky BCNU. Přínos pro terapii však zůstává nejasný, posuzována byla zatím jen event. toxicita.

Lokálně aplikovaný BCNU dosahuje vysokou koncentraci v okolní tkáni, kdy ve vzdálenosti 4 cm lze očekávat terapeutické množství do 24 hodin po aplikaci. Tato vlastnost je vzhledem k charakteru růstu intracerebrálních nádorů velmi významná (Fung a spol., 1998).

Subach a spol. (1998) reoperoval 2 skupiny nemocných pro recidivu glioblastomu. U nemocných, kterým byl při reoperaci implantován BCNU wafer bylo prokázáno větší množství komplikací, zejména infekčních a poruchy hojení a překvapivě výrazně kratší doba přežití. Tato studie však může být nereprezentativní neboť v souboru nemocných s implantací BCNU wafer byl o deset let vyšší průměrný věk a rovněž klinický průběh choroby u nemocných s implantovaným chemoterapeutikem byl zřetelně agresivnější.

Valtonen a spol. (1997) poprvé aplikoval Gliadel při primární operaci maligního gliomu, který byl během operace ověřen histologicky. Léčeno bylo celkem 27 nemocných s gliomem grade IV, z nichž nemocní po aplikaci Gliadelu přežívali v průměru 53,3 týdne ve srovnání s kontrolní skupinou, která přežívala v průměru 39,9 týdne. Použit byl polyanhydrid obsahující 3,85% BCNU což odpovídá 7,7mg BCNU pro jeden oplatek. Pro jednoho nemocného bylo užito až 8 oplatek tj. maximální dávka činila 61,6mg BCNU. Všichni nemocní ať léčeni BCNU anebo po aplikaci placebo prodělali radioterapii. BCNU je dosud jediné cytostatikum dostupné v kombinaci s biodegradabilním polymerem.

Lokální aplikace BCNU na nosiči z biodegradabilního polymeru do mozkové metastázy karcinomu prsu v experimentu na myších vedla k výrazně delšímu přežívání (Ewend a spol., 1998). Stejným způsobem aplikovaná karboplatina anebo camptothecin uvedených výsledků nedosáhly. Uvedený efekt BCNU je velmi slibný, nelze však zapomenout na skutečnost, že v klinické praxi má zhruba polovina nemocných s uvedenou diagnózou mnohočetné mikrometastázy, podobně je tomu u karcinomu plic a maligního melanomu.

Nakagawa a spol. prováděl lokální terapii 5-fluoro-2'-deoxyuridinem přes Omayu rezervoár. Aplikace byla prováděna denně, v průměru bylo provedeno u jednoho nemocného 28 aplikací a to pro různé diagnózy zahrnující glioblastom, metastázy

a anaplastický astrocytom. Z 12 nemocných tohoto různorodého souboru bylo dosaženo kompletní či parciální odpovědi anebo stabilizace stavu u 2/3. (U 3 nemocných kompletní odpověď). Tyto výsledky jsou velmi slibné a vyžadují další ověření. Snášenlivost byla rovněž velmi dobrá.

V experimentu bylo prokázáno, že nitronádorová aplikace methotrexatu do gliomu mozku u krys zlepšuje prognózu a vede k delšímu přežívání (Zeller a spol., 1990). Obdobné zkušenosti byly získány s bleomycinem, který byl již zkoušen i v klinické praxi (Morantz a spol., 1983), podobně byl testován 5-FU (Oda a spol., 1985) a adriamycin (Itoh, 1980), rovněž v klinické praxi. Obdobně byla a je testována cisplatina a karboplatina (Olivi a spol., 1993, 1996).

Karboplatina je pokládána za ideální cytostatikum k lokální aplikaci, je to alkylační látka ve vodě rozpustná. Je méně neurotoxická než cisplatina, ale systémové podání je zatíženo výraznou myelotoxicitou. V experimentu na krysách byly při lokální aplikaci získány dobré zkušenosti s terapií gliomu, výsledky s léčbou metastáz karcinomu prsu u myší však léčebný efekt neprokázaly (Ewend a spol., 1998).

Camptothecin je inhibitor topoizomerázy I, který má výraznou protinádorovou aktivitu. Jeho systémové podání je u nádorů mozku bez efektu, ale byly získány slibné výsledky v léčbě gliosarkomu krys (Weingart a spol., 1995) při lokální aplikaci. Podobný způsob léčby mozkových metastáz karcinomu prsu u myší však očekávaný efekt nepřinesl (Ewend a spol., 1998).

Walter a spol. (1995) zdůrazňuje, že lokální chemoterapie by měla být založena na zjištění chemosenzitivity in vitro, které pokládá spolu s jinými autory (Nikkhah a spol., 1992; Tonn a spol., 1994) za velmi přínosné. V případě recidivy nádoru by mělo být vyšetření na chemorezistenci opakováno.

Literatura je souborně uvedena v závěru následujícího článku.

omluva

Omlouváme se tímto za tiskovou chybu vzniklou při prezentaci údajů v produktu AISLP, platného v době od 1. ledna do 31. března 2000. Jednalo se o chybné použití článku publikovaného prof. MUDr. Klenerem pro přípravek TAXOL v roce 1994 u přípravku PAXENE. Tento přípravek je již v současné době řádně registrován, a to **výlučně pro indikaci léčby**

Kaposiho sarkomu po selhání léčby liposomálními antracykliny. Údaje, které byly v článku použity, se týkají výlučně přípravku TAXOL, a proto nelze data uváděná v kompendiálních člancích použít pro jiný přípravek.

Děkují za pochopení

RNDr. Bohuslav Škop, CSc.

NOVÉ TRENDY V CHEMOTERAPII NÁDORŮ MOZKU - LÉČBA DLE HISTOLOGICKÝCH DIAGNÓZ

NEW TRENDS IN CHEMOTHERAPY OF THE BRAIN TUMORS - TREATMENT ACCORDING TO TUMOR TYPES

¹KALA M., ²CWIERTKA K., ³HAJDÚCH M.

¹ NEUROCHIRURGICKÁ KLINIKA FN, OLOMOUC

² ONKOLOGICKÁ KLINIKA LF UP A FN, OLOMOUC

³ LABORATOŘ EXPERIMENTÁLNÍ MEDICÍNY, DĚTSKÁ KLINIKA LF UP A FN, OLOMOUC

* KORESPONDUJÍCÍ AUTOR. NEUROCHIRURGICKÁ KLINIKA FN OLOMOUC, I.P.PAVLOVA 6, 775 20 OLOMOUC

Souhrn: Jsou uvedeny základní údaje o využití chemoterapie v hlavních nádorových skupinách - u astrocytomů včetně multiformního glioblastomu a u oligodendrogliomů. Zejména u nádorů s oligodendrogliální složkou se chemoterapie ukazuje být zvláště přínosná. Pozornost je věnována i chemoterapeutickým postupům v léčbě primárního maligního lymfomu mozku. Průnik chemoterapeutik do mozkové tkáně lze zvýšit nitronádorovou aplikací chemoterapeutik. Dosud byl zkoumán efekt této terapie při aplikaci různých preparátů, z nichž se zatím v zahraničí významněji rozšířil pouze jediný - Gliadel (BCNU).

Klíčová slova: maligní nádory mozku, astrocytom, glioblastom, oligodendrogliom, maligní lymfom CNS, chemoterapie

Summary: Summarised information on the role of chemotherapy in the major brain tumour groups is reported: I. astrocytomas including glioblastoma multiforme, II. oligodendrogliomas and III. primary brain malignant lymphomas. The most significant benefit of chemotherapy was shown in tumours with an oligodendroglioma component and in lymphomas. Other experimental approaches used to increase concentration of chemotherapeutics in brain tumours and thus to improve treatment efficacy, e.g. the intra tumoral application of drugs using different types of reservoirs and the clinically efficient local carmustin (BCNU) - Gliadel were analysed.

Key words: malignant brain tumours, astrocytoma, glioblastoma, oligodendroglioma, primary nervous system lymphoma, chemotherapy.

Chemoterapie maligních astrocytomů

Reagan a spol. (1976) porovnával tři skupiny svých nemocných po operaci gliomu. Nemocní v prvním souboru byli léčeni radioterapií, nemocní ve druhém souboru chemoterapií lomustinem (CCNU) a nemocní ve třetím souboru kombinací radioterapie a chemoterapie. Nemocní, kteří byli po operaci ozářeni, přežívali signifikantně déle než nemocní léčení chemoterapií. Mezi skupinou nemocných, kteří byli po operaci ozářeni a skupinou nemocných, kteří kromě radioterapie prodělali navíc chemoterapii, nebyl zjištěn významný rozdíl. Výsledky Reaganovy studie lze tedy shrnout takto: byl zjištěn zásadní význam radioterapie a popřen význam derivátu nitrozomocoviny (v tomto případě CCNU) v terapii nemocných po operaci maligního gliomu.

Léčba maligního gliomu trojkombinací prokarbazinu (PCB), CCNU a vinkristinu vychází z výsledků studií Gutina a spol. (1975) a Shapira s Youngem (1976). Gutin a spol. uvádí léčebnou odpověď po podání zmíněné trojkombinace u 44 % nemocných, které však vzhledem k tehdejší možnostem vyšetřoval pouze klinicky a pomocí scintigrafie. Své výsledky srovnává se studii založenými na monoterapii buď prokarbazinem anebo karmustinem (BCNU) a vidí je stejně příznivě. Lze se snad právem domýšlet, že tehdejší léčebné úspěchy podlehly novým a nekompromisně přesným diagnostickým metodám, jakou je výpočetní tomografie či zobrazení magnetickou rezonancí. Představa o účinnosti této trojkombinace však přežívá do dnešních dnů. (Fine, 1993) (Klener, 1996; Kornblith, 1995; Ushio a Kochi, 1998). Prokarbazin, CCNU a vinkristin pronikají hematoencefalickou bariérou a pravděpodobně rovněž do proliferujících částí nádoru. Je však známo, že na tuto léčbu

neodpovídají se stejným výsledkem všichni nemocní. Jako jedno z možných vysvětlení znovu zmiňují práci Thomase a spol. (1985), který prokázal, že nemocní s maligním gliomem, jejichž nádory byly in vitro citlivé na PCB anebo CCNU měli lepší léčebné výsledky než nemocní, jejichž nádorové buňky byly vůči jednomu anebo oběma cytostatikům rezistentní.

Tvrzení, že chemoterapie maligních gliomů kombinací prokarbazinu, CCNU a vinkristinu je osvědčeným standardem, se tak stává tradovaným dogmatem (Kornblith, 1995; Ushio a Kochi, 1998).

Podívejme se, jak vypadají ve světle či stínu tohoto dogmatu výsledky práce Brady a spol. (1998). Ten se svými spolupracovníky vyhodnotil celkem 674 nemocných z nichž 339 bylo léčeno pro maligní gliom grade III anebo IV radioterapií, 335 radioterapií a poté chemoterapií v kombinaci prokarbazin, CCNU a vinkristin. Autoři zjistili, že efekt chemoterapie nebyl statisticky průkazný. Průměrná doba přežití nemocných po radioterapii byla 9,5 měsíce, po radioterapii s chemoterapií 10 měsíců. Toto zjištění na uvedeném velkém souboru nemocných jistě nelze brát na lehkou váhu.

Naštěstí ne všechny studie hovoří takto pesimisticky. Fine a spol. shrnul výsledky 16 randomizovaných klinických studií zahrnující přes 3000 nemocných s maligními gliomy. Cílem studie bylo vyhodnotit efekt chemoterapie, která byla zjištěna jako přínosná, a to více u nemocných s anaplastickým astrocytomem než multiformním glioblastomem. Určitou slabinou studie je nejednotně prováděná chemoterapie v analyzovaných souborech. Mahaley a spol. (1989) uvádí své zkušenosti s intraarteriální aplikací cisplatinu u recidivujících gliomů. Aplikace se provádí 1x měsíčně. U 34% nemocných bylo dosaženo regrese

nálezu v CT obraze, u 40 % nemocných se nález stabilizoval a u 26 % nemocných došlo navzdory provedené chemoterapii k další progresi nádoru. Použití karboplatiny je provázeno poměrně vysokou ototoxicitou. Jako protektivum se v tomto směru osvědčuje thiosulfát sodný (sodium thiosulfate), což dokládá svým pozorováním Neuwelt a spol. (1996), jenž ověřil příznivý efekt thiosulfátu sodného i v klinické praxi a připravuje se své výsledky publikovat. Vedlejší příznaky, jako nauzea a zvracení (a to značně úporné), lze výrazně utlumit až odstranit pomocí aplikace antiemetik zejména typu antagonistů receptorů 5-HT₃, tzv. setronů (např. ondasetron, granisetron, tropisetron). Autoři doporučují chemoterapii provádět před zahájením radioterapie, popřípadě v ní lze po ukončení radioterapie opět pokračovat. Přesto, že u většiny nemocných dochází k regresi anebo stabilizaci nálezů při vyšetření výpočetní tomografií, není doba přežití prodloužena nijak výrazně.

Cloughesy a spol. léčil 50 nemocných intraarteriálně aplikovaným RMP-7 a intraarteriálně aplikovanou karboplatinou. Diagnózou byl recidivující gliom typu glioblastomu anebo anaplastického astrocytomu. Bylo dosaženo kompletní odpovědi u 1 nemocného, 4 parciálních odpovědí a 25 stabilizací stavu. Tolerance byla dobrá, přežití v průměru 47 týdnů. V budoucnu bude nutno porovnat výsledky léčby u nemocných léčených pouze intraarteriální aplikací karboplatiny.

Longea a spol. (1990) doporučuje chemoterapii recidivujících maligních gliomů cyklofosfamidem v kombinaci s vinkristinem, a to dokonce i u těch nemocných, u nichž předchozí chemoterapie provedená deriváty nitrozomocoviny zklamala. Z šestnácti sledovaných nemocných zjistil příznivý efekt u osmi. Problémem terapie však byla značná toxicita vedoucí k myelosupresi u sedmi osob. Kúra byla prováděna 1x měsíčně při krátkodobé hospitalizaci.

Jsou testována stále nová a nová cytostatika. Jedním z nich je MX2, což je v tucích rozpustný anthracyklin, u něhož byla prokázána účinnost proti gliomovým buňkám nejen in vitro, ale na zvířecích modelech také in vivo. MX2 prokazuje v klinické studii příznivý efekt asi u 40 % nemocných s recidivujícím maligním gliomem grade III-IV (za příznivý efekt pokládají autoři jak kompletní odpověď, tak stabilizaci choroby). (Underhill a spol., 1998).

Iदारubicin, další ze skupiny anthracyklinových antibiotik je podle testů provedených in vitro, ale i in vivo v pokusech na zvířeti pro buňky maligního gliomu cytotoxický. Bushnow a spol. léčil 30 nemocných s recidivujícím maligním gliomem nitrožilním podáváním idarubicinu. Všichni nemocní již v předchozím období absolvovali radioterapii a 29 z nich prodělalo i chemoterapii. Téměř u poloviny nemocných s anaplastickým astrocytomem či oligodendrogliomem dosáhl příznivou odezvu od parciální odpovědi po stabilizaci stavu v CT obraze anebo alespoň klinické zlepšení stavu. (Parciální odpověď však byla zaznamenána jen u 2 nemocných z celkového počtu 15). U nemocných s multiforním glioblastomem bylo dosaženo u třetiny nemocných stabilizace stavu, ale to pouze krátkodobě. Ze studie vyplývá, že antracyklinové cytostatikum idarubicin může být efektivní u části nemocných s diagnózou anaplastického astrocytomu či oligodendrogliomu. U glioblastomu je efekt minimální, zejména pak časově omezený. Partheni a spol. provedl při reoperaci pro recidivu maligního gliomu grade III - IV implantaci Omayo rezervoáru k aplikaci doxorubicinu. Z 10 nemocných bylo dosaženo kompletní odpovědi v 1 případě, u 4 nemocných parciální odpovědi a v 1 případě stabilizace choroby. Výsledky vypadají sice povzbudivě, ale vyžadují další sledování.

V poslední době je zvláštní pozornost věnována klinickým zkouškám temozolomidu (Newlands a spol., 1992). První výsledky jsou ve srovnání s efekty dosud užívaných chemoterapeutik příznivější. Definitivní závěr však bude moci být učiněn až po získání dalších klinických zkušeností na větším souboru nemocných (Janinis a spol., 1998).

Efekt terapie temozolomidem souvisí, jak lze předpokládat,

s dosaženou koncentrací léku v nádorové tkáni, což lze zjistit pomocí pozitronové emisní tomografie (Brock a spol. 1998). Galanis a spol. zjistil ojedinělý efekt kombinace mechlorethaminu, vinkristinu a prokarbazinu v léčbě anaplastických astrocytomů (efekt v 11 %) a glioblastomů (4,3 %). Poněkud lepší výsledky byly zjištěny u nízkostupňových astrocytomů (19%) a nejpříznivější u oligodendrogliomů a oligoastrocytomů (25 %). Do terapeutické odpovědi však nebyla zahrnuta stabilizace onemocnění. Výsledky autoři pokládají za špatné a staví své výsledky proti výsledkům Coyleho a spol., který uvádí příznivou léčebnou odpověď u 52 % nemocných. Je s podivem, že nemocní léčení Coylem však přes radiograficky nesporně příznivější léčebné odpovědi nežili průkazně déle (20 týdnů nemocní s glioblastomem) než nemocní s glioblastomem Galanise a spol. (19 týdnů). Porovnání obou prací dává tušit celou řadu možných metodických nesrovnalostí ve výběru nemocných, ale zejména v nepřesném radiologickém posuzování léčebné odpovědi.

Chamberlain a Kormanik (1995) podávali paklitaxel 20 nemocným po operaci pro maligní gliom, všichni nemocní již byli ozářeni a u všech byla v minulosti provedena chemoterapie. Soubor zahrnoval nemocné s multiforním glioblastomem. Autoři dosáhli částečnou odpověď u 4 nemocných tj. u 20 %, do těchto 4 nemocných patří 2 s anaplastickým astrocytomem, 1 s multiforním glioblastomem a 1 s anaplastickým oligodendrogliomem. U dalších nemocných došlo k stabilizaci choroby. Příznivá odpověď na chemoterapii se nijak neodrazila ve zlepšení klinického stavu.

Chang a spol. (1998) prokázal, že paklitaxel je lépe tolerován nemocnými, kteří jsou léčení antiepileptiky a to zřejmě z důvodu, že antikonvulziva indukují jaterní enzymy, které paklitaxel metabolizují. Z uvedeného vyplývá nutnost přizpůsobit dávkování paklitaxelu lékovým interakcím, které lze očekávat u jednotlivých nemocných, zejména u těch, kteří užívají antikonvulziva. U účinnosti léčby se autoři nezmiňují, práce měla za cíl posoudit toxicitu v závislosti na aplikované dávce.

Fetell a spol. (1997) použil paklitaxel v maximální tolerované dávce u 15 nemocných, kteří dosud nebyli pro diagnózu multiforní glioblastom ozářeni. Paklitaxel byl podáván v 96 hodinové infúzi, což mělo za cíl dosáhnout vyšší koncentrace léku v mozkové tkáni. Žádný z nemocných neměl na terapii ani kompletní ani částečnou odpověď. Autoři přitom zohlednili dávkování léku v závislosti na současném podávání antikonvulziv, která snižují efekt paklitaxelu. Diskrepance mezi účinností paklitaxelu in vivo a in vitro souvisí zřejmě s jeho špatnou prostupností přes hematoencefalickou bariéru. Ačkoliv je lipofilní, jeho molekulová hmotnost je 850. Autoři pokládají další zkoumání paklitaxelu v uvedené diagnóze za neopodstatněné.

Neúčinnost taxolu v léčbě maligních gliomů mozku již byla, zdá se, dostatečně prokázána i když pokusy o jeho využití v neuroonkologii zatím nekončí. Jednou ze zkoumaných metod je změna vehikula. Zajímavou studii provedl in vitro, ale rovněž v pokusech na zvířeti Ho a spol. (1997), který použil k ovlivnění maligního gliomu paklitaxel, jehož vehikule jsou mikrobubliny tvořené estery cholesterolu a triglyceridy. Byl prokázán protinádorový efekt. Otázkou k řešení však zůstává výrazná hepatotoxicita.

Kornblith (1995) doporučuje provedení chemoterapie před radioterapií, která vede k poškození cévní stěny v nádoru, a tak zřejmě zhoršuje průnik farmaka do tkáně. Rovněž není zanedbatelná skutečnost, že chemoterapie následující po radioterapii se provádí za více než 6 týdnů po operaci, což se vzhledem k vysoké malignitě nádoru jeví nevýhodně.

Rovněž Beck a Hochberg (1985) doporučují chemoterapii před ozářením, odmítají provádění radioterapie a chemoterapie souběžně s tím, že takovýto postup vede ke značné zátěži pro mozkovou tkáň, a proto i k horším terapeutickým výsledkům. Poškození zejména bílé hmoty je ireverzibilní a lze jej prokázat i v CT obraze jako difúzní hypodenzní oblasti.

Chemoterapie oligodendrogliomů

V posledních letech se objevují zprávy o možnostech chemoterapie v léčbě nízkostupňových oligodendrogliomů. Otázky chemoterapie oligodendrogliomů jsou v současné době živě diskutovány a hledá se optimální kombinace chemoterapeutik. Zprávy o úspěšnosti chemoterapie je však přes pozitivní informace nutno přijímat obezřetně, neboť některé studie jsou dosud předběžné (Glass a spol., 1992). Rovněž počty sledovaných nemocných bývají malé, avšak pozitivních zpráv v posledních letech přibyla celá řada.

Anaplastický oligodendrogliom reaguje příznivě na chemoterapii v kombinaci prokarbazin, CCNU a vinkristin, kdy na tuto léčbu odpovědělo 3/4 nemocných (38 % mělo kompletní odpověď a 38 % parciální odpověď). Nebyl zjištěn rozdíl u nemocných s předchozí radioterapií anebo bez ní (Cairncross a spol., 1994).

Mason a spol. (1996) prokázal, že nízkostupňové oligodendrogliomy jsou k chemoterapii v kombinaci prokarbazin, CCNU a vinkristin (PCV) stejně citlivé, jako anaplastické oligodendrogliomy, tj. asi u 75 % nemocných.

Peterson a spol. (1996) zjistil účinnost chemoterapie v kombinaci prokarbazin, CCNU a vinkristin i u nemocných s recidivujícím oligodendrogliomem, kteří již v minulosti prodělali jiný způsob chemoterapie (buď CCNU anebo BCNU).

Soffiatti a spol. (1998) prokázal efekt PCV chemoterapie u recidivujících oligodendrogliomů či oligoastrocytomů u 62 % nemocných. Odpověď na chemoterapii je rychlá, dostavuje se již po 2 cyklech chemoterapie. Soffiatti radí provádět u těchto diagnóz chemoterapii namísto radioterapie. Chemoterapie je efektivní bez závislosti na věku pacienta.

Kim a spol. (1996) prokázal, že smíšené gliomy obsahující oligodendrogliální komponentu jsou k chemoterapii kombinací prokarbazin, CCNU a vinkristin stejně citlivé, jako čisté oligodendrogliomy. Stejná odpověď byla získána rovněž u nádorů III. a IV. stupně malignity. Nejdéle však přeživali nemocní s diagnózou anaplastického oligodendrogliomu (nad 76 měsíců), nemocní s diagnózou oligoastrocytomu grade III 50 měsíců a s nálezem oligoastrocytomu grade IV 16 měsíců. (Oligoastrocytomy jsou v Kimově studii definovány jako nádory obsahující od 1 do 99% oligodendrogliálních komponent. V případě přítomnosti mitózy byly označeny stupněm III a v případě nálezu nekrotizace či endoteliální proliferace v astrocytární složce stupněm IV.)

Chemoterapie u primárních maligních lymfomů mozku

Incidence primárního lymfomu CNS dramaticky stoupá (Corn a spol., 1997). Toto se týká nejen pacientů postižených poruchami imunitních funkcí jako je tomu například u AIDS, ale rovněž u osob bez prokázaného onemocnění imunitního systému. Vzestup incidence není možno přičíst na vrub pouze zlepšené dostupnosti diagnostických metod, neboť u jiných typů nádorů (gliomy) tento trend zaznamenaný nebyl. Šíření lymfomu non-Hodgkinova typu do centrální nervové soustavy posti-

huje asi 5-30% nemocných. Méně zkušeností však mívají hematologové s primárním maligním lymfomem mozku. Tento nádor roste infiltrativně v mozkové tkáni a z tohoto důvodu má chirurgický výkon pouze velmi limitovaný význam. Je však známo, že konvenční radioterapie výrazně zlepšuje prognózu nemocných. V souhrnné studii, která metaanalyticky vyhodnocuje 40 prací zahrnujících celkem 1100 nemocných prokázal Fine a Mayer (1993), že je velmi přínosná i chemoterapie, kdy nemocní léčení pouze radioterapií přeživali průměrně 16,6 měsíce zatímco nemocní léčení radioterapií a chemoterapií 29,1 měsíce. Otázky, jaká chemoterapeutika zvolit, nejsou dosud uspokojivě zodpovězeny.

Gabbai a spol. (1989) dosáhl průměrného přežití více než 27 měsíců s 100% responsibilitou (69% kompletních remisí) podáváním vysokých dávek methotrexatu, které předcházely radioterapii.

Neuwelt a spol. (1991) dosáhl velmi dobrých výsledků podáváním methotrexatu, cyklofosfamidu a prokarbazinu po hyperosmolárním otevření hematoencefalické bariéry. Dosáhl 81% kompletních remisí a průměrné přežití 44,5 měsíce.

Vcelku platí, že mladší nemocní reagují na chemoterapii příznivěji.

De Angelis a spol. (1992) dokládá efekt systémové chemoterapie dexamethasonem, methotrexatem a posléze po radioterapii cytosinarabiosidem pro primární maligní lymfom mozku, kdy zjišťují, že kombinace radioterapie s chemoterapií vede k lepším výsledkům než radioterapie samotná. (Uvádějí medián přežití 42,5 měsíce). Jejich léčebný protokol aplikovala u nás Pánková a spol. (1998), ale dosáhla výrazně horších výsledků (6 nemocných s průměrnou dobou přežití 7,5 měsíce). Své výsledky vysvětluje horším klinickým stavem nemocných v době zahájení terapie.

Některé studie však dobrý léčebný efekt chemoterapie popisují, jako je tomu v práci Meada a spol. Do studie bylo zařazeno 38 nemocných léčených radioterapií a poté chemoterapií s kombinací cyklofosfamidu, adriamycin, vinkristin, a prednisolon. Další skupinu tvořilo 15 nemocných léčených pouze radioterapií. Evidentní přínos chemoterapie nebyl prokázán. Počet sledovaných je však malý a proto bude nutno provést další sledování.

Závěrem této souhrnné práce musíme konstatovat, že dle našich současných znalostí se chemoterapie primárních mozkových nádorů jeví jednoznačně přínosná pouze u nemocných s oligodendrogliomy a mozkovými lymfomy, kde navozuje vysoké procento remisí, někdy s kurativním efektem. Na druhé straně, zůstává otevřena otázka chemoterapie u pacientů s maligními gliomy. Přes řadu provedených experimentů zůstává řada nedeřešených otázek, které vyžadují další výzkum. Klíčový význam budou mít výsledky studií zaměřených na ovlivnění hematoencefalicko-nádorové bariéry, lokální aplikace cytostatik, inhibici angiogeneze a zohledňování výsledků testů rezistence in vitro při výběru vhodných cytostatik.

Literatura

1. Barranco, S. C., Drewinko, B., Humphrey, R. M.: Differential response by human melanoma cells to 1,3-bis-(2-chloroethyl)-1-nitrosourea and bleomycin. *Mutat. Res.*, 19, 1973, s. 277.
2. Beck, D. O., Hochberg, F. H.: Rationale for preirradiation chemotherapy in treatment of malignant gliomas. *J. Neurosurg.*, 63, 1985, s. 994-996.
3. Bloom, H. J. G.: Intracranial tumors: response and resistance to therapeutic endeavours, 1970-1980. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 8, 1982, s. 1083.
4. Brada, M., Thomas, D. G. T., Bleehen, N. M., Roberts, J. T., Senanayake, F., Abram, P., Lantos, P. L., Moss, T. H., Ironside, J. W., Whaley, J. B., Stenning, S. P.: Medical research council (MRC) randomised trial of adjuvant chemotherapy in high grade glioma (HGG)-BROS. *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.*, 17, 1998, s. 400a.
5. Brem, H., Piantadosi, S., Burger, P. C., Walker, M., Selker, R., Vick, N. A., Black, K., Sisti, M., Brem, S., Mohr, G., Muller, P., Morawetz, R., Schold, S. C.: Placebo-controlled trial of safety and efficacy of intraoperative controlled delivery by biodegradable polymers of chemotherapy for recurrent gliomas. *Lancet*, 345, 1995, s. 1008-1012.
6. Brock, C. S., Matthews, J. C., Brown, G., Osman, S., Evans, H., Newlands, E. S., Price, P.: Response to temozolamide (TEM) in recurrent high grade gliomas (HGG) is related to tumour drug concentration. 10th NCI-EORTC symposium on new drugs in cancer therapy. June 16-19, 1998, Amsterdam, abstract 667.
7. Bullard, D. E., Schold, S. C., Bigner S. H., Bigner, D. D.: Growth and chemotherapeutic response in athymic mice of tumours arising from human glioma-derived cell lines. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, 40, 1981, s. 410.

8. Bushunow, P., Mechtler, L., Mogensen, K., Winfield, J., Lemke, S., Coyle, T.: Idarubicin for treatment of recurrent malignant glial tumors: a Buffalo-Rochester-Syracuse neuro-oncology study group trial. *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.*, 17, 1988, s. 386a.
9. Cairncross, G., Macdonald, D., Ludwin, S., Lee, D., Cascino, T., Buckner, J., Fulton, D., Dropcho, E., Steward, D., Schold, C., Jr., Wainman, N., Eisenhauer, E.: Chemotherapy for anaplastic oligodendroglioma. *J. Clin. Oncol.*, 12, 1994, s. 2013-2021.
10. Cloughesy, T. F., Rich, K., Moran, C., Olsen, J., Piepmeyer, J., Mechtler, L., Fenstermaker, R., Watson, V., Spence, A., Hochberg, F., Dion, J., Downing, G., O'Toole, T., Gobin, P., Villablanca, P., Black, K. L.: A multicenter, open label, single arm phase II study of RMP-7 and carboplatin, administered intra-arterially for the treatment of malignant glioma. *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.*, 17, 1988, s. 378a.
11. Corn, B. W., Marcus, S. M., Topham, A., Hauck, W., Curran, W. J. Jr.: Will primary central nervous system lymphoma be the most frequent brain tumor diagnosed in the year 2000? *Cancer*, 79, 1997, s. 2409-2413.
12. Coyle, T., Baptista, J., Winfield, J., et al.: Mechlorethamine, vincristine, and procarbazine chemotherapy for recurrent high-grade glioma in adults. A phase II study. *J. Clin. Oncol.*, 8, 1990, s. 2014-2018.
13. Dahlborg, S. A., Henner, W. D., Crossen, J. R., Tableman, M., Petrillo, A., Brazier, R., Neuwelt, E. A.: Non-AIDS primary CNS lymphoma: The first example of durable response in a primary brain tumor using enhanced chemotherapy delivery without cognitive loss and without radiotherapy. *Cancer J. Sci. Am.*, 2, 1996, s. 166-174.
14. De Angelis, L. M., Yahalom, J., Thaler, H. T., Kher, U.: Combined modality therapy for primary CNS lymphoma. *J. Clin. Oncol.*, 10, 1992, s. 635-643.
15. Easty, D. M., Wylie, J. A. H.: Screening of 12 gliomata against chemotherapeutic agents in vitro. *Br. Med. J.*, 1, 1963, s. 1589.
16. Ewend, M. G., Sampath, P., Williams, J. A., Tyler, B. M., Brem, H.: Local delivery of chemotherapy prolongs survival in experimental brain metastases from breast carcinoma. *Neurosurgery*, 43, 1998, s. 1185-1193.
17. Fetell, M. R., Grossman, S. A., Fisher, J. D., Erlanger, R., Rowinsky, E., Stockel, J., Piantadosi, S.: Preirradiation paclitaxel in glioblastoma multiforme: efficacy, pharmacology, and drug interactions. *J. Clin. Oncol.*, 15, 1997, s. 3121-3128.
18. Fine, H. A., Dear, K. B. G., Loeffler, J. S., Black, P. McL., Canellos, F. P.: Meta-analysis of radiation therapy with and without adjuvant chemotherapy for malignant gliomas in adults. *Cancer*, 71, 1993, s. 2585-2597.
19. Fine, H. A., Mayer, R. J.: Primary central nervous system lymphoma. *Ann. Intern. Med.*, 119, 1993, s. 1093.
20. Fung, L. K., Ewend, M., Sills, A., Sipes, E. P., Thompson, R., Watts, M., Colvin, O. M., Brem, H., Saltzman, W. M.: Pharmacokinetics of interstitial delivery of carmustine, 4-hydroperoxycyclophosphamide and paclitaxel from a biodegradable polymer implant in the monkey brain. *Cancer Res.*, 58, 1998, s. 672-684.
21. Gabbai, A. A., Hochberg, F. H., Linggood, R. M., et al.: High-dose methotrexate for non-AIDS primary central nervous system lymphoma. *J. Neurosurg.*, 70, 1989, s. 190.
22. Galanis, E., Buckner, J. C., Burch, P. A., Schaefer, P. L., Dinapoli, R. L., Novotny, P. J., Scheithauer, B. W., Rowland, K. M., Vukov, A. M., Mailliard, J. A., Morton, R. F.: Phase II trial of nitrogen mustard, vincristine, and procarbazine in patients with recurrent glioma: North Central Cancer Treatment Group results. *J. Clin. Oncol.*, 16, 1998, s. 2953-2958.
23. Gazzo, L. R., Afra, D.: Study on the effect of actinomycins in tissue cultures from human brain tumours. *Acta Neurochir. (Wien)*, 21, 1969, s. 139.
24. Glass, J., Hochberg, F. H., Gruber, M. L. et al.: The treatment of oligodendrogliomas and mixed oligodendroglioma - astrocytomas with PCV chemotherapy. *J. Neurosurg.*, 76, 1992, s. 741-745.
25. Gutin, P. H., Wilson, Ch. B., Kumar, A. R. V., Boldrey, E. B., Levin, V., Powell, M., Enot, K. J.: Phase II study of procarbazine, CCNU, and vincristine combination chemotherapy in the treatment of malignant brain tumors. *Cancer*, 35, 1975, s. 1398-1404.
26. Hajdúch, M., Mihál, V., Minařík, J., Faber, E., Šafářová, M., Weigl, E., Antálek, P.: Decrease in vitro chemosensitivity of tumour cells in patients suffering from malignant diseases with a poor prognosis. *Cytotechnology*, 19, 1996, s. 243-245.
27. Ho, S. Y., Barbarese, E., D'Arrigo, J. S., Smith-Slatas, C., Simon, R. H.: Evaluation of lipid-coated microbubbles as a delivery vehicle for taxol in brain tumor therapy. *Neurosurgery*, 40, 1997, s. 1260-1268.
28. Chamberlain, M. C., Kormanik, P.: Salvage chemotherapy with paclitaxel for recurrent primary brain tumors. *J. Clin. Oncol.*, 13, 1995, s. 2066-2071.
29. Chang, S. M., Kuhn, J. G., Rizzo, J., Robins, I., Schold, S. C., Spence, A. M., Berger, M. S., Mehta, M. P., Bozik, M. E., Pollack, I., Gilbert, M., Fulton, D., Rankin, C., Malec, M., Prados, M. D.: Phase I study of paclitaxel in patients with recurrent malignant glioma: a North American Brain Tumor Consortium report. *J. Clin. Oncol.*, 16, 1998, s. 2188-2194.
30. Inamura, T., Black, K. L.: Bradykinin selectively opens blood-tumor barrier in experimental brain tumors. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 14, 1994, s. 862-870.
31. Inamura, T., Nomura, T., Bartus, R. T., Black, K. L.: Intracarotid infusion of RMP-7, a bradykinin analog: A method for selective drug delivery to brain tumors. *J. Neurosurg.*, 81, 1994, s. 752-758.
32. Itoh, Y.: Treatment of malignant brain tumor by local injection of Adriamycin. *Nippon Ika Daigaku Zasshi*, 47, 1980, s. 527-537.
33. Janinis, J., Tsantila, A., Samantas, E., Aravantinos, G., Sitaras, N., Skarlos, D.: Phase II study of temozolamide in patients with glioblastoma multiforme. 10th NCI-EORTC symposium on new drugs in cancer therapy. June 16-19, 1998. Amsterdam abstract 694.
34. Kim, L., Hochberg, F. H., Thornton, A. F., Harsh, G. R. IV, Patel, H., Finkelstein, D., Louis, D. N.: Procarbazine, lomustine, and vincristine (PCV) chemotherapy for grade III and grade IV oligoastrocytomas. *J. Neurosurg.*, 85, 1996, s. 602-607.
35. Kimmel, D. W., Shapiro, J. R., Shapiro, W. R.: In vitro drug sensitivity testing in human gliomas. *J. Neurosurg.*, 66, 1987, s. 161-171.
36. Klener, P.: Proti nádorové chemoterapie. Galén, 1996, s. 614.
37. Kornblith, P. L., Szytko, P. E.: Variations in response of human brain tumors to BCNU in vitro. *J. Neurosurg.*, 48, 1978, s. 580.
38. Kornblith, P. L., Smith, B. H., Leonard, L. A.: Response of cultured human brain tumors to nitrosoureas: correlation with clinical data. *Cancer*, 47, 1981, s. 225.
39. Kornblith, P. L.: The role of cytotoxic chemotherapy in the treatment of malignant brain tumors. *Surg. Neurol.*, 44, 1995, s. 551-552.
40. Kroll, R. A., Neuwelt, E. A.: Outwitting the blood-brain barrier for therapeutic purposes: osmotic opening and other means. *Neurosurgery*, 42, 1998, s. 1083-1100.
41. Kroll, R. A., Pagel, M. A., Muldoon, L. L., Roman-Goldstein, S., Fiamengo, S. A., Neuwelt, E. A.: Improving drug delivery to intracerebral tumor and surrounding brain in a rodent model: a comparison of osmotic versus bradykinin modification of the blood-brain and/or blood-tumor barriers. *Neurosurgery*, 43, 1998, s. 879-889.
42. Laske, D. W., Ilcail, O., Akbasak, A., Youle, R. J., Oldfield, E. H.: Efficacy of direct intratumoral therapy with targeted protein toxins for solid human gliomas in nude mice. *J. Neurosurg.*, 80, 1994, s. 520-526.
43. Levin, V. A., Edwards, M. S., Wright, D. C., et al.: Modified procarbazine, CCNU and vincristine (PCV 3) combination chemotherapy in the treatment of malignant brain tumors. *Cancer Treat. Rep.*, 64, 1980, s. 237.
44. Longee, D. C., Friedman, H. S., Albright, E., et al.: Treatment of patients with recurrent gliomas with cyclophosphamide and vincristine. *J. Neurosurg.*, 72, 1990, s. 583-588.
45. Mahaley M. S., Hipp, S. W., Dropcho, E. J. et al.: Intracarotid cisplatin chemotherapy for recurrent gliomas. *J. Neurosurg.*, 70, 1989, s. 371-378.
46. Mason, W. P., Krol, G. S., DeAngelis, L. M.: Low grade oligodendroglioma responds to chemotherapy. *Neurology*, 46, 1996, s. 203-207.
47. Matsukado, K., Inamura, T., Nakano, S., Fukui, M., Bartus, R. T., Black, K. L.: Enhanced tumor uptake of carboplatin and survival in glioma-bearing rats by intracarotid infusion of bradykinin analog, RMP-7. *Neurosurgery*, 39, 1996, s. 125-133.
48. Mead, G. M., Bleeher, N. M., Gregor, A., Bullimore, J., Rampling, R., Roberts, J. T., Glaser, M., Lantos, P., Ironside, J. W., Moss, T. H., Whaley, J. B., Stenning, S. P., Brada, M.: Medical research council (MRC) randomised trial of adjuvant chemotherapy in primary CNS lymphoma (PCL)-BRO6. *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.*, 17, 1988, s. 401a.
49. Mealey, J., Chen, T. T., Shupe, R.: Response of cultured glioblastomas to radiation and BCNU chemotherapy. *J. Neurosurg.*, 41, 1974, s. 339.
50. Meney, P., Benoit, J. -P., Boisdron-Celle, M., Fournier, D., Mercier, P., Guy, G.: Drug targeting into the central nervous system by stereotactic implantation of biodegradable microspheres. *Neurosurgery*, 34, 1994, s. 1058-1064.
51. Mihál, V., Hajdúch, M.: Rezistencia nádorových buniek na cytotatika a její význam v léčbě dětské akutní leukémie. *Farmakol. Zpravodaj*, 4, 1995.
52. Mihál, V., Hajdúch, M., Videmanová, L., Weigl, E., Šafářová, M.: Naše první zkušenosti s testováním rezistence nádorových buniek na cytotatika. *Čs. Pediat.*, 50, 1995, s. 385-390.
53. Mihál, V., Hajdúch, M., Starý, J., Sedláček, P., Blažek, B., Michálek, T., Kotala, V., Jabali, J., Pospíšilová, D., Klásková, E., Šafářová, M., Janošťáková, A.: Může citlivost nádorových buniek na cytotatika ovlivnit klinickou odpověď dětí s akutní lymfoblastickou leukémií? *Čs. Pediat.*, 51, 1996, s. 515-519.
54. Mihál, V., Hajdúch, M., Dušek, J., Weigl, E., Jarošová, M., Píkalová, Z., Šafářová, M.: Differential chemosensitivity of leukaemic cells in myeloid and lymphoid phase of stem cell leukaemia. *Neoplasma*, 44, 2, 1997, s. 133-136.
55. Mihál, V., Hajdúch, M., Šafářová, M.: What is the prognostic value of in vitro drug resistance assay in childhood ALL in short-term clinical outcome? In: *Diagnostics and therapy in paediatrics III (in Slovak)*, Osveda Martin, 1997, Slovak Republic.
56. Mihál, V., Hajdúch, M., Janošťáková, A., Šafářová, M., Nosková, V., Starý, J., Blažek, B., Pospíšilová, D.: Analysis of correlation between drug resistance and clinical/laboratory measures found in a group of children with ALL treated by ALL BFM 90 protocol. *Elect. J. Oncol.*, 1, 1999, 1-14, http://ejo.univ-lyon1.fr/Archive/Escripts/1999_1_80-89/EScript.
57. Morantz, R. A., Kimler, B. F., Vats, T. S., Henderson, S. D.: Bleomycin and brain tumors: a review. *J. Neurooncol.*, 1, 1983, s. 249-255.
58. Nakagawa, H., Maeda, N., Tsuzuki, T., Yamamoto, H., Yamada, M., Fukushima, M., Ikenaka, K.: Intracavitary chemotherapy with 5-fluoro-2-deoxyuridine (FDUR) in the malignant brain tumors. *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.*, 17, 1988, s. 408a.
59. Neuwelt, E. A., Goldman, D. L., Dahlberg, S. A., Crossen, J., Ramsey, F., Brazier, R., Brazier, R., Dana, B.: Primary CNS lymphoma treated with osmotic blood-brain barrier disruption: Prolonged survival and preservation of cognitive function. *J. Clin. Oncol.*, 9, 1991, s. 1580.
60. Neuwelt, E. A., Brummett, R. E., Remsen, L. G., Kroll, R. A., Pagel, M. A., McCormick, C. I., Guitjens, S., Muldoon, L. L.: In vitro and animal studies of sodium thiosulfate as a potential chemoprotectant against carboplatin-induced ototoxicity. *Cancer Res.*, 56, 1996, s. 706-709.

61. Newlands, E. S., Blackledge, G. R. P., Slack, J. A. et al.: Phase I trial of temozolomide (CCRG 81045; M and B39831; NSC 362856). *Brit. J. Cancer*, 65, 1992, s. 287-291.
62. Nierenberg, D., Harbaugh, R., Maurer, H., Reeder, T., Scott, G., Fratkan, J., Newman, E.: Continuous intratumoral infusion of methotrexate for recurrent glioblastoma: a pilot study. *Neurosurgery*, 28, 1991, s. 752-761.
63. Nikkhah, G., Tonn, J. C., Hoffmann, O., Kraemer, H. P., Darling, J. L., Schonmayr, R., Schachenmayr, W.: The MTT assay for chemosensitivity testing of human tumors of the central nervous system. Part I - evaluation of test - specific variables. *J. Neurooncol.*, 13, 1992, s. 1-11.
64. Nikkhah, G., Tonn, J. C., Hoffmann, O., Kraemer, H. P., Darling, J. L., Schachenmayr, W., Schonmayr, R.: The MTT assay for chemosensitivity testing of human tumors of the central nervous system: Part II-evaluation of patient and drug - specific variables. *J. Neurooncol.*, 13, 1992, s. 13-24.
65. Norgaard, J. M., Jensen P. D., Bendix K., Clausen N., Palshof T.: Relevance of in vitro leukaemia cell survival to short- and long term clinical outcome in AML. *Leuk Lymphoma*, 32, 1999, s. 327-337.
66. Oda, Y., Kamiyo, K., Okumura, T., Tokuriki, Y., Yamashita, J., Handa, H., Aoyama, I., Hashi, K., Mori, K.: Clinical application of a sustained release anticancer pellet (in Japanese). *No Shinkei Geka*, 13, 1985, s. 1305-1311.
67. Oldfield, E. H., Ram, Z., Culver, K. W., Blaese, R. M., DeVroom, H. L., Anderson, W. F.: Gene therapy for the treatment of brain tumors using intra-tumoral transduction with the thymidine kinase gene and intravenous ganciclovir. *Hum. Gene Ther.*, 4, 1993, s. 39-69.
68. Olivi, A., Gilbert, M., Duncan, K. L., Corden, B., Lenartz, D., Brem, H.: Direct delivery of platinum-based antineoplastics to the central nervous system: a toxicity and ultrastructural study. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 31, 1993, s. 449-454.
69. Olivi, A., Ewend, M. G., Utsuki, T., Tyler, B., Domb, A. J., Brat, D. J., Brem, H.: Interstitial delivery of carboplatin via biodegradable polymers is effective against experimental glioma in the rat. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 39, 1996, s. 90-96.
70. Olivi, A., Bruce, J., Saris, S., Engelhard, H., Judy, K., Kelly, D., Burak, E., Dal Pan, G., Grossman, S., Fisher, J., Piantadosi, S.: Phase I study of escalating doses of interstitial BCNU administered via wafer in patients with recurrent malignant glioma. *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.*, 17, 1998, s. 387a.
71. Ott, R. J., Brada, M., Flower, M. A., Babich, J. W., Cherry, S. R., Deehan, B. J.: Measurements of blood-brain barrier permeability in patients undergoing radiotherapy and chemotherapy for primary cerebral lymphoma. *Eur. J. Cancer*, 27, 1991, s. 1356-1361.
72. Partheni, M., Voulgaris, S., Kalofonos, H. P., Dimopoulos, P., Papadakis, N.: Intrathecal chemotherapy with doxorubicin of brain gliomas. *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.*, 17, 1998, s. 390a.
73. Pánková, J., Benešová, E., Klener, P., Benešová, K., Bauer, J., Seidl, Z., Zeman, D., Adam, P., Syrůček, M., Campr, V., Cieslar, P., Hořejš, J.: Primární lymfom centrální nervové soustavy. *Klin. onkol.*, 11, 1998, s. 112-115.
74. Peterson, K., Paleologos, N., Forsyth, P., Macdonald, D. R., Cairncross, J. G.: Salvage chemotherapy for oligodendroglioma. *J. Neurosurg.*, 85, 1996, s. 597-601.
75. Rapoport, S. I., Hori, M., Klatxo, I.: Testing of a hypothesis of osmotic opening of the blood-brain barrier. *Am. J. Physiol.*, 223, 1972, s. 323-331.
76. Rapoport, S. I., Fredericks, W. R., Ohno, K., Pettigrew, K. D.: Quantitative aspects of reversible osmotic opening of the blood-brain barrier. *Am. J. Physiol.*, 238, 1980, s. 421-431.
77. Reagan, T. J., Bisek, H. F., Childs, D. S. et al.: Controlled study of CCNU and radiation therapy in malignant astrocytoma. *J. Neurosurg.*, 44, 1976, s. 186-190.
78. Remsen, L. G., McCormick, C. I., Sexton, G., Pearse, H. D., Garcia, R., Mass, M., Roman-Goldstein, S., Neuwelt, E. A.: Long-term toxicity and neuropathology associated with sequencing of cranial irradiation and enhanced chemotherapy delivery. *Neurosurgery*, 40, 1997, s. 1034-1042.
79. Rosenblum, M. L., Gerosa, M., Dougherty, D., et al.: Age related chemosensitivity of stem cells from human malignant brain tumours. *Lancet*, i, 1982, s. 885.
80. Shapiro, W. R., Young, D. F.: Chemotherapy of malignant glioma with CCNU alone and CCNU combined with vincristine sulphate and procarbazine hydrochloride. *Trans. Am. Neurol. Assoc.*, 101, 1976, s. 217.
81. Soffietti, R., Ruda, R., Bradac, G. B., Schiffer, D.: PCV chemotherapy for recurrent oligodendrogliomas and oligoastrocytomas. *Neurosurgery*, 43, 1998, s. 1066-1073.
82. Subach, B. R., Witham, T. F., Kondziolka, D., Lunsford, L. D.: Morbidity and survival after BCNU wafer implantation for recurrent glioblastoma: a retrospective case matched cohort series. *Neurosurgery* 43, 1998, s. 678.
83. Taylor C. G., Sargent J. M., Elgie A. W., Reid F. D., Alton P. A., Hill J. G.: The clinical relevance of chemosensitivity testing in ovarian cancer. *Cancer Detect. Prev.*, 22, 1998, s. 305-312.
84. Thomas, D. G. T., Darling, J. L., Paul, E. A., Mott, T. J., Godlee, J. N., Tobias, J. S., Capra, L. G., Collins, C. D., Mooney, C., Bozek, T., Finn, G. P., Arigbabu, S. O., Bullard, D. E., Shannon, N., Freshney, R. I.: Assay of anti-cancer drugs in tissue culture: relationship of relapse free interval (RFI) and in vitro chemosensitivity in patients with malignant cerebral glioma. *Br. J. Cancer*, 51, 1985, s. 525-532.
85. Tonn, J. C., Schachenmayr, W., Kraemer, H. P.: In vitro chemosensitivity test of malignant gliomas: clinical relevance of test results independent of adjuvant chemotherapy? *Anticancer. Res.*, 14, 1994, s. 1371-1375.
86. Underhill, C., Clarke, K., Green, M., Mitchell, P., Barlett, J. et al.: MX2 (KRN8602), an active new agent with low toxicity in high grade malignant glioma. 10th NCI-EORTC symposium on new drugs in cancer therapy, June 16-19, 1998, Amsterdam, abstract 650.
87. Ushio, Y., Kochi, M.: Chemotherapy for oligodendroglioma and glioma containing oligodendroglioma components. *Crit. Rev. Neurosurg.*, 8, 1998, s. 19-24.
88. Valtonen, S., Timonen, U., Toivanen, P., Kalimo, H., Kivipelto, L., Heiskanen, O., Unsgaard, G., Kuurne, T.: Interstitial chemotherapy with carmustine-loaded polymers for high-grade gliomas: a randomised double-blind study. *Neurosurgery*, 41, 1997, s. 44-49.
89. Von Hoff, D. D.: He's not going to talk about in vitro predictive assays again, is he? *Commentary. J. Natl. Cancer Inst.* 82, 1990, s. 96-101.
90. Walter, K. A., Tamargo, R. J., Olivi, A., Burger, P. C., Brem, H.: Intratumoral chemotherapy. *Neurosurgery*, 37, 1995, s. 1129-1145.
91. Weingart, J. D., Thompson, R. C., Tyler, B., Colvin, O. M., Brem, H.: Local delivery of the topoisomerase I inhibitor camptothecin sodium prolongs survival in the rat intracranial 9L gliosarcoma model. *Int. J. Cancer*, 62, 1995, s. 605-609.
92. Williams, P. C., Henner, W. D., Roman-Goldstein, S., Dahlborg, S. A., Brummett, R. E., Tableman, M., Dana, B. W., Neuwelt, E. A.: Toxicity and efficacy of carboplatin and etoposide in conjunction with disruption of the blood-brain barrier in the treatment of intracranial neoplasms. *Neurosurgery*, 37, 1995, s. 17-28.
93. Xu J. M., Song S. T., Tang Z. M., Jiang Z. F., Liu X. Q., Zhou L., Zhang J., Liu X. W.: Predictive chemotherapy of advanced breast cancer directed by MTT assay in vitro. *Breast Cancer Res. Treat.*, 53, 1999, s. 77-85.
94. Yung, W. K. A., Shapiro, J. R., Shapiro, W. R.: Heterogeneous chemosensitivities of subpopulations of human glioma cells in culture. *Cancer Res.*, 42, 1982, s. 992.
95. Zeller, W. J., Bauer, S., Remmele, T., Wowra, B., Sturm, V., Srickler, H.: Interstitial chemotherapy of experimental gliomas. *Cancer Treat. Rev.*, 17, 1990, s. 183-189.
96. Zlokovic, B. V., Apuzzo, M. L. J.: Strategies to circumvent vascular barriers of the central nervous system. *Neurosurgery*, 43, 1998, s. 877-878.
97. Zünkler, B., Carson, R. E., Olson, J., Blasberg, R. G., DeVroom, H., Lutz, R. J., Saris, S. C., Wright, D. C., Kammerer, W., Patronas, N. J., Dedrick, R. L., Herscovitch, P., Oldfield, E. H.: Quantification and pharmacokinetics of blood-brain barrier disruption in humans. *J. Neurosurg.*, 85, 1996, s. 1056-1065.

NĚKTERÉ AKTUÁLNÍ ASPEKTY CHEMOTERAPIE MALIGNÍCH NÁDORŮ CENTRÁLNÍHO NERVOVÉHO SYSTÉMU U DĚTÍ

SOME ACTUAL ISSUES IN CHEMOTHERAPY OF BRAIN TUMORS IN CHILDREN

ŠTĚRBA J.

FN BRNO, DĚTSKÁ NEMOCNICE JGM, ODDĚLENÍ DĚTSKÉ ONKOLOGIE

Souhrn: Zhoubné nádory mozku představují více než 20 % z celkového počtu dětských nádorů, z čehož nádorů embryonálních a gliomů o vysokém stupni malignity je kolem 30 %. Ve srovnání s ostatními, extrakraniálními typy dětských nádorů, je pokrok dosažený v léčbě maligních nádorů CNS v posledních desetiletích z řady důvodů jen velmi malý. V článku diskutujeme některé důvody tohoto relativně malého pokroku a možnosti zařazení vysokodávkované chemoterapie i jednotlivých cytostatik do léčebného spektra nádorů CNS u dětí.

Klíčová slova: maligní mozkové nádory u dětí, chemoterapie

Summary: Brain tumors represent about 20% of all pediatric malignancies with about 30% of embryonal and high grade gliomas out of them. Progress achieved for pediatric CNS tumors, compared to extracranial ones remains clearly suboptimal. The reasons for high dose chemotherapy with hemopoietic stem cell support implementation for high risk pediatric patients with CNS tumors are discussed, together with some remarks about different cytostatic agents used in the brain tumors chemotherapy.

Key words: malignant brain tumors, chemotherapy

Úvod:

Nádory centrálního nervového systému u dětí představují více než 20 % všech dětských nádorů. Jejich incidence ve vyspělých zemích trvale mírně narůstá (2) a představuje ve vyspělých zemích cca 32 nově diagnostikovaných zhoubných nádorů CNS na 1 000 000 dětí (20). Jejich klasifikace je nejednotná, a s výjimkou revidované WHO klasifikace dětských mozkových nádorů žádná dostatečně nezohledňuje rozdíly mezi nádory CNS u dětí a dospělých (28, 38, 39). Tato skutečnost značně komplikuje porovnávání léčebných výsledků a spolupodílí se i na obtížích při stanovování optimálních léčebných postupů pro jednotlivé typy dětských CNS nádorů.

Navzdory významnému pokroku v dětské onkologii v posledních desetiletích a významně zlepšenému jak celkovému přežití (OS) i přežití bez známek choroby (EFS) pro téměř všechny extrakraniální typy dětských nádorů, tento pozoruhodný pokrok se prakticky neodrazil v léčbě vysoce rizikových maligních mozkových nádorů. Dlouhodobé bezpříznakové přežití při použití standardní chemoterapie a radioterapie u meduloblastomů vysokého rizika se udává mezi 33 - 45% (31, 47) a u heterogenní skupiny embryonálních tumorů vyrůstajících mimo oblast zadní jámy a gliomů vysokého stupně malignity je úspěšnost léčby ještě nižší (17). Obrovským problémem jsou zde navíc velmi závažné nežádoucí důsledky radioterapie na vyvíjející se dětský mozek, které významným způsobem negativně ovlivňují kvalitu života i u „úspěšně léčených“ dětí (17, 21).

Nádor, který je původně chemosenzitivní a radiosenzitivní, může změnit své chování a po počáteční odpovědi na léčbu progreduje. Důvodem bývá vznik, nebo selekce klonů, rezistentních ke standardně podávané chemoterapii i radioterapii. Klinicky se taková situace projevuje jako léčebné selhání. U nádorů CNS však mohou být příčinami léčebných selhání i jiné faktory, specifické pouze pro tuto lokalizaci. Při plánování chemoterapie nádorů CNS je proto nutné zohlednit urči-

tá specifika, odlišující chemoterapii nádorů CNS od chemoterapie extrakraniálních solidních nádorů.

Specifika chemoterapie CNS nádorů.

Účinnost chemoterapie u nádorů CNS je omezena z několika důvodů.

1. CNS je chráněn před účinkem cytostatik hematoencefalickou bariérou. (HEB) Schopnost průniku mají pouze lipofilní látky (především deriváty nitrozourey, prokarbazin, teniposid) a látky s neionizovanými molekulami, jejichž velikost nepřesahuje 200 daltonů (např. 5FU). Dosažení účinné koncentrace cytostatika v nádoru brání především pomalý průnik molekul cytostatik hematoencefalickou bariérou (21). Situace je však dále ovlivněna disrupcemi HEB, které jsou způsobeny jak vlastním nádorem, tak neurochirurgickými intervencemi. V nádorové tkáni tak lze detekovat účinné hladiny i těch cytostatik, která nepřekračují HEB (34). Je třeba si ale uvědomit, že v oblastech mozku, které přímo naléhají na vlastní nádorovou masu, je koncentrace chemoterapeutik nepřekračujících HEB jen velmi malá. Přítomnost nádorových buněk (zejména u infiltrativně rostoucích nádorů) je však nutno předpokládat právě v těchto oblastech CNS. Suboptimální koncentrace chemoterapeutik především v těchto oblastech pak může být často pravděpodobnější příčinou neúspěchu léčby, než vlastní rezistence na chemoterapii.

2. Standardně používaná intratekální chemoterapie (metotrexát, cytosin arabinosid) má jasně dokumentovaný klinický význam pouze u akutních leukemií a některých NHL. U primárních mozkových nádorů (s výjimkou lymfomů CNS) zařazení intratekální chemoterapie dosud nepřineslo zlepšení léčebných výsledků (21). Důvodem je jednak pomalá difúze cytostatik z likvoru do mozkové tkáně, jednak fakt, že výše zmiňovaná standardní cytostatika pro intratekální podání

nejdou efektivními léky pro maligní mozkové nádory. Zkouší se proto i.th. podávání netradičních cytostatik, např. mafosfamid a topotekanu (44).

3. Zvýšený nitrolební tlak působí změnu tlakového gradientu mezi kapilárami a extravaskulárním prostorem, což nepříznivě ovlivňuje průnik cytostatika do CNS.

4. Další nepochybnou příčinou dosud malého úspěchu chemoterapie u nádorů CNS je také jejich malá růstová frakce.

I přes tato omezení se chemoterapie stala významnou léčebnou modalitou v léčbě maligních nádorů CNS u dětí. Cytostatika jsou podávána v různých kombinacích, dnes již prakticky u všech typů zhoubných nádorů CNS u dětí. (17, 21, 34)

Podíváme-li se však na jednotlivá chemoterapeutika, běžně používaná v léčbě dětských mozkových nádorů (cytosin arabinosid, busulfan, BCNU, CCNU, hydroxyurea, melfalan, deriváty platiny, vysoce dávkovaný metotrexát, etopozid, thiotepa, prokاربazin i další), zjistíme, že jen některé z nich mají dostatečně prokázanou efektivitu na CNS nádory cestou klinických studií fáze II, naopak některá jiná slibná chemoterapeutika nejsou z různých důvodů používána.

Kombinovaná chemoterapie pro nádory CNS u dětí by optimálně měla zahrnovat cytostatika, která již prokázala svou účinnost ve studiích II. fáze klinického zkoušení. Jednoznačná klinická odpověď na podávání jednotlivého cytostatika je pro embryonální nádory jasně dokumentována pouze pro cyklofosfamid (2) a deriváty platiny (34). Pro gliomy nízkého stupně malignity především pro deriváty platiny a cyklofosfamid (21). Pro etopozid se předpokládá dobrá účinnost především u ependymomů (5). Ostatní léky byly buď testovány v době, kdy ještě nebyly k dispozici moderní zobrazovací metody schopné jasně dokumentovat protinádorovou odpověď, nebo byly zkoušeny na velmi malých počtech pacientů, anebo nebyly zkoušeny u těchto typů nádorů u dětí vůbec. Jako příklady je možno uvést především vinkristin, etopozid, thiotepu a antracykliny.

Vinkristin (VCR)

Vinkristin je hojně používán v léčbě mozkových nádorů u dětí (12, 24, 25, 46) a je i dnes standardní součástí prakticky všech aktivních chemoterapeutických schémat. Jeho hlavní výhodou je minimální hematologická toxicita, snadnost podávání, možnost konkomitantního podávání s radioterapií a mnohdy i snaha „podat alespoň něco“. Jeho hlavním nežádoucím účinkem v běžně používaných dávkách je periferní neuropatie, zatímco přímá toxicita na CNS je minimální. Dojde-li však k intratekálnímu podání VCR omylem, CNS toxicita pro pacienta je obrovská a následky zpravidla fatální (1, 11). Tato pozorování vedla ke zkoumání sérových a likvorových koncentrací VCR po běžných i.v. podáních (27) u 17 dětí s ALL a NHL bez známek aktivity základního onemocnění v CNS. U žádného z těchto dětí nebyla následně po i.v. aplikaci VCR detekována měřitelná hladina vinkristinu v likvoru. Toto pozorování poněkud zpochybňuje dnes tak široce rozšířené podávání VCR u dětí s mozkovými nádory, a to především pro nádory s prakticky intaktní hematoencefalickou bariérou (gliomy nízkého stupně malignity). Některá renomovaná pediatricko onkologická pracoviště již vinkristin ze svých schémat pro gliomy nízkého stupně malignity vypustila, pro nádory o vysokém stupni malignity je to první cytostatikum, jehož dávka se redukuje či vynechává (23). Většina pracovišť se však dosud drží platných, aktivních protokolů, jak severoamerických, tak západoevropských, kde vinkristin je integrální součástí léčebných schémat. Jedním z důvodů, proč je VCR podáván i v recentních léčebných protokolech, je předpoklad jeho antiangiogenního efektu, k jehož dosažení však velmi pravděpodobně stačí menší dávky, než používané konvenčně. (23)

Etopozid

Etopozid je jedním z nejčastěji používaných léků, především v léčbě meduloblastomů (12, 17) a ependymomů (5). Úloha etopozidu u meduloblastomu byla nedávno kriticky

zhodnocena Mestrangleem (34). Ten při hodnocení dostupné literatury našel, že navzdory širokému používání u meduloblastomů, ve velmi podobných dávkách (100mg/m², v 5 po sobě jdoucích dnech), se tato indikace opírá pouze o 2 studie s celkem 8 pacienty (4,14). Objektivní odpověď byla prokázána pouze u 3 dětí, z toho u 1 se jednalo o dosažení remise po extracerebrálním relapsu meduloblastomu (postižení skeletu). Poněkud racionálnější se zdá zařazení etopozidu do léčebného schématu u dětí s ependymomy a etopozid je klíčovým cytostatikem současného protokolu jak Mezinárodní společnosti pro dětskou onkologii (SIOP), tak severoamerické Pediatric Oncology Group i národních protokolů italských a německých (5). Avšak i zde jediná dosud publikovaná randomizovaná studie srovnávající přínos chemoterapie etopozidů vůči neobsahovala a chemoterapie CCNU, vinkristinem a prednisonem u dětí s ependymomy neměla žádný přínos na zlepšení celkových léčebných výsledků (10).

Antracykliny

Daunorubicin, doxorubicin a další antracyklinová antibiotika představují dnes jedny z neúčinnějších chemoterapeutik. Ačkoliv jsou in vitro účinné vůči řadě buněčných kultur mozkových nádorů, jejich klinická účinnost u nádorů mozku je zanedbatelná právě pro velmi špatnou penetraci do CNS. Liposomální formy antracyklinových derivátů v preklinickém i klinickém zkoušení vykazují příznivé farmakokinetické parametry (16), které spolu s prodlouženým sérovým poločasem, pomalým a selektivním uvolňováním cytostatika do nádoru přímo vybízejí k jejich zkoušení u CNS nádorů. Gennuso a další prokázali, že liposomální antracykliny jsou po systémovém podání selektivně vychytávány v nádorových strukturách CNS, zatímco vychytávání v normálních strukturách CNS bylo minimální (18). První klinické výsledky s podáváním DaunoXomu (liposomální daunorubicin) u dětí s nádory CNS popsal Lippens. 14 dětí s rekurentními nebo progredujícími nádory CNS bylo léčeno dávkou 60mg/m², 1x za 4 týdny, do celkové kumulativní dávky 600mg/m². Léčba byla velmi dobře tolerována a bylo dosaženo 2 kompletních, 3 parciálních remisí a dvakrát stabilizace choroby (32).

Podávání liposomálních antracyklinů u dětí s vysoce rizikovými nádory CNS tak může představovat buď alternativu, nebo i doplněk k současně existujícím léčebným postupům pro vysoce rizikové nádory, které dosud využívají vysokodávkovanou chemoterapii s podporou periferních kmenových buněk (33, 43).

Thiotepa

Polyfunkční alkylační látka thiotepa, patřící mezi etyléniminy se používá v onkologii více než 30 let. Iniciální studie fáze I a II prokázaly, že thiotepa je aktivní proti celé řadě nádorů u dětí i dospělých. Lék je znám svým výborným průnikem do CNS, kdy hladiny v likvoru prakticky odrážejí hladiny v plasmě (41). V chemoterapii nádorů CNS si získala místo především jako součást kombinované léčby v rámci přípravných předtransplantačních režimů (15, 36). Thiotepa jako samostatný preparát byla zkoušena v léčbě astrocytomů vysokého stupně malignity u dětí ve Velké Británii formou terapeutického okna (window study) v letech 1995 – 1998. Konečné výsledky nebyly dosud publikovány, ale britská dětská onkologická pracovní skupina již tento protokol pro neuspokojivé výsledky opustila. Pochybnosti o efektivitě thiotepy v předtransplantačních přípravných režimech u dětí s tumory CN již publikoval Mastrangelo. Thiotepu v kombinaci s busulfanem jako přípravný předtransplantační režim podal u 14 těžce předléčených dětí s relapsem meduloblastomu. Pouze nádory, které odpověděly na iniciální léčbu konvenčními dávkami samotného busulfanu, odpověděly také na kombinovanou vysokodávkovanou chemoterapii busulfan + thiotepa (34). Z toho lze usuzovat, že přínos thiotepy k celkovým léčebným výsledkům za této situace asi nebyl zásadní.

Busulfan

Busulfan je v léčbě maligních mozkových nádorů u dětí široce používán ve vysokých dávkách, zpravidla v kombinaci s thiotepou, s následnou transplantací autologní kostní dřeně (ABMT) a nověji periferních progenitorových buněk krve tvorby (PBSCT) (8,12,24). S použitím standardních dávek busulfanu je dosud minimum zkušeností, ale povzbudivá data o možnostech efektivní a zejména racionální léčby standardními dávkami busulfanu publikoval v již zmiňované studii Mastrangelo (34). V onkologii dospělých jsou relativně nízké dávky busulfanu významnou součástí známého submyeloablativního režimu Slavina (40).

Další preparáty:

Temozolomid je imidazotetrazinový derivát, strukturálně podobný DTIC a jeho cytostatický účinek se vysvětluje převážně alkylací. Dobře se resorbuje z trávicího ústrojí, přeměna na vlastní biologicky aktivní látku nastává chemicky při fyziologických hodnotách pH. Látko velmi dobře proniká hematoencefalickou bariérou a má synergický účinek s deriváty nitrozomocoviny (35). U dospělých pacientů s gliomy vysokého stupně malignity byly již publikovány výsledky klinických studií II. fáze, ukazující dobrý paliativní efekt, u dětí dosud proběhly „dose finding“ studie I. fáze a v současnosti probíhají rozšířené studie I. fáze a studie II. fáze klinického zkoušení. Nejnadějnější jsou zatím výsledky u meduloblastomů. (9, 35).

Dalším zajímavým preparátem pro potenciální zařazení do léčebného spektra u nádorů CNS u dětí je antiestrogen **tamoxifen**, analogon klomifenu. Tento preparát není na rozdíl od léčby dospělých u dětí příliš používán. Avšak díky inhibiční aktivitě tamoxifenu vůči proteinové kináze C (PKC), by se mohlo zdát logické jeho použití především v léčbě gliomů o vyšším stupni malignity. U těchto nádorů se předpokládá, že jejich proliferace je na excesivní aktivaci PKC alespoň částečně závislá. U dětí byly dosud v těchto souvislostech publikovány pouze kazuistiky a výsledky studií I. fáze klinického zkoušení (3, 37).

Důvody pro zařazení vysokodávkované terapie

Korelace mezi dávkovou intenzitou (definovanou jako množství cytostatika podané za jednotku času) a léčebnými výsledky je dostatečně dokumentována řadou klinických studií pro různé druhy nádorových onemocnění (22, 47).

Celá řada pediatrických studií - například studie Mezinárodní společnosti pro dětskou onkologii (SIOP I-III) (42) i další (12) přinesly dostatek zkušeností s adjuvantní chemoterapií pro dětské nádory CNS, nadějně jsou i některé výsledky s chemoterapií u dětí mladších 3 let ve snaze oddálit radioterapii (6).

Fakt vysokého procenta relapsů a možnost znovu léčebně ovlivnit již vzniklou recidivu další chemoterapií, především vysokodávkovanou (7,13), vedl ke snaze konsolidovat dosaženou léčebnou odpověď, a u rizikových nádorů eliminovat zbytkovou nádorovou populaci jedním velkým nárazem vysokodávkované chemoterapie (HDCT) s následnou transplantací kostní dřeně, nověji periferních progenitorových buněk krve tvorby (PPC). HDCT s transplantací PPC (PPCT) je zařazována na závěr vlastní standardní léčby u nově diagnostikovaných onemocnění, tedy po několika měsících předchozí konvenční léčby. Tato léčebná strategie se stala součástí standardní léčby některých dětských nádorů (26,30). V některých případech skutečně vedla ke zlepšení léčebných výsledků (26), u některých dosud ne (29, 45). U některých nádorů se vzhledem k úspěchu HDCT a PPCT u recidiv intenzivně uvažuje o zařazení této modality již do primární léčby nově diagnostikovaného onemocnění (zejména vysoce rizikové skupiny maligních mozkových nádorů) (19, 33).

Alternativou ke konsolidaci remise na závěr léčby může být podávání několika bloků intenzivní, submyeloablativní chemoterapie již velmi časně v průběhu léčby.

Bloky chemoterapie jsou zde podávány v rychlém sledu, prakticky bez ohledu na hodnoty periferního krevního obrazu, s podporou předem odebraných periferních kmenových buněk. Důvodem pro časnější podávání raději několika bloků intenzivní chemoterapie s PBSCT u dětí s vysoce rizikovými (zejména metastatickými) CNS nádory je horší tolerance klasické vysokodávkované chemoterapie, s řadou velmi závažných peritransplantačních komplikací, vysokou peritransplantační mortalitou (23) a nutností časného zařazení radioterapie do léčebného schématu (17). Hematologická toxicita chemoterapie po proběhlé radioterapii je velmi závažná, neboť přibližně 40% objemu kostní dřeně je vystaveno účinku radioterapie.

Na oddělení dětské onkologie FN Brno jsme program intenzivní sekvenční chemoterapie s podporou periferních kmenových buněk u dětí s nově diagnostikovanými vysoce rizikovými nádory CNS zahájili v 11/98 a do 7/99 jsme do něj zařadili 4 děti, 2 děvčata a 2 chlapce. Průměrný věk v době stanovení diagnózy byl 5.6 let (2.8 – 10 let), obě děvčata onemocněla metastatickým meduloblastomem, oba chlapci měli gliální nádory vysokého stupně malignity, jeden z nich s invazí do mozkového kmene. Všechny 4 děti byly iniciálně operovány a důvodem pro zařazení do skupiny vysokého rizika bylo u dvou pacientů metastatické postižení, u 2 velký rozsah pooperačního rezidua. U jednoho dítěte s metastatickým meduloblastomem jsme navíc detekovali amplifikaci c-myc onkogenu.

V souvislosti s podáváním této intenzivní chemoterapie a následnými převody PBSC jsme dosud nezaznamenali žádné úmrtí, 3 pacienti již veškerou plánovanou léčbu ukončili, jeden pokračuje podle původního léčebného plánu, bez nutnosti modifikace. Podávání sekvenční intenzivní chemoterapie s podporou PPC je v podmínkách našeho oddělení proveditelné a není spojeno s nepříjemnými nežádoucími účinky. Ve 13 případech podání HDCT s PPCT jsme dosud nezaznamenali žádné „peritransplantační“ úmrtí, co se týče akutní toxicity jde rozhodně o léčbu méně toxickou než je klasická megachemoterapie s PPCT.

Toxicita léčby je tedy přijatelná, nicméně organizace celé léčby je dosti složitá a klade značné nároky na členy všech spolupracujících týmů řady pracovišť (separační středisko, tkáňová banka, oddělení).

Na základě literárních údajů i našich vlastních výsledků lze říci, že intenzivní chemoterapie s následnou podporou periferních kmenových buněk je relativně dobře tolerovanou léčbou, a lze ji tedy považovat za racionální léčebnou metodu pro některé individuálně pečlivě vybrané skupiny dětí s vysoce rizikovými nádory. Dlouhodobou účinnost tohoto způsobu léčby však bude třeba teprve ověřit na větších souborech pacientů.

Závěr

Vzhledem k dosavadním neuspokojivým výsledkům léčby vysoce rizikových maligních nádorů CNS u dětí je zřejmé, že nové léčebné postupy jsou naléhavě zapotřebí a snaha o jejich zavádění zcela oprávněná.

Domníváme se, že než bude možno klinicky využít přibývajících znalostí o genových regulacích, molekulárně biologických metod, a ovlivnit genetické změny vedoucí k neoplastické transformaci CNS, je zapotřebí trvale kriticky vyhodnocovat a v případě potřeby i přepracovávat stávající chemoterapeutická schémata. Adekvátní selekce jednotlivých preparátů i léčebných schémat, zařazení vysokodávkované chemoterapie pro indikované stavy tak může přispět v úsilí o zlepšení vyhlídky dětí, které onemocní nádorem CNS, již v blízké budoucnosti.

Literatura

1. Al Ferayan A, Russell NA, Al Wohaibi M, Awada A, Scherman B: Cerebrospinal fluid lavage in the treatment of inadvertent intrathecal vincristine injection. *Childs Nerv Syst*; 15(2-3):87-9 1999.
2. Allen JC, Siffert J: Contemporary issues in the management of childhood brain tumors. *Curr Opin Neurol*, 10: 1997, 137 - 149.
3. Ben Arush MW, Postovsky S, Goldsher D, et al: Clinical and radiographic response in three children with recurrent malignant cerebral tumors with high-dose tamoxifen. *Pediatr Hematol Oncol*; 16(3):245-50 1999.
4. Boor R, Huber A, Gutjahr et al: Etoposide treatment in recurrent medulloblastoma. *Neuropediatrics* 25, 1994, 39 - 41.
5. Bouffet E, Massimino M: SIOP protocol for intracranial ependymoma. Proceedings, 8th International Symposium on Pediatric Neuro-Oncology, Rome, Italy, May 1998.
6. Duffner PK, Horowitz ME, Krischer JP et al: Postoperative chemotherapy and delayed radiation for children less than three years of age with malignant brain tumors. *N Eng J Med* 328: 1993, 1725 - 1731.
7. Dunkel IJ, Boyet JM, Yates A et al: High dose carboplatin, thiopeta and etoposide with autologous stem cell rescue for patients with recurrent medulloblastoma. *J Clin Oncol*, 16, 1998 222 - 28.
8. Dupuis-Girod S, Hartmann O, Benhamou E et al: Will high dose chemotherapy followed by autologous bone marrow transplantation supplant cranio-spinal irradiation in young children treated for medulloblastoma? *J Neurooncol* 27: 1996, 87-89.
9. Estlin EJ, Lashford L, Ablett S, et al: Phase I study of temozolomide in paediatric patients with advanced cancer. United Kingdom Children's Cancer Study Group. *Br J Cancer*; 78(5):652-61 1998.
10. Evans AE, Anderson JR, Lefkowitz Boudreaux IB et al: Adjuvant chemotherapy of childhood posterior fossa ependymoma: Craniospinal irradiation with or without CCNU, vincristin and prednisone: A Childrens Cancer Group study. *Med Ped Oncol* 27:1996, 8 - 14.
11. Fernandez CV, Esau R, Hamilton D, Fitzsimmons B, Pritchard S: Intrathecal vincristine: an analysis of reasons for recurrent fatal chemotherapeutic error with recommendations for prevention. SOURCE: *J Pediatr Hematol Oncol*; 20(6):587-90 1998.
12. Finlay JL, Boyet J, Yates AJ, et al: Randomized phase III trial in childhood high grade astrocytoma comparing vincristine, lomustin and prednisone with eight drugs in 1 day regimen. *J Clin Oncol* 13, 1995, 112 - 123.
13. Finlay JL, August C, Packer R et al: High dose multi agent chemotherapy followed by bone marrow rescue (ABMR) in patients with recurrent medulloblastoma (MB) / primitive neuroectodermal tumors (PNET) *Proc Am Soc Clin Oncol* 13: 1994, 176.
14. Finn GP, Bozek T, Souhami RL et al: High dose etoposide in the treatment of relapsed primary brain tumors. *Cancer Treat Rep* :69, 1985, 603 - 605.
15. Fleischhack G, Popping K, Hasan et al: High dose chemotherapy with thiopeta, carboplatin, VP16 and autologous stem cell transplantation in treatment of malignant brain tumors with poor prognosis. Results of a mono-center pilot study; *Klin Padiatr*; 210(4):248-55 1998.
16. Gabizon A, Shiota R, Papahadjopoulos D: Pharmacokinetics and tissue distribution of doxorubicin encapsulated in stable liposomes with long circulation times. *J Natl Cancer Inst* 81, 1484 - 1488, 1989.
17. Gajjar A: Recent Advances in therapy for medulloblastoma: American Society of Clinical Oncology 1999 Educational Book, 579 - 586.
18. Gennuso R, Spigelman MK, Chinot M, et al: Effect of blood-brain barrier and blood-tumor barrier modification on central nervous system liposomal uptake. *Cancer Invest*. 11:, 1993, 118 - 128.
19. Graham ML, Herndon JE, Casey JR et al: High dose chemotherapy with autologous stem cell rescue in patients with recurrent and high risk pediatric brain tumors. *J Clin Oncol* 15, 1997, 1814 - 1822.
20. Gurney JG. Brain cancer incidence in children: Time to look beyond the trends. *Med Pediatr Oncol* 33: 1999, 110 - 112
21. Heideman RL, Packer RJ, Albright LA et al: Tumors of the central nervous system, in: Pizzo PA, Poplack DG, Principles and Practice of Pediatric Oncology, Third edition, Lippincot Raven, 1997.
22. Hryniuk W: The importance of dose intensity in the outcome of chemotherapy. In: De Vita VT, Helman S, Rosenberg SA: Important advances in oncology: Philadelphia: Lippincott, 1989, 121 - 141.
23. Chen Allen R, John Hopkins Hospital Baltimore. *Ped. Oncol dpt., osobní komunikace* 5/ 1999.
24. Jakacki RI, Jamison C, Mathews V et al: Dose intensification of Procarbazine, CCNU, Vincristine (PCV) with peripheral stem cell support in young patients with gliomas. *Med Pediatr Oncol* 31:, 1998, 483 - 490.
25. Kato T, Sawamura Y, Tada M et al: Cisplatin/vincristine chemotherapy for hypothalamic/visual pathway astrocytomas in young children.: *J Neurooncol*; 37(3):263-70 1998.
26. Kavan P, Koutecký J: Současný pohled na myeloablativní léčbu s následnou transplantací hematopoetických kmenových buněk u dětských solidních nádorů *Klinická onkologie* 10, 4/97, 106 - 109.
27. Kellie SJ, Barbaric D, Carr DJ et al: Vincristin Concentrations in Serum and CSF following bolus i.v. doses in children with acute lymphoblastic leukemia: A pharmacokinetic study. *Procc. Am Soc Clin Onc* 1999, 199a, A 766.
28. Kleihues P, Burger PC, Scheithauer BW. The new WHO classification of brain tumors. *Brain Pathol*. 1993, 3, 255.
29. Koscielniak E, Klingebiel TH, Peters C et al: Do patients with metastatic and recurrent rhabdomyosarcoma benefit from high dose therapy with hematopoietic rescue ? Report of the German/ Austrian Pediatric Bone Marrow Transplantation Group. *Bone Marrow Transplantation*, 1997, 19, 227 - 231.
30. Koza V, Indrák K, Ivašková E, Jebavý L, Kavan P, Kozák T, Mazer J, Penka M, Petruželka L, et al: Indikace k alogenním a autologním transplantacím krve a kostní dřeně. Doporučení Hematologické společnosti Č35.LS JEP a Onkologické společnosti Č37.LS JEP. *Praktický lékař* 7, 1997, 476 - 481.
31. Kuhl J, Muller HL, Berthold F et al: Preirradiation chemotherapy of children and young adults with malignant brain tumors: Results of the German pilot trial HIT 88/89 *Klin Padiatr* 210, 1998, 227 - 233.
32. Lippens RJ Liposomal daunorubicin (DaunoXome) in children with recurrent or progressive brain tumors. *Ped Hem Oncol* 16, (2): 131 - 139 1999.
33. Mason WP, Gravas A, Halpern S et al: Intensive chemotherapy and bone marrow rescue for young children with newly diagnosed malignant brain tumors. *J Clin Oncol* 16, 1998, 210 - 221.
34. Mastrangelo S, Tornesello A, Mastrangelo R: Chemotherapy of Medulloblastoma. *Med Ped Oncol* 33: 1999, 116 - 119.
35. Nicholson HS, Krailo M, Ames MM, Seibel NL, Reid JM, Liu-Mares W, Vezina LG, Ettinger AG, Reaman GH: Phase I study of temozolomide in children and adolescents with recurrent solid tumors: a report from the Children's Cancer Group. *J Clin Oncol*; 16(9):3037-43 1998.
36. Papadopoulos KP, Garvin JH, Fetell M et al: High-dose thiopeta and etoposide-based regimens with autologous hematopoietic support for high-risk or recurrent CNS tumors in children and adults. *Bone Marrow Transplant*; 22(7):661-7 1998.
37. Pollack IF, DaRosso RC, Robertson PL et al: A phase I study of high-dose tamoxifen for the treatment of refractory malignant gliomas of childhood.: *Clin Cancer Res*; 3(7):1109-15 1997.
38. Rorke LB, Gilles FH, Davis RL et al: Revision of the World Health Organization Classification of Brain Tumors for Childhood Brain Tumors. *Cancer* 56, 1985, 1869 - 1886.
39. Russell DS, Rubinstein LI: Pathology of tumors of the nervous system, 5th ed., Baltimore: Williams & Wilkins, 1989.
40. Slavin S, Nagler A, Naparstek E et al: Nonmyeloablative stem cell transplantation and cell therapy as an alternative to conventional bone marrow transplantation with lethal cytoreduction for the treatment of malignant and nonmalignant hematologic diseases. : *Blood*; 91(3):756-63 1998.
41. Strong JM, Collins JM, Lester C et al: Pharmacokinetics of intraventricular and intravenous Thiopeta in Rhesus monkey and humans. *Cancer Res* 46: 1986, 6101 - 6104.
42. Tait DM, Thornton -Jones H, Bloom HJG et al: Adjuvant chemotherapy for medulloblastoma : The first multi-center control trial of the International Society of Pediatric Oncology (SIOP I) *Eur J Cancer* 26, 1990, 464 - 469.
43. Štěrbá J, Dembická D, Kofístek Z, Šlampa P. Vysokodávkovaná chemoterapie s podporou periferních buněk krvetvorby v léčbě vysoce rizikových maligních nádorů CNS u dětí. ČS2.-S pediatrie, v tisku.
44. Vassal G, Pondarre C, Boland I, Cappelli C, Santos A, Thomas C, Lucchi E, Imadalou K, Pein F, Morizet J, Gouyette A: Preclinical development of camptothecin derivatives and clinical trials in pediatric oncology: *Biochimie*; 80(3), 1998, 271-80.
45. Walterhouse DO, Hoover ML, Marymont MA et al: High -dose chemotherapy followed by peripheral blood stem cell rescue for metastatic rhabdomyosarcoma: he experience at Chicago Childrens Memorial Hospital. *Med Pediatr Oncol* 32: 1999, 88 - 92.
46. White L, Kellie S, Gray E et al: Postoperative chemotherapy in children less than 4 years of age with malignant brain tumors: promising initial response to a VETOPEC-based regimen. A Study of the Australian and New Zealand Children's Cancer Study Group (ANZCCSG). *J Pediatr Hematol Oncol*; 20(2):125-30 1998.
47. Wood WC, Budman DR, Korzun AH et al: Dose and dose intensity of adjuvant chemotherapy for stage II, node positive breast carcinoma. *A Eng J Med* 330: 1994, 1253 - 1259.

TYMIDYLÁT SYNTÁZA A JEJÍ VÝZNAM V PREDIKTIVNÍ ONKOLOGII

THYMIDYLATE SYNTHASE AND ITS SIGNIFICANCE IN PREDICTIVE ONCOLOGY

COUFAL O., ŽALOUŠÍK J., MALÁSKA J., VYZULA R.

UNIVERZITNÍ ONKOLOGICKÉ CENTRUM LF MU - CHIRURGICKÁ KLINIKA A ODDĚLENÍ KLINICKÉ ONKOLOGIE FN BRNO

Souhrn: V době expanzivního nárůstu možností léčby nádorových onemocnění přestává být únosné plánování její strategie pouze na základě histomorfologické diagnózy a stágingu. Studují se mnohé nádorové parametry, které mohou sloužit jako prediktory léčebné odpovědi, a tak vést k individualizaci, racionalizaci a především zvýšení účinnosti protinádorové terapie. Jedním z těchto intenzivně studovaných parametrů – prediktorů, zejména u kolorektálního karcinomu, je tymidylát syntáza. Tento enzym je obsažen v normálních i nádorových buňkách, kde je nezbytný pro syntézu deoxyribonukleové kyseliny a má i funkci regulátoru translace. Expresse tymidylát syntázy v nádorových buňkách bývá mnohonásobně vyšší než v buňkách normálních, v souladu s jejich vyšší proliferací aktivitou. Inhibice tohoto enzymu je pak hlavním mechanismem účinku fluoropyrimidinových chemoterapeutik. Úroveň exprese tymidylát syntázy lze stanovovat různými metodami, z nichž se z více hledisek jako nejlepší pro praxi jeví metoda polymerázové řetězové reakce. Dle stanovené úrovně exprese tymidylát syntázy v buňkách konkrétního maligního nádoru (zejména kolorektálního karcinomu) lze usuzovat na stupeň jeho agresivity a v jistých případech s velkou pravděpodobností vyloučit pozitivní efekt fluoropyrimidinové chemoterapie. Tak by nebylo nutné pacienta zbytečně zatěžovat jejími nežádoucími účinky, nýbrž bez prodlení započít s jiným způsobem léčby, který má naději na úspěch.

Klíčová slova: Tymidylát syntáza - fluoropyrimidinová chemoterapeutika – PCR - kolorektální karcinom - chemoresistence

Summary: With fastly growing options in cancer diagnosis and therapy it is no more acceptable to select the treatment strategy only on the basis of histomorphology and clinical staging. Many biological features of tumors have been studied, and some of them may serve as predictors of therapeutic response enabling to tailor and hopefully improve the efficacy of the anti-cancer therapy. One of these intensively studied predictive parameters, especially in colorectal carcinoma, is thymidylate synthase (TS). This enzyme is present in normal and cancer cells being required for regular DNA synthesis and functioning as a regulator of the translation. TS levels in cancer cells use to be much higher than in normal cells depending on their proliferative activity. Inhibition of TS is the principal mechanism of fluoropyrimidines and high activities of TS remarkably decreases their anti-cancer effect. The level of TS expression can be determined by different methods, out of which the most sensitive and practicable seems to be the polymerase chain reaction. According to determined level of TS expression in the cells of particular malignant tumor (especially colorectal carcinoma) it is possible to predict, with a high probability, the resistance to fluoropyrimidines, to exclude the ineffective fluoropyrimidine-based regimen from the chemotherapeutic scheme and suggest a different, potentially more effective drugs, eg. topoisomerase inhibitors etc.. In such a case the patient is not only saved from therapeutic delay caused by ineffective treatment and unnecessary toxic effects, but offered with a rational, tumor-adjusted and presumably more effective chemotherapy.

Key words: Thymidylate synthase – fluoropyrimidine chemotherapeutics – PCR – colorectal carcinoma – chemoresistance

Význam prediktorů v onkologii a tymidylát syntáza jako prediktor léčebné odpovědi

Léčebná odpověď fluoropyrimidinových cytostatik, jejichž nejužívanějším představitelem je 5-fluorouracil, se pohybuje kolem 15-30 %. V současné době se dostávají na trh nové fluoropyrimidiny s výhodou perorálního podání jako je UFT (tegafur v kombinaci s uracilem) nebo capecitabin a specifické inhibitory tymidylát syntázy podávané diskontinuálně v delších intervalech jako raltitrexed. Nabídka těchto nových cytostatik znamená také podstatně vyšší cenu. Dosavadní neselektované podávání všem pacientům pouze na základě histologické diagnózy a TNM klasifikace znamená zbytečné náklady a toxicitu u nejméně dvou třetin nemocných s kolorektálním karcinomem, ovšem i dalšími nádory trávicího traktu a jiných lokalizací, kde jsou cytostatika na bázi fluoropyrimidinů podávána. Testování citlivosti na jednotlivá cytostatika v primokulturách resekovaných nádorů nebo biopsií je technologicky náročné, dosud ne zcela standardizované a bezpečí málo dostupné pro většinu pracovišť. Vystává proto potřeba zaměřit se na specifické, byť nepřímé prediktory che-

morezistence. Můžeme je chápat jako proměnné, získané vyšetřením nádorového vzorku, které poskytují prospektivní informaci o účinnosti různých způsobů léčby daného nádoru, a na jejichž základě pak může být o způsobu léčby rozhodnuto (1). V případě fluoropyrimidinů je klíčovým enzymem ovlivňujícím jejich cytostatické účinky v nádorových buňkách tymidylát syntáza (TS). Jde o prediktor, který by mohl být vskutku široce využíván, vezmeme-li úvahu incidenci nádorů trávicího traktu a dalších, u nichž minimálně 5-fluorouracil patří do první léčebné řady. Pokládáme za účelné podat přehled současných poznatků o možnostech stanovení tymidylát syntázy pro individualizaci chemoterapie za situace, kdy tato metoda není dosud v České republice využívána.

Kolorektální karcinom, který u nás co do četnosti představuje přibližně 10 % všech maligních nádorů, stojí v potřebě klinických aplikací detekce tymidylát syntázy na prvním místě. Jak jeho paliativní, tak adjuvantní chemoterapie je založena na fluoropyrimidinech, v současnosti zejména 5-fluorouracilu. Brzy nás ovšem čeká nástup novějších preparátů jako jsou perorální fluoropyrimidiny (UFT) nebo specifické inhibitory tymidy-

lát syntázy (raltitrexed). Léčba fluoropyrimidiny však zůstává ve více než 2/3 případů bez významnější klinické odpovědi. Určitá dílčí zlepšení chemoterapie 5-fluorouracilem přinesly režimy jeho potence leukovorinem (2), kontinuálním podáním a vyšší dávkovou intenzitou (3), regionálním podáním (4-6) a chronobiologicky modulovanou chemoterapií (7, 8).

Vysoká exprese TS v nádorové tkáni znamená nízkou nebo žádnou účinnost fluoropyrimidinů, zbytečnou toxicitu i náklady, ostatně i ztrátu času umožňující další progresi nádoru, který by měl být již od počátku léčen třeba inhibitory topoizomeráz nebo platinovými deriváty. Detekce TS v nádorové tkáni může pomoci vybrat případy, u nichž má léčba fluoropyrimidiny naději na úspěch, a je ji možno i zintenzivnit potencionálním, kontinuálním, chronobiologickým nebo regionálním režimem (9). V rámci EORTC je v Belgii vedena jedna z prvních klinických studií, která selektuje nemocné s kolorektálním karcinomem pro chemoterapii 5-fluorouracilem nebo irinotekanem (CPT-11) právě podle stavu exprese tymidylát syntázy. Posun inhibitorů topoizomeráz do první linie léčby kolorektálního karcinomu na základě klinických studií neselektovaných nemocných a postupné zavádění perorálních fluoropyrimidinů potřebu racionální individualizace chemoterapie akcentují, a to i z hlediska významných cenových rozdílů mezi standardním 5-fluorouracilem a novějšími typy cytostatik.

Tymidylát syntáza a její funkce v buňce

Tymidylát syntáza (TS; EC 2.1.1.45; 5,10-metylen-tetrahydrofolát dUMP C-metyltransferáza) je enzym obsažený v normálních i nádorových buňkách. Je složena ze dvou identických podjednotek o velikosti 38,5 kD. Je lokalizována v cytosolu a její základní funkcí je katalýza přeměny dUMP (kyselina uridylová, uridylyát) na prekurzor tymidinu dTMP (kyselina tymidylová, tymidylát) za přítomnosti kofaktoru 5,10-metylen-tetrahydrofolátu (THF - redukovaný folát), což je limitující reakce nezbytná pro de novo syntézu DNA. Gen pro TS je lokalizovaný na dlouhém raménku chromosomu 18. (10-13, 81). Některé buňky obsahují i tzv. variantní TS se záměnou jedné nebo více aminokyselin v řetězci a s nižší afinitou k substrátu (14, 96). Hladina TS v buňce je regulována jak na transkripční, tak na posttranskripční úrovni (10, 12, 15, 16). TS je schopna vytvářet specifickou vazbu se svou mRNA, a tak zpětnově blokovat svou vlastní translaci (10, 12, 17). Tato vazba je oslabena v přítomnosti substrátu nebo inhibitoru TS (12).

Bylo prokázáno, že kromě blokování vlastní translace inhibuje TS na této úrovni i expresi p53 prostřednictvím specifické interakce s protein-kódujícími oblastmi p53 mRNA (18, 19). Takové buňky s vysokou expresí TS a nízkou expresí p53 mají narušenu schopnost zástavy buněčného cyklu v G1-fázi a sníženou schopnost indukce apoptózy při své odpovědi na vlivy poškozující DNA (19). Navíc byla zaznamenána i přímá interakce TS s mRNA onkogenu c-myc (17). Tak se zdá, že TS má kromě své základní katalytické funkce i další funkci regulátoru translace čili genové exprese v buňce (18,19).

Tymidylát syntáza jako cílový enzym fluoropyrimidinových chemoterapeutik

Jak již bylo řečeno, jsou fluoropyrimidiny užívány zejména v léčbě kolorektálního karcinomu, ovšem i karcinomu žaludku, jater, pankreatu a dále pak v kombinacích při léčbě karcinomu prsu, nádorů ORL oblastí, bronchogenního karcinomu a příležitostně i u jiných nádorů (11). Jejich mateřskou látkou a nejrozšířenějším představitelem je 5-fluorouracil (5-FU). Jeho cytostatický účinek je zajišťován 3 mechanismy. Po intracelulární konverzi na nukleotid fluorouridinmonofosfát (5-FUMP) vznikají vlastní aktivní metabolity: I. 5-fluorodeoxyuridintrifosfát (FdUTP), který se inkorporuje do DNA a poškozuje tak její funkci. II. 5-fluorodeoxyuridinmonofosfát (FdUMP) se za přítomnosti kofaktoru 5,10-metylen-tetra-

hydrofolátu váže na TS a tím ji inhibuje. III. Posledním mechanismem je inkorporace 5-fluorouridintrifosfátu (FUTP) do určitých druhů RNA (11, 20-24). Variantní TS vykazuje k FdUMP tříkrát nižší afinitu než běžná TS a buňky exprimující variantní TS jsou rezistentnější k cytotoxicitě 5-fluorouracilu (14).

K inhibici TS dochází jak v nádorových buňkách, tak v buňkách normálních tkání. Úroveň inhibice TS v buňce nádorové v porovnání s buňkou normální však nemusí být procentuálně stejná (25-27). O významnosti inhibice TS z hlediska protinádorového účinku FP svědčí mnohé studie potvrzující pozitivní korelaci inhibice TS s inhibicí nádorového růstu v tkáňových kulturách (14, 28, 29) či na zvířecích modelech (30), stejně jako s klinickou odpovědí pacientů na léčbu fluoropyrimidiny (31-35). TS je považována za klinicky nejrrelevantnější cílové místo interference fluoropyrimidinů (36).

Bylo prokázáno, že protinádorový efekt 5-FU je dále zesilován kombinací s leukovorinem (LV), což je formyl-tetrahydrofolát (redukovaný folát), jehož nadbytek vede ke zvýšené tvorbě blokujícího komplexu tetrahydrofolátu, fluorouridinu a TS, která je tímto inhibována ve své katalytické funkci syntézy DNA (11, 37-39).

Mnohokrát pozorovaným jevem je indukované – v závislosti na užití metodě až tisícnásobné (40) – zvýšení exprese TS, které je někdy spojené s amplifikací jejího genu v buňkách exponovaných jejím inhibitorům. To vede k vývoji chemorezistence, jak bylo opakovaně prokázáno na buňkách tkáňových kultur (15, 24, 40, 41, 42). I v klinických studiích byla prokázána vyšší exprese TS v nádorech u pacientů po léčbě inhibitory TS oproti pacientům do té doby neléčeným (43, 44). Za možné mechanismy rezistence k fluoropyrimidinům tak může být považována zvýšená produkce TS (24), obdobně jako strukturální variace TS ve smyslu variantní TS s nižší afinitou k FdUMP či THF (14, 45).

Expresí tymidylát syntázy v různých buňkách se navzájem výrazně liší

Expresí TS v proliferujících buňkách je mnohem vyšší než v buňkách v klidovém stadiu (12, 46). To je v souladu s výrazně větší expresí TS v nádorových buňkách v porovnání s její expresí v buňkách přilehlé zdravé tkáně, v závislosti na užití metodě až desetinásobně, ať už jde o kolorektální karcinom a sliznici tlustého střeva (47), karcinom žaludku a normální žaludeční sliznici (48), nebo o jaterní metastázy a normální jaterní tkáň (26, 49), případně o spinocelulární karcinom hlavy a krku a přilehlou normální tkáň (50). Značné rozdíly v expresi TS jsou ovšem i v rámci jednoho typu maligního nádoru u různých osob (35, 47). Ani hodnoty exprese TS v různých metastázách jednoho a téhož nádoru u jedné osoby nebyvají stejné. Rozdíly v expresi TS mezi buňkami jednoho typu normální tkáně se vyskytují také, ale ne v takové míře (23). Variace při opakovaném měření exprese TS z jednoho tkáňového vzorku se pohybovala okolo 20% při stanovení polymerázovou řetězovou reakcí, nebyla však statisticky významná (51).

Metody stanovení exprese tymidylát syntázy

Expresí TS je možno zaznamenat na různých úrovních, schematicky vyjádřených jako: *enzymatická aktivita TS – exprese proteínu TS – hladina transkriptu TS na úrovni mRNA – amplifikace TS genu na úrovni DNA*. Je-li úroveň syntézy TS řízena jak na transkripční, tak na posttranskripční úrovni, je zřejmé, že se změny exprese TS neprojeví na rozdílných úrovních ve stejné míře. Bylo ovšem opakovaně prokázáno, že výsledky dosažené jednotlivými uvedenými metodami spolu korelují v míře dostatečně pro případné klinické účely (13, 35, 40, 47, 52-58). Každá metoda má svá technická, metodická a ekonomická specifika, která musí být při jejím výběru zohledněna. Zmíněny jsou jen nejčastěji užívané metody:

● **Biochemické stanovení aktivity TS kvantifikací vazebných míst pro substrát**

Pomocí triciem značeného ligandu [³H]FdUMP lze stanovit celkový počet vazebných míst, respektive volný počet vazebných míst, označovaný též jako celková, respektive aktivní TS (23, 27, 38, 39, 41, 49, 54, 58, 59). Užívá se vzorků tkáně odebraných do tekutého dusíku. Výsledky jsou udávány v pmol/g tkáně. Problémem aplikace této metody na stanovení TS je ovšem nízká bazální hladina enzymu v mnoha tkáních, kterou se ne vždy daří detekovat (60). Dalším negativem je používání radioaktivních látek spojené s radiační zátěží personálu.

● **Stanovení exprese TS proteinu**

Vyvinuta a v praxi vyzkoušena byla celá řada specifických protilátek proti lidské TS, a to jak polyklonálních (47, 57, 61, 62), tak zejména monoklonálních. Nejčastěji užívanou monoklonální protilátkou je TS 106 (13, 42, 55, 58, 63-66). Standardní imunohistochemické vyšetření s vizualizací reakcí peroxidázovou nebo alkalickou fosfatázou umožní popsat expresi TS v tkáňovém kontextu (47). Imunofluorescenční detekce je poněkud citlivější, avšak obtížnější zohledňuje strukturu tkáně (58). Kvantifikace může být poté prováděna buď orientačně pouhým okem nebo s využitím obrazové analýzy (64). Jako výchozího materiálu je možno použít běžného vzorku fixovaného formaldehydem a zalitého do parafínu. Stanovení TS na úrovni proteinu je možné také metodou Western blottingu (55) nebo metodou ELISA (57, 63).

● **Stanovení hladiny TS mRNA reverzní polymerázovou řetězovou reakcí (RT-PCR)**

Ze vzorku tkáně je nejprve izolována RNA, která je následně pomocí enzymu reverzní transkriptázy (RT) přepsána do komplementární DNA (cDNA). Stanovovaný úsek cDNA odpovídající TS mRNA je mnohonásobně amplifikován a výsledný PCR produkt poté separován pomocí elektroforézy nebo méně často pomocí vysoce účinné kapalinové chromatografie (HPLC) (36, 51) a následně různými metodami kvantifikován (53, 54). Výhodou elektroforetického rozdělení a následného denzitometrického vyhodnocení PCR produktů je relativní jednoduchost a menší finanční náročnost. Výhodou HPLC se jeví dokumentovaná 10–50násobná senzitivita oproti elektroforéze a možnost přímého shromáždění nealterovaných DNA sekvencí, které mohou být užity pro sekvenční analýzu (36). Nejčastěji je používána semikvantitativní RT-PCR (28, 35, 43, 52-55, 60, 67-69), kde se jako interního standardu (housekeeping gene) užívá exprese genu pro β-aktin (BA) nebo pro glyceraldehyd 3-fosfát dehydrogenázu (G3PDH). Výsledkem takového stanovení je potom index TS/BA (TS/G3PDH), jehož velikost v nádorových buňkách kolísá řádově od 10⁻⁴ do 10⁻². Účelná je také RT-PCR využívající srovnání naměřených hodnot se standardní křivkou (70). Nejpřesnější by však bylo sledování exprese TS pomocí kvantitativní RT-PCR za přítomnosti kompetitivního templátu nebo provádění RT-PCR v tzv. LightCycleru (Roche, USA), což je progresivní inovace klasického PCR cyklu umožňující provádět kvantitativní RT-PCR.

Výhodou PCR je její vysoká senzitivita (71) a možnost zpracování velkého počtu tkáňových vzorků (36, 68, 70). Ukázalo se, že pro tyto účely je možno použít jak vzorků tkáně odebraných do tekutého dusíku, tak běžných vzorků fixovaných formaldehydem a zalitých do parafínu, neboť relativní hodnoty mRNA, naměřené v takto odlišně zpracovaných vzorcích, si vzájemně odpovídají (72). To je důležité z hlediska možného využití metody v retrospektivních studiích (54).

Dosud prokázané asociace úrovně exprese tymidylát syntázy v nádorových buňkách s různými parametry nádorového onemocnění

U kolorektálního karcinomu je vysoká exprese TS spojena s vyšší proliferací a aktivitou nádoru (73) a s horší klinickou

odpovědí na kontinuální infuzní (55) nebo i bolusovou léčbu 5-FU + LV (74), stejně tak s horším mediánem přežití, případně i kratším intervalem bez onemocnění u pacientů s adjuvantní chemoterapií nebo bez ní (61, 62, 66). Také u jaterních metastáz kolorektálního karcinomu je vysoká exprese TS spojena s rezistencí k léčbě FP. Opakovaně se ukazuje, že žádný z pacientů, jejichž index TS/BA v nádorových buňkách je vyšší než medián hodnot ve sledovaném souboru (tento se pohybuje přibližně okolo 4,0 10⁻³) na léčbu 5-FU neodpovídá (43,75). Totéž se týká i léčby podávané intraarteriálně do jaterní tepny (hepatic arterial infusion, HAI) (39, 65). Bylo prokázáno, že pacienti s nízkou expresí TS mají 4,1× větší pravděpodobnost odpovědi na HAI než pacienti s její vysokou expresí (76). Pacienti s vysokou expresí TS v jaterních metastázách také vykazují významně kratší medián přežití po léčbě chirurgickou resekci i při chemoterapii FP v porovnání s pacienty, jejichž jaterní metastázy exprimují TS méně (66, 75, 77, 78).

Plicní metastázy kolorektálního karcinomu vykazují vyšší expresi TS než metastázy jaterní, což může být důvodem jejich častější rezistence k léčbě 5-FU (79). Podobný vztah je i mezi lokoregionálními recidivami tohoto nádoru v porovnání s jaterními metastázami (74). Velmi důležité je ovšem zjištění, že nebyla nalezena přímá korelace mezi expresí TS v buňkách primárního nádoru a expresí TS v buňkách metastáz tohoto nádoru (66). Dokonce byla zjištěna také výrazná heterogenita exprese TS v různých metastázách jednoho a téhož nádoru u téhož pacienta. Nemusí tedy korelovat ani exprese TS v primárním tumoru s klinickou odpovědí metastáz na chemoterapii fluoropyrimidiny (80). Korelace úrovně exprese TS s gradingem či stagingem kolorektálního karcinomu, jakož i s lokalizací v různých místech trávicí trubice byla dokumentována jen ojediněle (66, 81), a nelze jí zatím přikládat větší význam.

U karcinomu žaludku je vyšší exprese TS spojena s nižší diferenciací nádoru (82). Byla popsána také vyšší exprese TS v invazivním typu nádoru (48). Pacienti, jejichž žaludeční karcinomy vykazovaly vyšší expresi TS, odpovídají výrazně hůře na léčbu 5-FU + LV s cisplatinou (55). Výrazně se v závislosti na expresi TS liší i jejich medián přežití (64, 67). Podobné skutečnosti byly pozorovány rovněž u karcinomu prsu a plic (97), i když zatím nejsou potvrzeny většími klinickými studiemi.

Perspektivy prediktivní onkologie a individualizace onkologické léčby

Budoucnost má nepochybně racionálnější a individualizované plánování onkologické terapie na základě komplexnější informace o specifických intratumorálních determinantách vlastností nádoru. Kromě TS stojí za zmínku také například stanovení exprese dihydropyrimidin dehydrogenázy (DPD) v nádorových buňkách, jejíž exprese patrně koreluje jak s odpovědí na fluoropyrimidiny, tak především s intenzitou nežádoucích účinků chemoterapie (44, 69, 83). Ženy mají v průměru nižší hladinu DPD než muži a někteří jedinci nesoucí významný defekt DPD mohou být léčbou FP dokonce značně ohroženi. Tak by bylo možno již před léčbou optimalizovat dávku léčiva pro daného pacienta, a především vystříhat se fluoropyrimidinů u nemocných s defektem DPD (84). Význam stanovení jiných enzymů, jako např. topoizomérázy I (85), dihydrofolát reduktázy (35), tymidin fosforylázy (86-92) a jiných, ukáže čas. Dlouho známy jsou některé souvislosti biologického chování nádoru s expresí onkogenů či dysfunkcí supresorových genů, pozorovány jsou alterace glykoproteinů v mucinových molekulách (61). Probíhá intenzivní výzkum metaloproteináz jako faktorů přispívajících k invazi i metastazování, studují se parametry buněčné proliferace (46, 93) a apoptózy (94) spolu s dalšími znaky. Zdá se, že rozdíly v léčebných výsledcích například u regionální chemoterapie jaterních metastáz kolorektálního karcinomu jsou více než modifikacemi režimů léčby dány individuální-

mi porpocemi biomarkerů předurčujících chování nádoru a jeho odpověď na jakékoli cytotoxické působení (95). Multifaktoriální vyhodnocování bioparametrů povede v budoucnu nesporně k racionalizaci, individualizaci a nižší toxicitě dosud schematicky a neselektivně užívané chemoterapie. Lze doufat, že důsledkem bude také zvýšení klinické úspěšnosti

chemoterapie, která je dosud u nádorů trávicího traktu jen málo uspokojivá.

Práce na projektu testování nádorové chemoresistence a detekce TS je podpořena grantem výzkumného záměru MŠMT CEZ: J07/98 – 141100003.

Literatura:

- McLeod HL, Murray GI: Tumour marker of prognosis in colorectal cancer. *Br J Canc* 1999;79(2):191-203.
- Francini G, Petrioli R, Luciano L et al.: Folinic acid and 5-fluorouracil as adjuvant chemotherapy in colon cancer. *Gastroenterology*.1994;106, 899-906.
- de Gramont A, Figer A, Seymour M: A randomized trial of leucovorin and 5-fluorouracil with or without oxaliplatin in advanced colorectal cancer. *Proc ASCO*.1998,17,257.
- Meta-Analysis Group in Cancer: Reappraisal of hepatic arterial infusion in treatment of nonresectable liver metastases from colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst* 1996,88,252-258.
- Žaloudík J, Kocák I, Pačovský Z et al.: Regionální chemoterapie nádorů jater. *Vnitřní lékařství*, 1997,43,171-172.
- Kemeny NE, Ron IG: Hepatic arterial chemotherapy in metastatic colorectal patients. *Semin Oncol*. 1999,26, 524-535.
- Vyzula R, Penka M: Využití chronoterapie při intrahepatálním intraarteriálním podání floxuridinu. *Klinická onkologie*, 1996,3, 75-78.
- Hrushesky WJM, Vyzula R, Slavik M, Wood AP et al.: Chronoterapie maligních onemocnění. *Klinická onkologie*, 1996,3,3-45.
- Leichman CG: Thymidylate synthase as a predictor of response. *Oncology (Huntingt)* 1998 Aug;12.(Suppl 6): 43-7.
- Chu E, Koeller DM, Johnston PG, Zinn S, Allegra CJ: Regulation of thymidylate synthase in human colon cancer cells treated with 5-fluorouracil and interferon-gamma. *Mol Pharmacol* 1993 Apr;43(4):527-33.
- Klener P.: Protinádorová chemoterapie. *Galén*, 1996;66-69,293-295,411.
- Johnson LF: Posttranscriptional regulation of thymidylate synthase gene expression. *J Cell Biochem* 1994 Apr;54(4):387-92.
- Johnston PG, Liang CM, Henry S, Chabner BA, Allegra CJ: Production and characterization of monoclonal antibodies that localize human thymidylate synthase in the cytoplasm of human cells and tissue. *Cancer Res* 1991 Dec 15;51(24):6668-76.
- Hughey CT, Barbour KW, Berger FG, Berger SH: Genetic variation in thymidylate synthase confers resistance to 5-fluorodeoxyuridine. *Adv Exp Med Biol* 1993;339:67-76.
- Chu E, Koeller DM, Johnston PG, Zinn S, Allegra CJ: Regulation of thymidylate synthase in human colon cancer cells treated with 5-fluorouracil and interferon-gamma. *Mol Pharmacol* 1993 Apr; 43(4):527-33.
- Estlin EJ, Balmanno K, Calvert AH, Hall AG, Lunec J, Newell DR, Pearson AD, Taylor GA: The relationship between intrinsic thymidylate synthase expression and sensitivity to THYMIDAZINE in human leukaemia and colorectal carcinoma cell lines. *Br J Cancer* 1997;76(12):1579-85.
- Chu E, Koeller DM, Jones KL, Takechi T, Maley GF, Maley F, Segal S, Allegra CJ: Identification of a thymidylate synthase ribonucleoprotein complex in human colon cancer cells. *Mol Cell Biol* 1994 Jan;14(1): 207-13.
- Chu E, Copur SM, Ju J, Chen TM, Khleif S, Voeller DM, Mizunuma N, Patel M, Maley GF, Maley F, Allegra CJ: Thymidylate synthase protein and p53 mRNA form an in vivo ribonucleoprotein complex. *Mol Cell Biol* 1999 Feb;19(2):1582-94.
- Ju J, Pedersen-Lane J, Maley F, Chu E: Regulation of p53 expression by thymidylate synthase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999 Mar 30;96(7):3769-74.
- Futami K, Arima S, Yoshimura S, Okamoto T, Yamasaki K, Koto T, Yamasaki S, Kawahara K, Ikuno T: [Drug concentration in cancerous large bowel tissue and thymidylate synthase inhibition rate after administration of tegafur and UFT]. *Gan To Kagaku Ryoho* 1991 Feb;18(2):215-20.
- Wolberg WH: Enhancement by thymidine of 5-fluorouracil's inhibition of thymidylate synthetase in human tumors. *Cancer Treat Rep* 1979 Nov-Dec;63(11-12):1817-20.
- Yagawa A: [Histopathological studies on antitumor effect of tegafur administered by continuous intravenous infusion]. *Nippon Gan Chiryō Gakkai Shi* 1990 Jun 20;25(6):1197-203.
- Peters GJ, van Groeningen CJ, van der Wilt CL, Meijer S, Smid K, Laurensse E, Pinedo HM: Time course of inhibition of thymidylate synthase in patients treated with fluorouracil and leucovorin. *Semin Oncol* 1992 Apr;19(2 Suppl 3):26-35.
- Berger SH, Jenh CH, Johnson LF, Berger FG: Thymidylate synthase overproduction and gene amplification in fluorodeoxyuridine-resistant human cells. *Mol Pharmacol* 1985 Nov;28(5):461-7.
- Sakuyama T, Takahashi N: [TS inhibition rate and flow cytometric analysis of DNA content in preoperative chemotherapy with biochemical modulator]. *Gan To Kagaku Ryoho* 1994 May;21 Suppl 1:117-21.
- Spears CP, Gustavsson BG, Mitchell MS, Spicer D, Berne M, Bernstein L, Danenberg PV: Thymidylate synthetase inhibition in malignant tumors and normal liver of patients given intravenous 5-fluorouracil. *Cancer Res* 1984 Sep;44(9):4144-50.
- Yamamura M, Seiro T, Yamamoto M, Shirasaka T, Miyauchi S, Fujii S: [Thymidylate synthase inhibition in malignant tumors after oral administration of UFT]. *Gan No Rinsho* 1986 Nov;32(14):1838-40.
- Shibata J, Aiba K, Shibata H, Minowa S, Horikoshi A: Detection and quantitation of thymidylate synthase mRNA in human colon adenocarcinoma cell line resistant to 5-fluorouracil by competitive PCR. *Anticancer Res* 1998 May-Jun;18(3A):1457-63.
- Suzuki M, Sekiguchi I, Tamada T: Thymidylate synthase inhibition as a predictor of tumor sensitivity of fluorinated pyrimidines. *Asia Oceania J Obstet Gynaecol* 1990 Jun;16(2):175-80.
- Kubota T, Fujita S, Kodaira S, Yamamoto T, Josui K, Arisawa Y, Suto A, Ishibiki K, Abe O, Mabuchi K, et al.: Antitumor activity of fluoropyrimidines and thymidylate synthetase inhibition. *Jpn J Cancer Res* 1991 Apr;82(4):476-82.
- Tanaka S, Umeno T, Mitsuishi K, Tomita A, Otsuka K, Mori H, Nakamura H, Ikeda S: [UFT/CDDP preoperative chemotherapy for progressive gastric cancer—histological antitumor effects and thymidylate synthase inhibition rate]. *Gan To Kagaku Ryoho* 1995 Nov;22(13):1947-51.
- Kotake K, Koyama Y, Konishi F, Kanazawa K, Namba M, Shida S, Umemoto S, Nara K, Kon T, Nozawa K, et al.: [Neo-adjuvant chemotherapy with tegafur suppository for rectal cancer—evaluation of the antitumor effects, tissue levels of 5-FU and inhibition of thymidylate synthase. *Tochigi Colorectal Cancer Study Group*]. *Gan To Kagaku Ryoho* 1992 Sep;19(11):1837-42.
- Nakano H, Namatame K, Suzuki T, Takahashi H, Sakai H, Nakamura T, Kumada K: Histopathological response to preoperative chemotherapy including 5-fluorouracil additionally assessed by immunocytochemical and pharmacologic parameters in patients with advanced gastric cancer. *Surg Today* 1996;26(7):482-8.
- Kumagai K, Ishibashi Y, Yasui A: Effects of preoperative chemotherapy on gastric carcinoma: the relationship between histopathologic response and prognosis. *Clin Ther* 1995 Sep-Oct;17(5):936-45.
- Horikoshi T, Danenberg KD, Stadlbauer TH, Volkenandt M, Shea LC, Aigner K, Gustavsson B, Leichman L, Frosing R, Ray M, et al.: Quantitation of thymidylate synthase, dihydrofolate reductase, and DT-diaphorase gene expression in human tumors using the polymerase chain reaction. *Cancer Res* 1992 Jan 15;52(1):108-16.
- Leccia JR, Milano G, Formento P, Francoual M, Formento JL, Pierrefite V: A clinically applicable assay for tumoral thymidylate synthase combining reverse transcriptase-PCR and high-performance liquid chromatography. *Eur J Cancer* 1998 Jan;34(1):182-7.
- Ichikura T, Tomimatsu S, Okusa Y, Yahara T, Uefuji K, Tamakuma S: Thymidylate synthase inhibition by an oral regimen consisting of tegafur-uracil (UFT) and low-dose leucovorin for patients with gastric cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 1996;38(5):401-5.
- Spears CP, Gustavsson BG, Berne M, Frosing R, Bernstein L, Hayes AA: Mechanisms of innate resistance to thymidylate synthase inhibition after 5-fluorouracil. *Cancer Res* 1988 Oct 15;48(20):5894-900.
- Peters GJ, van der Wilt CL, van Groeningen CJ, Smid K, Meijer S, Pinedo HM: Thymidylate synthase inhibition after administration of fluorouracil with or without leucovorin in colon cancer patients: implications for treatment with fluorouracil. *J Clin Oncol* 1994 Oct;12(10):2035-42.
- Freemantle SJ, Jackman AL, Kelland LR, Calvert AH, Lunec J: Molecular characterisation of two cell lines selected for resistance to the folate-based thymidylate synthase inhibitor, ZD1694. *Br J Cancer* 1995 May; 71(5):925-30.
- Copur S, Aiba K, Drake JC, Allegra CJ, Chu E: Thymidylate synthase gene amplification in human colon cancer cell lines resistant to 5-fluorouracil. *Biochem Pharmacol* 1995 May 17;49(10):1419-26.
- Parr AL, Drake JC, Gress RE, Schwartz G, Steinberg SM, Allegra CJ: 5-fluorouracil-mediated thymidylate synthase induction in malignant and nonmalignant human cells. *Biochem Pharmacol* 1998 Jul 15;56(2):231.
- Leichman L, Lenz HJ, Leichman CG, Groshen S, Danenberg K, Baranda J, Spears CP, Boswell W, Silberman H, Ortega A, et al.: Quantitation of intratumoral thymidylate synthase expression predicts for resistance to protracted infusion of 5-fluorouracil and weekly leucovorin in disseminated colorectal cancers: preliminary report from an ongoing trial. *Eur J Cancer* 1995 Jul-Aug;31A(7-8):1306-10.

44. Kiriha Y, Yamamoto W, Toge T, Nishiyama M: Dihydropyrimidine dehydrogenase, multidrug resistance-associated protein, and thymidylate synthase gene expression levels can predict 5-fluorouracil resistance in human gastrointestinal cancer cells. *Int J Oncol* 1999 Mar;14(3):551-6.
45. Davis ST, Berger SH: Variation in human thymidylate synthase is associated with resistance to 5-fluoro-2'-deoxyuridine. *Mol Pharmacol* 1993 May;43(5):702-8.
46. Mirjolef JF, Barberi-Heyob M, Merlin JL, Marchal S, Etienne MC, Milano G, Bey P: Thymidylate synthase expression and activity: relation to S-phase parameters and 5-fluorouracil sensitivity. *Br J Cancer* 1998 Jul;78(1):62-8.
47. Findlay MP, Cunningham D, Morgan G, Clinton S, Hardcastle A, Aherne GW: Lack of correlation between thymidylate synthase levels in primary colorectal tumours and subsequent response to chemotherapy. *Br J Cancer* 1997;75(6):903-9.
48. Kosaka T, Ueshige N, Sugaya J, Nakano Y, Takashima S: [Effect of low-dose CDDP/5-FU therapy on thymidylate synthase content]. *Gan To Kagaku Ryoho* 1998 Apr;25 Suppl 3:450-3.
49. Larsson PA, Carlsson G, Gustavsson B, Spears CP: Thymidylate synthase in advanced gastrointestinal and breast cancers. *Acta Oncol* 1996;35(4):469-72.
50. Parise O Jr, Janot F, Luboinski B, Massaad L, Albin N, Toussaint C, Verjus MA, Bonnay M, Gouyette A, Chabot GG: Thymidylate synthase activity, folates, and glutathione system in head and neck carcinoma and adjacent tissues. *Head Neck* 1994 Mar-Apr;16(2):158-64.
51. Odin E, Larsson L, Aram M, Gustavsson B, Larsson PA: Rapid quantitative PCR determination of relative gene expression in tumor specimens using high-pressure liquid chromatography. *Tumour Biol* 1998;19(3):167-75.
52. Omura K, Morishita M, Kawakami K, Kanehira E, Ishida Y, Watanabe Y: Quantification of thymidylate synthase gene expression in human gastrointestinal carcinoma tissues using competitive PCR. *Hepatogastroenterology* 1999 Mar-Apr;46(26):985-90.
53. Houze TA, Larsson L, Larsson PA, Hansson G, Asea A, Gustavsson B: Rapid detection of thymidylate synthase gene expression levels by semi-quantitative competitive reverse transcriptase polymerase chain reaction followed by quantitative digital image analysis. *Tumour Biol* 1996;17(5):306-19.
54. Houze TA, Larsson L, Larsson PA, Hansson G, Gustavsson B: Detection of thymidylate synthase gene expression levels in formalin-fixed paraffin embedded tissue by semi-quantitative, nonradioactive reverse transcriptase polymerase chain reaction. *Tumour Biol* 1997;18(1):53-68.
55. Johnston PG, Lenz HJ, Leichman CG, Danenberg KD, Allegra CJ, Danenberg PV, Leichman L: Thymidylate synthase gene and protein expression correlate and are associated with response to 5-fluorouracil in human colorectal and gastric tumors. *Cancer Res* 1995 Apr 15;55(7):1407-12.
56. Dolnick BJ, Zhapp ZG, Hines JD, Rustum YM: Quantitation of dihydrofolate reductase and thymidylate synthase mRNAs in vivo and in vitro by polymerase chain reaction. *Oncol Res* 1992;4(2):65-72.
57. Suzuki M, Okabe H, Tsukagoshi S, Kawai T, Fukushima M, Sato I: Immunohistochemical investigation of thymidylate synthase in cervical cancer. *Oncology* 1998 Nov-Dec;55(6):564-8.
58. Johnston PG, Drake JC, Trepp J, Allegra CJ: Immunological quantitation of thymidylate synthase using the monoclonal antibody TS 106 in 5-fluorouracil-sensitive and -resistant human cancer cell lines. *Cancer Res* 1992 Aug 15;52(16):4306-12.
59. Maehara Y, Kusumoto T, Kusumoto H, Anai H, Sakaguchi Y, Kido Y, Okamura T, Korenaga D, Sugimachi K: 5-Fluorouracil and UFT-sensitive gastric carcinoma has a high level of thymidylate synthase. *Cancer* 1989 May 1;63(9):1693-6.
60. Elledge RM, Okuyama N, Fitzgerald SD, Fugua SA: Evaluation of thymidylate synthase RNA expression by polymerase chain reaction. *Mol Cell Probes* 1994 Feb;8(1):67-72.
61. Yamachika T, Nakanishi H, Inada K, Tsukamoto T, Kato T, Fukushima M, Inoue M, Tatsumi M: A new prognostic factor for colorectal carcinoma, thymidylate synthase, and its therapeutic significance. *Cancer* 1998 Jan 1;82(1):70-7.
62. Sakamoto J et al.: Thymidylate synthase expression predicts prognosis of curatively resected colorectal carcinoma patients registered in an adjuvant immunochemotherapy clinical trial. *The American Society of Clinical Oncology, 35th Annual Meeting, Atlanta, USA, May 1999, Proceedings, Vol. 18, Abstract 1031.*
63. Johnston PG, Drake JC, Steinberg SM, Allegra CJ: Quantitation of thymidylate synthase in human tumors using an ultrasensitive enzyme-linked immunoassay. *Biochem Pharmacol* 1993 Jun 22;45(12):2483-6.
64. Yeh KH, Shun CT, Chen CL, Lin JT, Lee WJ, Lee PH, Chen YC, Cheng AL: High expression of thymidylate synthase is associated with the drug resistance of gastric carcinoma to high dose 5-fluorouracil-based systemic chemotherapy. *Cancer* 1998 May 1;82(9):1626-31.
65. Davies MM, Johnston PG, Kaur S, Allen-Mersh TG: Colorectal liver metastasis thymidylate synthase staining correlates with response to hepatic arterial floxuridine. *Clin Cancer Res* 1999 Feb;5(2):325-8.
66. Corsi DC et al.: Thymidylate synthase (TS) expression as a predictive factor for survival after resection on metastases of colorectal cancer. *The American Society of Clinical Oncology, 35th Annual Meeting, Atlanta, USA, May 1999, Proceedings, Vol. 18, Abstract 2374.*
67. Lenz HJ, Leichman CG, Danenberg KD, Danenberg PV, Groshen S, Cohen H, Laine L, Crookes P, Silberman H, Baranda J, Garcia Y, Li J, Leichman L: Thymidylate synthase mRNA level in adenocarcinoma of the stomach: a predictor for primary tumor response and overall survival. *J Clin Oncol* 1996 Jan;14(1):176-82.
68. Sun B, Wells J, Goldmuntz E, Silver P, Remmers EF, Wilder RL, Caspi RR: A simplified, competitive RT-PCR method for measuring rat IFN-gamma mRNA expression. *J Immunol Methods* 1996 Sep 9;195(1-2):139-48.
69. Ishikawa Y, Kubota T, Otani Y, Watanabe M, Teramoto T, Kumai K, Kitajima M, Takechi T, Okabe H, Fukushima M: Dihydropyrimidine dehydrogenase activity and messenger RNA level may be related to the antitumor effect of 5-fluorouracil on human tumor xenografts in nude mice. *Clin Cancer Res* 1999 Apr;5(4):883-9.
70. Tsai SJ, Wiltbank MC: Quantification of mRNA using competitive RT-PCR with standard-curve methodology. *Biotechniques* 1996 Nov;21(5):862-6.
71. Funato T, Tone T, Miyachi H, Ishimori A: [Detection of drug resistant-gene in cisplatin-resistant colon carcinoma cells by RT-PCR assay. I]. *Rinsho Byori* 1993 Jan;41(1):95-100.
72. Johnston PG et al.: Thymidylate synthase (TS) expression from formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) tissues using quantitative RT-PCR correlates with frozen tissue data and predicts for response to 5-fluorouridine (5-FU) in metastatic colorectal cancer. *The American Society of Clinical Oncology, 35th Annual Meeting, Atlanta, USA, May 1999, Proceedings, Vol. 18, Abstract 2383.*
73. Van Triest B et al.: Prognostic role of thymidylate synthase (TS), p53, p21, Ki67 and Bcl-2 for patients with colorectal cancer (CA) treated with surgery alone (SA) or with adjuvant 5-fluorouracil and levamisole (LEV). *The American Society of Clinical Oncology, 35th Annual Meeting, Atlanta, USA, May 1999, Proceedings, Vol. 18, Abstract 1028.*
74. Cascinu S, Aschele C, Barni S, Debernardi D, Baldo C, Tunesi G, Catalano V, Staccioli MP, Brenna A, Muretto P, Catalano G: Thymidylate synthase protein expression in advanced colon cancer: correlation with the site of metastasis and the clinical response to leucovorin-modulated bolus 5-fluorouracil. *Clin Cancer Res* 1999 Aug;5(8):1996-9.
75. Leichman CG, Lenz HJ, Leichman L, Danenberg K, Baranda J, Groshen S, Boswell W, Metzger R, Tan M, Danenberg PV: Quantitation of intratumoral thymidylate synthase expression predicts for disseminated colorectal cancer response and resistance to protracted-infusion fluorouracil and weekly leucovorin. *J Clin Oncol* 1997 Oct;15(10):3223-9.
76. Kormmndel M, Link KH, Lenz HJ, Pillasch J, Metzger R, Butzer U, Leder GH, Weindel M, Safi F, Danenberg KD, Beger HG, Danenberg PV: Thymidylate synthase is a predictor for response and resistance in hepatic artery infusion chemotherapy. *Cancer Lett* 1997 Sep 16;118(1):29-35.
77. Bathe OF, Franceschi D, Livingstone AS, Moffat FL, Tian E, Ardalani B: Increased thymidylate synthase gene expression in liver metastases from colorectal carcinoma: implications for chemotherapeutic options and survival. *Cancer J Sci Am* 1999 Jan-Feb;5(1):34-40.
78. Lenz HJ, Hayashi K, Salonga D, Danenberg KD, Danenberg PV, Metzger R, Banerjee D, Bertino JR, Groshen S, Leichman LP, Leichman CG: p53 point mutations and thymidylate synthase messenger RNA levels in disseminated colorectal cancer: an analysis of response and survival. *Clin Cancer Res* 1998 May;4(5):1243-50.
79. Gorlick R, Metzger R, Danenberg KD, Salonga D, Miles JS, Longo GS, Fu J, Banerjee D, Klimstra D, Jhanwar S, Danenberg PV, Kemeny N, Bertino JR: Higher levels of thymidylate synthase gene expression are observed in pulmonary as compared with hepatic metastases of colorectal adenocarcinoma. *J Clin Oncol* 1998 Apr;16(4):1465-9.
80. Aschele C et al.: Inpatient variations in thymidylate synthase expression: implications for the predictivity of clinical response to 5-fluorouracil (Fura) in advanced colorectal cancer. *The American Society of Clinical Oncology, 35th Annual Meeting, Atlanta, USA, May 1999, Proceedings, Vol. 18, Abstract 1032.*
81. Sanguedolce R, Vultaggio G, Sanguedolce F, Modica G, Li Volsi F, Diana G, Guereo G, Bellanca L, Rausa L: The role of thymidylate synthase levels in the prognosis and the treatment of patients with colorectal cancer. *Anticancer Res* 1998 May-Jun;18(3A):1515-20.
82. Konishi T, Miyama T, Sakamoto S, Hirata T, Mafune K, Hiraishi M, Idezuki Y: Activities of thymidylate synthetase and thymidine kinase in gastric cancer. *Surg Oncol* 1992 Jun;1(3):215-21.
83. Nita ME, Tominaga O, Nagawa H, Tsuruo T, Muto T: Dihydropyrimidine dehydrogenase but not thymidylate synthase expression is associated with resistance to 5-fluorouracil in colorectal cancer. *Hepatogastroenterology* 1998 Nov-Dec;45(24):2117-22.
84. Gamelin E, Boisidron-Celle M, Guérin-Meyer V, Delva R, Lortholary A, Genevieve F, Larra F, Ibrah A, Robert J: Correlation between uracil and dihydrouracil plasma ratio, fluorouracil (5-FU) pharmacokinetic parameters, and tolerance in patients with advanced colorectal cancer: A potential interest for predicting 5-FU toxicity and determining optimal 5-FU dosage. *J Clin Oncol* 1999 Apr;17(4):1105-1110.
85. Meersma GJ, Bakker M, Groen HJ, Van Der Zee AG, Jensen PB, Giaccone G, De Vries EG, Smit EF: A PCR-aided transcript titration assay (PATTY) to measure topoisomerase I gene expression in human tumor specimens. *Anticancer Res* 1999 Mar-Apr;19(2A):1309-15.
86. Endo M, Shinbori N, Fukase Y, Sawada N, Ishikawa T, Ishitsuka H, Tanaka Y: Induction of thymidine phosphorylase expression and enhancement of efficacy of capecitabine of 5e-deoxy-5-fluorouridine by cyclophosphamide in mammary tumor models. *Int J Cancer* 1999 Sep 24;83(1):127-34.
87. Verweij J: Rational design of new tumoractivated cytotoxic agents. *Oncology* 1999 Jul;57 Suppl 1:9-15.
88. Saeki T, Takashima S: Mechanism and possible biochemical modulation of capecitabine (Xeloda), a newly generated oral fluoropyrimidine. *Gan To Kagaku Ryoho* 1999 Mar;26(4):447-55.

89. Miwa M, Ura M, Nishida M, Sawada N, Ishikawa T, Mori K, Shimma N, Umeda I, Ishitsuka H: Design of a novel oral fluoropyrimidine carbamate, capecitabine, which generates 5-fluorouracil selectively in tumours by enzymes concentrated in human liver and cancer tissue. *Eur J Cancer* 1998 Jul;34(8):1274-81.
90. Ishikawa T, Utoh M, Sawada N, Nishida M, Fukase Y, Sekiguchi F, Ishitsuka H: Tumor selective delivery of 5-fluorouracil by capecitabine, a new oral fluoropyrimidine carbamate, in human cancer xenografts. *Biochem Pharmacol* 1998 Apr 1;55(7):1091-7.
91. Sawada N, Ishikawa T, Fukase Y, Nishida M, Yoshikubo T, Ishitsuka H: Induction of thymidine phosphorylase activity and enhancement of capecitabine efficacy by taxol/taxotere in human cancer xenografts. *Clin Cancer Res* 1998 Apr;4(4):1013-9.
92. Ishikawa T, Sekiguchi F, Fukase Y, Sawada N, Ishitsuka H: Positive correlation between the efficacy of capecitabine and doxifluridine and the ratio of thymidine phosphorylase to dihydropyrimidine dehydrogenase activities in tumors in human cancer xenografts. *Cancer Res* 1998 Feb 15;58(4):685-90.
93. Kosaka T, Sugaya J, Yoshida S, Takano Y, Nakano Y, Akiyama T, Kiriya M, Tomita F, Saito H, Kita I et al.: [Effect of low dose CDDP/5-fluorouracil therapy on PCNA labeling index and TS inhibition rate of gastric cancer]. *Gan To Kagaku Ryoho* 1995 Jun;22 Suppl 2:205-8.
94. Cao S, Lu K, Toth K, Slocum HK, Shirasaka T, Rustum YM: Persistent induction of apoptosis and suppression of mitosis as the basis for curative therapy with S-1, an oral 5-fluorouracil prodrug in a colorectal tumor model. *Clin Cancer Res* 1999 Feb;5(2):267-74.
95. Zaloudik J, Vagunda V, Drahokoupilova M et al.: Biomarkers for predicting response to regional chemo-immunotherapy in liver metastases from colorectal carcinoma. *Int.J.Immunopharmacol.*, 1997, 19,481-485.
96. Houghton PJ, Rahman A, Will CL, Dolnick BJ, Houghton JA: Mutation(s) of the thymidylate synthase gene of human adenocarcinoma cells causes a thymidylate synthase-negative phenotype that can be attenuated by exogenous folates. *Cancer Research* 1992, 52, 558-565.
97. Otake Y, Tanaka F, Yanagihara K, Hitomi S, Okabe H, Fukushima M, Wada H: Expression of thymidylate synthase in human non-small cell lung cancer. *Jpn. J. Cancer Res.* 1999, 90, 1248-1253.

knihy

PRACTICAL GUIDE TO HUMAN CANCER GENETICS, SECOND EDITION

HODGSON, S. V., MAHER, E. R. (Eds.)
Cambridge University Press, Cambridge 1999
336 str., 29 obr., 27 tab., cena 54,95 USD

Druhé revidované vydání knihy poskytuje vynikající didakticky uspořádaný přehled nejnovějších poznatků onkogenetiky, který je dobře srozumitelný nejen pro onkology a genetiky, ale také pro lékaře jiné odbornosti. Text je členěn do třech základních částí. V první jsou uvedeny cytogenetické a molekulárně genetické nálezy v korelacích s nádorovými onemocněními ve stručných přehledech (tabulky s výčtem primárních a sekundárních chromosomálních aberací u hemoblastů a solidních tumorů, příklady „nádorových“ genů), dále základní teorie procesu tumorigeneze a principy dědičných dispozic pro rozvoj nádorového onemocnění. Diskutovány jsou psychologické a etické problémy presymptomatického testování a praktické dopady genetického poradenství. Do anamnézy onkologického pacienta je nutné zahrnout velmi podrobný genealogický rozbor se specifikací základních charakteristik tumoru a těsnosti příbuzenských vazeb při opakovaném výskytu v rodině.

Druhá část knihy poskytuje informace o incidenci, typech dědičnosti, cytogenetických a molekulárně genetických abnormitách u konkrétních tumorů podle jednotlivých systémů (CNS, GIT, urotrakt). U každého nádorového onemocnění s familiárním výskytem jsou zmíněny možnosti stanovení individuálního rizika pro asymptomatické jedince s doporučenými preventivními dispenzárními postupy; opakovaně je kladen důraz na etické otázky. Třetí část obsahuje abecedně řazené specifické „nádorové“ syndromy (genetické jednotky s chromosomální instabilitou, chromosomální aberace, neurokutánní nebo GIT hereditární syndromy). Je dán praktický návod klinického vyšetření, screeningu a komplexní péče o tyto pacienty. V dodatku je velmi stručný přehled základů lékařské genetiky - modely jednotlivých typů dědičnosti, členění chromosomálních aberací, základní postupy pro DNA analýzu. Text je bohatě doplněn tabulkami, grafy a obrázky.

Lékařská genetika se tradičně soustředila zejména na prenatální diagnostiku, pediatriickou a neurologickou problematiku genetických onemocnění a vrozených vývojových vad. Onkogenetika představuje relativně mladý, progresivní a rozsáhlý obor, nepostradatelný pro management nádorových onemocnění, ale také otevírající možnosti efektivní intervence pro presymptomatické nosiče „nádorových“ rizik. Adresa nakladatelství: Cambridge University Press, Publishing Division, The Edinburgh Building, Cambridge CB2 2RU, UK (Fax +44 (0) 1223 332954). S. Širůčková

EXPERT CONSULTATIONS IN BREAST CANCER, CRITICAL PATHWAYS AND CLINICAL DECISION MAKING

HAIT, W. N., AUGUST, D.A., HAFFTY, B. G. (EDS.)
Marcel Dekker, New York - Basel 1999
486 str., 81 obr., 35 tab., ISBN 0-8247-1954-9, cena 99,75 USD

Předložená monografie, která je 17. svazkem řady Basic and Clinical Oncology vydávané nakladatelstvím Marcel Dekker, se zabývá současnou problematikou karcinomu prsu. Na sestavení knihy se účastnilo 45 odborníků z renomovaných pracovišť v USA.

Obsah je rozdělen do tří oddílů. První pojednává o dosavadních výsledcích diagnostiky a léčby karcinomu prsu a přináší epidemiologické údaje o tomto onemocnění v USA. Velikost tumoru, jeho grading a stav regionálních uzlin jsou rozhodujícími faktory pro stanovení prognózy. V patofyziologickém příspěvku jsou hodnoceny způsoby získávání biopsického materiálu. U nehmavných lézí, které jsou indikovány k biopsii pro mikrokalcifikace, se provádí nejlépe stereotaktická lokalizace; odebraná část tkáně se kontroluje rentgenologicky. Probírá se histologie benigních lézí a karcinomu. Vedle chirurgické léčby jsou uvedeny indikace a kontraindikace radioterapie a popisuje se její technické provádění. Diskutují se otázky lokálních a regionálních recidiv a rekonstrukce prsu implantátem nebo svalovou náhradou. Závěr první části tvoří výklad konzervativní léčby hormonálními a chemoterapeutickými přípravky.

V druhém oddíle knihy jsou uvedeny směry ošetření pacientek, jež tvoří logický algoritmus zachycený v 22 tabulkách. Třetí nejobsahejší oddíl sestává z řešení jednotlivých otázek, které vyplývají z prezentace protokolů více než 200 reálných pozorování. Postupně je věnována pozornost diagnostickým problémům, neinvazivním a invazivním karcinomům, lokálně pokročilým tumorům, lokálním a regionální recidivám, metastatickému postižení, sledování v čase a zvláštním postižením (karcinom prsu muže, Pagetův karcinom, uzliny v axile při neznámém primárním nádoru, méně obvyklá histologie, metastázy do CNS, karcinom prsu v graviditě, lymfémě aj.). Zajímavá monografie obsahující teoretickou část a algoritmy osvědčených postupů, je kombinována s podrobným rozбором klinických pozorování vzatých z praxe, na nichž jsou diskutovány zásady diagnostiky a léčby. Knihu uvítají onkologové, radiologové a chirurgové - najdou v ní velké množství rad a důležitých informací. Adresa nakladatelství: Marcel Dekker, Inc., 270 Madison Avenue, New York, NY 10016-0602, USA. V. R., V. H.

KLINICKÝ VÝZNAM PROSTATICKEHO ŠPECIFICKÉHO ANTIGÉNU (PSA), ALKALICKEJ FOSFATÁZY (ALP), STUPŇA DIFERENCIÁCIE NÁDOROVÝCH BUNIEK A LOKÁLNEHO KLINICKÉHO ŠTÁDIA PRI PREDPOVEDI KOSTNÝCH METASTÁZ U PACIENTOV S NOVOZISTENÝM KARCINÓMOM PROSTATY

CLINICAL VALUE OF PROSTATE SPECIFIC ANTIGEN (PSA), ALKALINE PHOSPHATASE (ALP), TUMOR GRADE AND LOCAL CLINICAL STAGE IN PREDICTING BONE METASTASES IN NEW PATIENTS DIAGNOSED WITH PROSTATE CANCER

TOMAŠKIN R., ELIÁŠ B., KLIMENT J.

UROLOGICKÁ KLINIKA JESSENIOVEJ LEKÁRSKEJ FAKULTY A MARTINSKEJ FAKULTNEJ NEMOCNICE, MARTIN

Súhrn: *Východiská:* Určiť schopnosť predpovedať výskyt kostných metastáz na základe laboratórných parametrov PSA, ALP, stupňa diferenciácie nádorových buniek a lokálneho klinického štádia. *Typ štúdie a súbory:* V súbore 119 pacientov s novozisteným karcinómom prostaty sme vyšetrili PSA, ALP, grading, klinické štádium cT a previedli scintigrafické vyšetrenie skeletu. *Metódy a výsledky:* Hodnotili sme senzitivitu, špecificitu, celkovú presnosť, pozitívnu (PPH) a negatívnu (NPH) prediktívnu hodnotu a zostrojili sme ROC krivku pre jednotlivé parametre, ktorá vyjadruje ich schopnosť predpovedať metastázy. U 75 pacientov bez metastáz bol medián PSA 11.4 ng/ml, u 44 pacientov s metastázami 94.4 ng/ml. Len 1 pacient s PSA < 10 ng/ml mal metastázy. Všetci pacienti s abnormálnym ALP mali kostné metastázy. 43 pacientov s metastázami malo lokálne pokročilý, stredne alebo slabšie diferencovaný karcinóm. Z týchto výsledkov vyplýva 98 % senzitivita a 97 % NPH pre hranicu PSA 10 ng/ml, 100 % špecificita a 100 % PPH pre hranicu ALP 2.6 μ kat/l, 98 % senzitivitu a 96% NPH sme zistili pre stredne a slabšie diferencované karcinómy prostaty, podobné boli výsledky aj pre lokálne pokročilý karcinóm prostaty. Z krivky ROC pre jednotlivé parametre jednoznačne vyplýva pre PSA najlepšia schopnosť predpovedať kostné metastázy. *Záver:* Na základe našich výsledkov neodporúčame scintigrafiu skeletu ako rutinné vstupné vyšetrenie u pacientov s PSA pod 10 ng/ml, normálnou hladinou ALP, dobre diferencovaným a palpačne lokalizovaným nádorom.

Kľúčové slová: karcinóm prostaty, nádorové markery, scintigrafia kostí

Summary: *Background:* To evaluate the ability of serum PSA, ALP, tumor grade and local clinical stage to predict bone metastases. *Design and subjects:* We analysed above mentioned parameters in 119 men with newly diagnosed prostate cancer and performed bone scan. We evaluated the sensitivity, specificity, total accuracy, positive (PPV) and negative predictive value (NPV) for different cut-off point values and performed also ROC curves to predict a positive bone scan. *Methods and results:* We found a significant difference between PSA level in 75 patients without metastases and 44 patients with metastases (11.4 vs 94.4 ng/ml). Only one patient with PSA under 10 ng/ml had a positive bone scan. All patients with elevated ALP had a positive bone scan. 43 patients with metastases had locally advanced moderately or poor differentiated prostate cancer. This resulted in the sensitivity 98% and NPV 97% for PSA at a threshold of 10 ng/ml, the specificity 100% and PPV 100% for ALP at a threshold of 2.6 μ kat/l, the sensitivity 98% and NPV 96% for moderately or poor differentiated prostate cancer, with the almost same results for locally advanced prostate cancer. Using ROC curves, however, PSA had the best ability to predict bone metastases. *Conclusions:* In consideration of our results we don't recommend bone scintigraphy as a routine part of an initial evaluation in patients with serum PSA under 10 ng/ml, normal level of ALP, well differentiated and localized prostate cancer.

Key words: prostate cancer, tumor markers, bone scintigraphy

Úvod

Liečba karcinómu prostaty závisí od viacerých faktorov, avšak rozhodujúce je štádium ochorenia. Určenie štádia podľa TNM klasifikácie podmieňuje výber správnej liečby, ktorá sa odlišuje podľa lokálneho nálezu a výskytu metastáz v skelete. V súčasnosti je metódou, ktorá najskôr verifikuje postihnutie kostí, scintigrafické vyšetrenie skeletu. V retrospektívnej štúdií hodnotíme u pacientov s karcinómom prostaty možnosť využitia niektorých laboratórných parametrov (PSA, ALP), výsledku digitálneho rektálneho vyšetrenia (DRV) a histologického nálezu (stupeň diferenciácie buniek) pri stanovení štá-

dia ochorenia a nahradenie scintigrafie skeletu aspoň u časti pacientov týmito vyšetreniami. Porovnali sme tieto parametre s výsledkami scintigrafie skeletu u každého pacienta s novodiagnostikovaným karcinómom prostaty. V práci hodnotíme účinnosť týchto vyšetrení pre určenie kostných metastáz, naše nálezy v diskusií konfrontujeme s literárnymi údajmi.

Materiál a metodika

Vyhodnotili sme súbor 119 pacientov s novodiagnostikovaným karcinómom prostaty, ktorých sme vyšetrili na našej klinike v rokoch 1996-1999. U všetkých pacientov bolo DRV

vyšetrením určené klinické štádium (cT), po histologickom potvrdení karcinómu prostaty stupeň diferenciácie buniek (grading), zároveň boli u každého stanovené základné biochemické parametre - prostatický špecifický antigén (PSA) pomocou rádioimunologickej metódy IRMA firmy Immunotech (ČR) a alkalická fosfatáza (ALP), pričom fyziologické hodnoty nášho biochemického laboratória pre PSA a ALP sú v intervale 0-4 ng/ml, resp. 0,8-2,6 μ kat/l. Pacienti do jedného mesiaca absolvovali scintigrafické vyšetrenie skeletu s použitím i.v. bolusu ^{99m}Tc -MDP v aktivite 20 mCi, výsledok hodnotili lekár nukleárnej medicíny a urológ. Do štúdie sme nezaradili pacientov po predchádzajúcej hormonálnej manipulácii ani pacientov s metabolickým ochorením s možným postihnutím kostí.

Histopatológ z punkčnej biopsie prostaty (resp. rezkov TURP) určil typ nádoru (u všetkých pacientov išlo o adenokarcinóm), grading (G1-3), Gleasonove skóre (2-10).

Na štatistické vyhodnotenie sme použili program STATGRAPHICS, na charakteristiku jednotlivých parametrov sme využívali základné funkcie median, min, max, početnosť. Hodnotili sme senzitivitu, špecifickosť, celkovú presnosť, pozitívnu (PPH) a negatívnu (NPH) predpovednú hodnotu nami sledovaných parametrov v diagnostike kostných metastáz, zostrojili sme ROC krivky vyjadrujúce ich schopnosť predpovedať metastázy. Určili sme závislosť výskytu kostných metastáz podľa stupňa diferenciácie buniek, lokálneho nálezu (cT) a sledovaných laboratórných parametrov (PSA, ALP).

Výsledky

Zo 119 pacientov vo veku 49 až 88 (medián 70) rokov sme scintigrafickým vyšetrením kostí verifikovali kostné metastázy u 44 (37 %) pacientov s rôznym rozsahom postihnutia, 75 (63 %) pacientov nemalo v čase vyšetrenia metastázy. Základná charakteristika nášho súboru je uvedená v tabuľke 1 a 2.

Tabuľka 1:
Charakteristika pacientov s karcinómom prostaty (r.1996 - 1999).

	CAP n = 119 (100%)	M0 n = 75 (63%)	M1 n=44 (37%)	MANN- WHITNEY TEST
vek (roky) medián min - max	70 49 - 88	70 56 - 88	71,5 49 - 80	p = 0.86
PSA (ng/ml) medián min - max	27 0,2 - 215	11,4 0,2 - 100,3	94,4 7,5 - 215	p < 0.001
ALP (μ kat/l) medián min - max	1,55 0,78 - 25,6	1,36 0,78 - 2,5	2,87 1,03 - 25,6	p < 0.001

Tabuľka 2:
Charakteristika pacientov s karcinómom prostaty (r.1996 - 1999).

	CAP n = 119 (100%)	M0 n = 75 (63%)	M1 n=44 (37%)	CHI- KVADRÁT TEST
G1	23 (19,3%)	22 (29,3%)	1 (2,3%)	p<0.001
G2	42 (35,3%)	28 (37,3%)	14 (31,8%)	
G3	54 (45,4%)	25 (33,3%)	29 (65,9%)	
T1	2 (1,7%)	2 (2,7%)	0 (0%)	p<0.01
T2	20 (16,8%)	19 (25,3%)	1 (2,3%)	
T3	74 (62,2%)	44 (58,7%)	30 (68,2%)	
T4	23 (19,3)	10 (13,3%)	13 (29,5%)	

Po štatistickom spracovaní zistených údajov sme zistili signifikantný rozdiel medzi týmito podsúbormi v parametroch PSA a ALP (Mann-Whitneyov test, $p < 0.001$, tab. 1). Ďalej sme vyhodnotili stupeň diferenciácie nádorových buniek u týchto dvoch skupín, kde v skupine M0 malo G1 22 (30 %), G2 28 (37 %) a G3 25 (33 %) pacientov, kým v skupine M1 malo G1 1 (2 %), G2 14 (32 %) a G3 29 (66%) pacientov. Chi-kvadrátový test preukázal signifikantnú závislosť gradingu a pozitívneho kostného skenu ($p < 0.001$).

Ak sme charakterizovali tieto dve skupiny na základe klinického štádia (cT), zistili sme, že v skupine M0 malo 21 (28 %) pacientov štádium T1, T2, 54 (72 %) pacientov štádium T3, T4, kým v skupine M1 mal 1 (2 %) pacient štádium T2, 43 (98 %) pacientov štádium T3, T4. Chi-kvadrátovým testom sme verifikovali signifikantnú závislosť klinického štádia a pozitívneho kostného skenu ($p < 0.01$). Na základe týchto údajov sme zisťovali schopnosť určiť pozitívitu kostného skenu na základe klinického štádia. Pre štádia T3, T4 sme zistili nasledovné hodnoty senzitivity 98 %, špecificity 28 %, celkovej presnosti 54 %, PPH 44 % a NPH 95 %.

Ak sme hodnotili výskyt metastáz u skupiny pacientov s PSA < 20 ng/ml (52, t.j. 44 % pacientov) a > 20 ng/ml (67, t.j. 56 % pacientov), zistili sme, že v prvej skupine boli len 3 pacienti s MTS do skeletu verifikovanými scintigrafiou, všetci ostatní pacienti s MTS do skeletu (t.j. 41) mali PSA > 20 ng/ml. Pozitívna prediktívna hodnota (PPH) pre hranicu PSA > 20 ng/ml bola síce len 61 %, avšak negatívna prediktívna hodnota (NPH) pre túto hranicu PSA bola 94 %, senzitivita 93 %, špecifickosť 65 % a celková presnosť 76 %. Pri hranici PSA > 10 ng/ml bola PPH 59 %, NPH dokonca prevyšovala 97 %, senzitivita 98 %, špecifickosť 45 % a celková presnosť 65 %.

Zaujímavé bolo zistenie, že po rozdelení pacientov nášho súboru do 2 skupín podľa hodnoty ALP < 2,6 μ kat/l, čo je v našom laboratóriu horná hranica normy, všetci pacienti s ALP > 2,6 μ kat/l mali scintigrafickým vyšetrením verifikované metastázy v kostiach, čo znamenalo PPH 100%. NPH pre túto hranicu ALP bola 80 %, senzitivita 57 %, špecifickosť 100 %, celková presnosť vyšetrenia 84 %.

Ďalšiemu testovaniu sme podrobili podsúbory vytvorené na základe gradingu. G1 sme zistili u 23 (20 %) pacientov, pričom len u 1 z nich sme verifikovali MTS do kostí, G2 malo 42 (35 %) pacientov, z nich 14 malo MTS, G3 malo 54 (45 %) pacientov, MTS sme našli u 29 z nich. Schopnosť predpovedať postihnutie kostí na základe stupňa diferenciácie sme testovali pre G2+3, kde bola až 98% senzitivita a 96% NPH, avšak nízka špecifickosť (30 %), celková presnosť len 55 % a PPH 45 %.

Diskusia

Určenie štádia karcinómu prostaty podľa TNM klasifikácie podmieňuje výber správnej liečby, ktorá sa odlišuje podľa lokálneho nálezu a výskytu metastáz v skelete. Metódou voľby, ktorá najskôr verifikuje postihnutie kostí, je scintigrafické vyšetrenie skeletu, ktoré má vysokú senzitivitu, avšak nízku špecifickosť. Ide ale o vyšetrenie finančne náročné, preto v súčasnosti hľadáme markery schopné nahradiť toto vyšetrenie aspoň u časti pacientov s karcinómom prostaty. Cieľom našej práce bolo zistiť schopnosť najčastejšie používaných markerov PSA a ALP predpovedať kostné metastázy u pacientov s novodiagnostikovaným karcinómom prostaty. Súčasne sme hodnotili význam stupňa diferenciácie buniek a klinického štádia (cT) pri predpovedi postihnutia skeletu. Do nášho súboru sme zaradili 119 pacientov s karcinómom prostaty. Každý pacient absolvoval scintigrafické vyšetrenie skeletu. Na jeho základe sme pacientov rozdělili do skupiny bez metastáz (75) a skupiny s metastázami (44). Po zistení signifikantného rozdielu v hladinách PSA i ALP sme testovali schopnosť týchto markerov predpovedať metastázy pomocou známych ukazovateľov, akými sú senzitivita, špecifickosť, celková presnosť vyšetrenia, pozitívna a negatívna prediktívna hodnota.

Výsledky ukázali, že v našom súbore len 3 pacienti s MTS do skeletu mali PSA < 20 ng/ml, dokonca iba 1 pacient mal PSA < 10 ng/ml. Na základe našich výsledkov sme testovali pre hranice PSA > 10 a > 20 ng/ml schopnosť určiť pozitívny kostný sken so senzitivitou 98 %, resp. 93 %, špecificitou 45 %, resp. 65 %, PPH 59 %, resp. 61 %, NPH 97 %, resp. 94 %. O podobných výsledkoch referujú viacerí autori. Wolff a kol. zistovali u 359 pacientov schopnosť PSA predpovedať postihnutie kostí, pre hranicu PSA > 10 ng/ml zistili senzitivitu 83 %, špecificitu 48 %, PPH 17 % a NPH 96 %. V závere však konštatujú, že vyšetrením PSA nemožno úplne spoľahlivo predpovedať výsledok kostného skenu, i keď pri PSA < 10 ng/ml je pozitívny kostný sken výnimočný. Sami však realizujú scintigrafické vyšetrenie skeletu pri prvotnom vyšetrení u všetkých pacientov s karcinómom prostaty (8). Haukaas a spol. hodnotili predpovednú hodnotu PSA a zároveň aj prežívanie 128 pacientov v závislosti od PSA, gradingu a rozsahu postihnutia kostí. PPH pre hranice > 10 a > 20 ng/ml bola 27,5 %, resp. 47,5 %, avšak NPH bola 100 %, resp. 94 %. V závere konštatujú, že ich indikáciou pre scintigrafiu skeletu pred radikálnou liečbou je PSA > 10 ng/ml. U pacientov bez kostných bolestí a PSA < 10 ng/ml scintigrafické vyšetrenie rutinne neprevádzajú. Zároveň uvádzajú, že pre prežívanie pacientov je lepším prediktorom kostný sken než samotné PSA (2). Kliment a kol. vylúčili rutinnú scintigrafiu skeletu u pacientov s PSA < 20 ng/ml, resp. u pacientov s tromi negatívnymi parametrami - KF, ALP a neprítomnou bolesťou (4). Maeda a kol. hodnotili viaceré markery pri stanovení kostných metastáz s približne rovnakou senzitivitou a špecificitou. V závere konštatujú, že pri vstupnom vyšetrení je scintigrafia skeletu vhodnejšou metódou k detekcii metastáz než PSA ako i viaceré kostné markery (kostná frakcia ALP, osteokalcín, deoxy pyridinólin, ICTP) (6). Chybowski a kol. hodnotili schopnosť klinického štádia, gradingu, kyslej fosfatázy (KF), prostatickej KF a PSA predpovedať kostné metastázy u 521 pacientov s novodiagnostikovaným karcinómom prostaty. Všetky sledované parametre pozitívne korelovali s nálezmi pri scintigrafii. Viacnásobnou regresnou analýzou zistili, že žiadny z týchto faktorov nezvyšil schopnosť samotného PSA predpovedať nález na kostnom skene. Za najvýznamnejší záver svojej práce považujú zistenie, že u 306 pacientov s PSA < 20 ng/ml mal len 1 pacient pozitívny kostný sken (NPH 99,7%), z čoho usudzujú, že scintigrafia skeletu u tejto skupiny pacientov nie je nevyhnutná, pričom dôraz kladú hlavne na ekonomický aspekt (1).

Ďalším rutinne používaným markerom, ktorý nás informuje o možnom postihnutí kostí je alkalická fosfatáza. Zmeny jej plazmatickej hladiny počas hormonálnej liečby ako príznakov regresie či progresie ochorenia popísali už Huggins a Hodges v roku 1941 (3). Aj ďalšie práce potvrdili vzostup ALP pri metastázach v kostiach v závislosti od rozsahu postihnutia, preto i dnes je snaha využiť tento marker v diagnostike postihnutia skeletu metastázami.

V našom súbore pacientov mali všetci pacienti s ALP > 2,6 μ kat/l scintigrafiou dokázané kostné metastázy, z čoho vyplýva 100 % špecifita a 100 % PPH. Súčasne však v skupine pacientov s normálnymi hodnotami ALP bolo 20 % pacientov s metastázami, preto aj senzitivita bola len 57 %, NPH 80%, celková presnosť vyšetrenia bola 84 %. Wajzman a kol. uvádzajú, že 15 % pacientov s karcinómom prostaty a prítomnými metastázami do skeletu majú sérové ALP v norme, čomu zodpovedajú aj naše nálezy (7). V poslednom období sa pozornosť upriamila na kostnú frakciu ALP (bALP), ktorá tvorí asi 40 % celkovej ALP. Táto frakcia presnejšie koreluje s prítomnosťou metastáz. Uvádza sa, že asi 40-50 % pacientov s MTS a normálnou hladinou ALP má zvýšenú hladinu bALP. Keďže kostná frakcia je indikátorom metabolickej aktivity osteoblastov, možno jej stanovenie využiť aj vo včasnej detekcii kostných metastáz u pacientov po radikálnej alebo hormonálnej terapii, kedy sa zvyšuje PSA, avšak môže ísť len o lokálnu progresiu s postihnutím lymfatických uzlín bez diseminácie

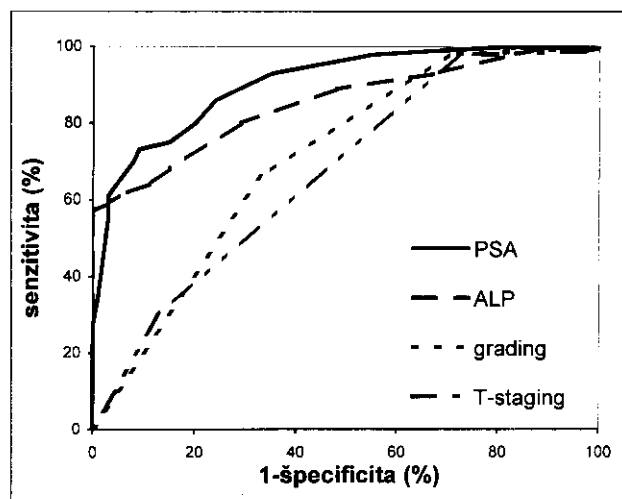
ochorenia (Lorente a kol.). U takýchto pacientov je možné ešte pristúpiť k radiačnej liečbe na oblasť malej panvy (5).

Všetci traja pacienti s metastázami do skeletu a PSA < 20 ng/ml mali ALP > 2,6 μ kat/l (6.60, 4.94 a 6.35 μ kat/l). Keby sme v našom súbore na predikciu kostných metastáz použili obidva markery (PSA > 20 ng/ml a/alebo ALP > 2,6 μ kat/l), diagnostikovali by sme všetkých pacientov s metastázami s kombinovanou senzitivitou 100 %, špecificitou 65 %, celkovou presnosťou 78 %, PPH 63 % a NPH 100 %. Ako vidieť z výsledkov, celková presnosť pri použití obidvoch markerov so zvolenými hraničnými hodnotami sa príliš neodlišuje od celkovej presnosti samotného PSA. Podľa nášho názoru, ak pri vstupnom vyšetrení zistíme ALP nad hornou hranicou normy je scintigrafia skeletu indikovaná bez ohľadu na hladinu PSA. Keďže však existujú aj iné príčiny zvýšenia ALP než postihnutie kostí metastázami (cholestatická, insuficiencia obličiek, iné ochorenia kostí atď.), spoľahlivejším vyšetrením je kostná frakcia ALP.

V našej práci sme ďalej hodnotili koreláciu medzi stupňom diferenciácie nádorových buniek a klinickým štádiom (cT) a nálezmi na kostnom skene. Z tabuľky 2 je zrejme, že kým rozloženie jednotlivých stupňov gradingu v skupine M0 bolo pomerne rovnomerné (30, 37 a 33 %), v skupine M1 výrazne prevažoval G3 (66 %), kým G1 mal len 1 (2 %) pacient. Tieto výsledky možno interpretovať aj tak, že väčšina pacientov s metastázami v kostiach má stredne alebo slabob diferenciovaný karcinóm (43 zo 44 pacientov), ale zároveň je v tejto skupine aj 53 pacientov bez metastáz v kostiach (preto vysoká senzitivita a NPH, nízka špecifita a PPH gradingu). Preukázali sme významnú koreláciu medzi stupňom diferenciácie buniek a nálezmi na kostných skenoch, podobnú popísal aj Chybowski so spolupracovníkmi, ktorý dokonca uvádza, že u pacientov s G1 je malá pravdepodobnosť výskytu metastáz a teda kostný sken nie je nevyhnutný. Takisto z výsledkov vyplýva, že v skupine M1 malo 43 pacientov lokálne pokročilý karcinóm prostaty (T3, T4), len 1 pacient mal nádor lokalizovaný. Rovnako ide o významnú koreláciu medzi klinickým štádiom (cT) a nálezmi na kostných skenoch v súlade s prácou Chybowského. Ten zároveň uvádza, že grading ani klinické štádium nezlepšujú schopnosť PSA predpovedať kostné metastázy (1).

Na základe vypočítaných hodnôt senzitivity a špecifity pre jednotlivé hodnoty skúmaných parametrov PSA, ALP, stupeň diferenciácie a klinické štádium sme zostrojili krivku operačnej charakteristiky (ROC). Plocha pod krivkou môže nadobúdať hodnoty od 0.0 do 1.0 a udáva schopnosť príslušného parametra predpovedať pozitívnu alebo negatívnu kostného skenu (obr. 1). ROC koeficient pre PSA, ALP, grading a klinické štá-

Obr. 1: ROC krivka detekcie pozitívneho kostného skenu.



dium bol 0.90, 0.83, 0.71, resp. 0.68. Z tejto krivky teda jednoznačne vyplýva, že najlepšiu schopnosť predpovedať metastázy má PSA, nasleduje ALP, schopnosť gradingu a lokálneho štádia je približne rovnaká.

Záver

Na záver možno výsledky našej práce zhrnúť do nasledujúcich odporúčaní. U pacientov s novodiagnostikovaným karcinómom prostaty s PSA pod 10 ng/ml, normálnou hladinou ALP,

nízkym gradingom, palpačne lokalizovaným nádorom je pravdepodobnosť postihnúť skeletu minimálna (pod 1 %), preto najmä z ekonomických dôvodov scintigrafické vyšetrenie ako rutinné vstupné vyšetrenie u týchto pacientov neodporúčame. U pacientov, ktorí nespĺňajú vyššie uvedené kritériá, najmä však pred plánovaným kuratívny chirurgickým zákrokom, je scintigrafické vyšetrenie kostí jednoznačne prínosom k správne určeniu štádia ochorenia a prispieva tak k určeniu vhodnej liečby u týchto pacientov.

Literatúra

1. Chybowski, F. M., Keller, J. J. L., Bergstrahl, E. J., Oesterling, J. E.: Predicting radionuclide bone scan findings in patients with newly diagnosed, untreated prostate cancer: prostate specific antigen is superior to all other clinical parameters. *J. Urol.*, 1991, 145:313-318 s.
2. Haukaas, S., Roervik, J., Halvorsen, O. J., Foelling, M.: When is bone scintigraphy necessary in the assessment of newly diagnosed, untreated prostate cancer? *Brit. J. Urol.*, 1997, 79:770-776 s.
3. Huggins, C., Hodges, C. V.: Studies on prostatic cancer, effects of castration, of estrogen and of androgen injection on serum phosphatases in metastatic carcinoma of the prostate. *Cancer Res.*, 1941, 1:293 s.
4. Kliment, J., Eliáš, B., Švihra, J.: Hodnota prostatického špecifického antigénu, kyseljej fosfatázy, alkalickéj fosfatázy a bolesti v predpovedi

5. Lorente, J. A., Morote, J., Raventos, C. a kol.: Clinical efficacy of bone alkaline phosphatase and prostate specific antigen in the diagnosis of bone metastasis in prostate cancer. *J. Urol.*, 1996, 155:1348-1351s.
6. Maeda, H., Koizumi, M., Yoshimura, K. a kol.: Correlation between bone metabolic markers and bone scan in prostatic cancer. *J. Urol.*, 1997, 157:539-543 s.
7. Wajzman, Z., Chu, T.M., Bross, D. a kol.: Clinical significance of serum alkaline phosphatase isoenzyme levels in advanced prostatic carcinoma. *J. Urol.*, 1998, 119:244 s.
8. Wolff, J. M., Zimny, M., Borchers, H. a kol.: Is prostate specific antigen a reliable marker of bone metastasis in patients with newly diagnosed cancer of the prostate? *Eur. Urol.*, 1998, 33: 376-381 s.

knihy

TEXTBOOK OF MEDICAL ONCOLOGY

SECOND EDITION

CAVALLI, F., HANSEN, H. H., KAYE, S.B. (EDS.)

Martin Dunitz, London 2000

788 str., 81 obr., 157 tab., ISBN 1-85317-825-X, cena 99,50 GBP.

Tato kniha, jež byla sestavena za spolupráce 44 odborníků z mnoha evropských zemí, USA, Kanady a Austrálie, obsahuje 25 kapitol. Prvé tři kapitoly obecného charakteru se zabývají molekulární biologii zhoubných nádorů, základy systémové léčby nádorů a základy klinických trialů. Další 15 kapitol je věnováno nádorům prsu, gynekologickým nádorům, nádorům hlavy a krku, plic, GI traktu, genitourinárního traktu, sarkomům, nádorům u dětí, leukémii, ne Hodgkinovským lymfomům, Hodgkinově nemoci, mnohočetnému myelomu, gliomům a medulloblastomům, maligním melanomům a nádorům neznámého původu. Temata posledních sedmi kapitol: antiemetika, léčba infekcí u onkologických pacientů s neutropenií, dlouhodobé vedlejší účinky léčby, zvládání bolesti, lékařské náhlé příhody, hodnocení kvality života onkologických pacientů, podpůrná, paliativní a terminální péče.

Prvá kapitola vysvětluje mutační teorii nádorového bujení, chromozomální translokace u hematologických malignit a sarkomů, molekulární genetiku predispozičních syndromů dědičné rakoviny, praktické aspekty molekulární diagnostiky nádorů, genovou terapii aj.; studium tohoto pojednání je usnadněno připojeným rozsáhlým slovníčkem použitých odborných termínů. Druhá kapitola je zaměřena na výklad chemoterapie, endokrinní léčby, imunoterapie, kombinované léčby zahrnující systémovou terapii, adjuvantní a neoadjuvantní léčby aj. V třetí kapitole se probírají požadavky, které musí být splněny, aby klinické trial byly úspěšné - je třeba jasně popsat problém, který má být řešen, navrhnout trial vhodným způsobem u dostatečného souboru pacientů, shromažďovat data a analyzovat je podle předem specifikovaných kritérií, postupovat ve shodě s mezinárodními standardy provádění trialů atd. Uvádí se, že nízká účast pacientů na klinických trialech zpomaluje pokrok při zdokonalování stávajících léčebných postupů a zavádění nových. Kapitoly zaměřené na nádory v orgánech a systémech, jež zaujmají více než polovinu knihy, sestá-

vají z podkapitol o epidemiologii a etiologii, biologii, histopatologii, klinických projevech a symptomech, diagnóze, stagingu a léčbě. Největší pozornost se věnuje chemoterapii, chirurgie a radioterapie jsou v soulase s užším spektrem indikací zastoupeny mnohem stručněji. V kapitole o antiemetikách je tabuška s klasifikací těchto látek podle emetogického potenciálu a doporučení pro antiemetickou léčbu. Z vedlejších účinků chemoterapie je popsána kardiální toxicita, plicní toxicita a vliv na reprodukční schopnost a indukce sekundárního zhoubného bujení. V kapitole o zvládání bolesti u onkologických nemocných se upozorňuje, že je třeba vypracovat metody pro hodnocení bolesti, provádět více klinických trialů posuzujících účinnost postupů při zmírňování bolesti, vyvíjet vhodnější analgetika než dosud běžně užívaná aj. Jsou zmíněny některé publikované studie kvality života onkologických nemocných, odpovídá se na otázky typu proč, jak a kdy má být kvalita života měřena a popisuje se návrh studie pro tento účel. V poslední kapitole jsou uvedeny definice podpůrné, paliativní a terminální péče publikované v literatuře, historický vývoj paliativní péče, psychologická péče, úloha rodiny, multidisciplinární přístup, problém eutanázie aj. V dodatku je na 30 stranách velmi rozsáhlá tabuška protinádorových látek, v níž jsou uvedeny u každé položky následující informace: mechanismus působení, farmakologie, interakce s jinými látkami, dávkování a aplikace, toxicita; dále je připojen slovníček odborných výrazů z klinické farmakokinetiky a seznam použitých zkratk.

Jak uvádějí editoři v předmluvě, podnětem k brzkému druhému vydání knihy byl mimořádný ohlas na velmi úspěšné první vydání z r. 1997 a rychlý pokrok v onkologii v posledních letech. Druhé vydání má oproti prvému o 50 % větší rozsah, všechny kapitoly byly důkladně revidovány nebo jsou zcela nové. O aktualitě knihy svědčí, že zde nalezneme citace literatury i z r. 1999. Jedná se o vynikající přehled současného stavu problematiky, který ušetří zájemcům mnoho času, který by si vyžádalo studium jednotlivých časopiseckých prací. Slovo „přehled“ v názvu knihy by lépe charakterizovalo její obsah než slovo „učebnice“; zdá se však, že toto vydání je oproti prvnímu zpracováno didaktičtěji a stejnorodněji. Adresa nakladatelství: Martin Dunitz Ltd, The Livery House, 7 - 9 Pratt Street, London NW1 0AE, UK.

V. H.

SROVNÁNÍ DETEKCE HPV INFEKCE U KARCINOMU DĚLOŽNÍHO ČÍPKU POMOCÍ HYBRIDIZACE IN SITU A IMUNOHISTOCHEMICKÉHO PRŮKAZU PAPILOMAVIROVÉHO PROTEINU E6

HPV DETECTION IN CERVICAL CARCINOMA – AN IN SITU HYBRIDISATION OF DNA COMPARED TO HPV E6 PROTEIN IMMUNOHISTOCHEMISTRY

ANTON M.¹, LUKÁŠ Z.², NENUTIL R.³, REJTHAR A.⁴, VOJTĚŠEK B.⁵

¹ II. GYNEKOLOGICKO-PORODNICKÁ KLINIKA, FN BRNO

² II. PATOLOGICKO – ANATOMICKÝ ÚSTAV MASARYKOVY UNIVERSITY V BRNĚ, FN BRNO, DĚTSKÁ NEMOCNICE

³ ODDĚLENÍ PATOLOGIE, FN BRNO – PRACoviŠTĚ PORODNICE

⁴ BIOPTICKÁ STANICE FN BRNO

⁵ ODDĚLENÍ BUNĚČNÉ A MOLEKULÁRNÍ ONKOLOGIE, MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV BRNO

Souhrn: Úvod: Lidské papilomaviry (HPV) se významně uplatňují v patogenezi cervikální intraepiteliální neoplazie a invazivního spinocelulárního karcinomu děložního čípku. Důležitým činitelem v tomto procesu by měla být zejména funkční inaktivace produktu antionkogenu p53 papilomavirovým proteinem E6. Předkládaná práce sleduje možnost imunohistochemického průkazu proteinu E6 na materiálu s výskytem HPV infekce prokázaným in situ hybridizací. **Materiál a metody:** Srovnání in situ hybridizace virové DNA a imunohistochemického průkazu proteinu E6 HPV 16 a 18 bylo provedeno na parafrinovém bioptickém materiálu od 36 pacientek, zahrnujícím 17 karcinomů a 19 dysplastických lézí CIN I-III. K hybridizaci byla použita standardní metodika (Biohit) s využitím screeningové (pan-HPV) sondy a typově specifických sond. Imunohistologie byla provedena pomocí monoklonální protilátky proti proteinu E6 HPV 16 a 18 s amplifikační reakce biotinylovaným tyramidem. **Výsledky:** In situ hybridizace se screeningovou sondou byla pozitivní u 35, tj. prakticky všech případů. V 19 z 21 bližší typizovaných případů se typy 16 a 18 vyskytly samostatně nebo kombinovaně s jiným typem. Imunohistochemický průkaz proteinu E6 byl úspěšný v 11 případech, a to výhradně HPV 16 nebo 18 pozitivních pomocí in situ hybridizace. **Závěr:** Imunohistologický průkaz papilomavirového proteinu E6 typů 16 a 18 je schůdný a s použitou protilátkou vysoce specifický. Senzitivita je však dosti nízká a je nutno použít detekční metodu s amplifikační signálu biotinylovaným tyramidem. Výsledek je však i tak zajímavý jednak jako částečná náhrada náročnějších hybridizačních metodik, jednak jako možný prognostický ukazatel stupně narušení odpovědi nádoru na radioterapii a chemoterapii zprostředkovanou p53 dependentní dráhou.

Klíčová slova: karcinom čípku, CIN, HPV, E6

Summary: **Introduction:** Human papillomaviruses (HPV) are involved in carcinogenesis of uterine cervical epithelium. Functional inactivation of p53 protein, which is mediated by the HPV protein E6, is thought to be an important feature of this process. We tested the immunohistochemical approach to demonstrate the HPV 16 and 18 E6 protein expression in cervical dysplasias and carcinomas with HPV presence detected by *in situ* hybridisation. **Material and methods:** The study was performed in paraffin embedded biopsy samples from 36 patients consisting of 17 cervical carcinomas and 19 dysplastic lesions ranging from CIN I to CIN III. The *in situ* hybridisation of HPV DNA was done using a commercial kit (Biohit), containing a screening (pan HPV) probe and single type specific probes. The monoclonal antibody against E6 of HPV types 16 and 18 was used for immunohistochemistry. The antibody detection was amplified using biotinylated tyramide. **Results:** The *in situ* hybridisation of pan-HPV probe was positive in 35 cases. The further evaluation of the HPV type was successful in 21 cases, 19 of them containing HPV 16 or 18. The E6 protein immunostaining was successfully detected in 11 cases, all of them being positive for the HPV 16 or 18 specific DNA sequences. **Conclusion:** The immunostaining of HPV 16 and 18 E6 protein is possible and can be highly specific. The sensitivity of this method is not completely satisfactory, despite of highly sensitive biotinylated tyramide detection used. The E6 immunohistochemistry might possibly replace *in situ* hybridisation methods in some instances. The level of E6 expression could be of interest as a marker estimating degree of derangement of p53-mediated cell response to radiotherapy and chemosensitivity of these carcinomas.

Key words: cervical carcinoma, CIN, HPV, E6

Teoretický úvod

V patogenezi karcinomu čípku existují tři hlavní známé mechanismy, z nichž dva souvisí s infekcí lidskými papilomaviry (HPV – human papilloma virus). Třetí je na papilomavirech nezávislý a souvisí s dalšími genetickými změnami (1). První příčinou je vliv exprese virových proteinů E6 a E7 a jejich interakce s proteiny, které se podílejí na regulaci buněčného cyklu. Druhou příčinou je začlenění virové DNA do oblastí chromozomální DNA, které jsou zodpovědné za nádorový fenotyp. Třetí příčina je pak značně heterogenní. Objevuje se zde celá řada genomových změn, z nichž nejčastější je ztráta heterozygoty v chromozomálních oblastech

3p14-22, 4p16, 5p15, 6p21-22, 11q23, 17p13.3, 18q12-22 a 19q13, které jsou místy výskytu antionkogenů a již známých tak celé řady teoreticky předpokládaných. Velmi častou genetickou změnou je pak amplifikace oblasti 3q24-28, se kterou se setkáváme u 90% invazivních karcinomů čípku. Méně častými jsou mutace v rozdílných genech a mikrosatelitní nestabilita. S těmito jevy se setkáváme jen asi u 7% karcinomů čípku. Z celé řady studií je zřejmé, že vývoj karcinomů čípku je mnohastupňový proces při němž dochází k selekci celé řady genetických alterací. Identifikace genů zahrnutých v daném procesu a jejich vztah ke specifickým vlastnostem nádorů v jeho určitém vývojovém stádiu přispívá k přesnému chápání malignity

ního procesu u nádorů čípku a otvírá nové možnosti vývoje diagnostických i terapeutických přístupů.

Prognóza invazivních karcinomů čípku je nejvýrazněji ovlivněna stádiem onemocnění v okamžiku diagnózy. Mezi další důležité faktory, které prognózu ovlivňují patří hloubka invaze a histologický typ nádoru, stupeň diferenciace a invaze lymfatických a krevních cév. Doposud prováděné molekulární a imunohistochemické analýzy neprokázaly žádné onkogeny, antionkogeny a s nimi asociované proteiny, které by byly významným markerem prognózy tohoto onemocnění.

Potenciálně zajímavá je v tomto smyslu detekce lidských papilomavirů ať již na úrovni DNA nebo na úrovni exprese virových proteinů E6 a E7. Bylo opakovaně prokázáno, že lidské papilomaviry jsou úzce spjaty s vývojem cervikálních karcinomů. Rodina HPV obsahuje více jak 100 virových typů, které byly dosud identifikovány (2). Jedná se o poměrně malé DNA viry s genomem o velikosti 8kb, které jsou striktně vázány na epitel a to buď slizniční nebo kožní. DNA vysoce rizikových lidských papilomavirů (typu 16, 18, 31, 33 a 51) byla detekována přibližně u 90 – 95% cervikálních karcinomů (3, 4, 5). Kromě výskytu vysoce rizikových HPV se často setkáváme u cervikálních kondylomů i s výskytem HPV typu 6 a 11, které jsou označovány jako nerizikové, protože u čípků infikovaných tímto typem HPV dochází velmi zřídka k tvorbě nádoru. Výskyt vysoce rizikových forem HPV u převážně většiny pacientů s karcinomem děložního čípku je prokazován serologickými, histopatologickými a molekulárně biologickými metodami (virová DNA je detekovatelná v nádorové tkáni). Vzniklé nádory a z nich ustavené buněčné linie rovněž exprimují dva velmi důležité virové onkoproteiny E6 a E7. Ze získaných výsledků je zřejmé, že tyto onkoproteiny jsou zodpovědné za pokračující růst nádorových buněk (6, 7, 8). Jestliže hovoříme o klinickém významu transformační aktivity určitých HPV typů je nutné si uvědomit, že hlavním cílem virů je zabezpečit svou vlastní replikaci a na transformaci jimi vyvolanou se lze dívat spíše jako na chybu tohoto procesu. K pochopení normálního virového životního cyklu, vzniku chyb vedoucích k neoplastické transformaci a hledání nových potenciálních terapeutických přístupů je nutná detekce proteinů E6 a E7 a studium interakce těchto virových proteinů s buněčnými cílovými proteiny. *In vitro* studie prokázaly že protein E6 vysoce rizikových HPV tvoří komplex s geneticky intaktní formou proteinu p53 a je zodpovědný za jeho funkční inaktivaci a rychlou degradaci přes ubiquitinovou dráhu (9, 10). Výsledkem je porušení funkce proteinu p53 jako jeho aktivity spojené s kontrolou buněčného růstu a programovanou smrtí buněk při poruše integrity genomu. Zároveň protein E7 vysoce rizikových HPV interaguje s proteinem Rb, produktem retinoblastomového genu, a blokuje jeho antionkogenní funkci (11, 12). Porucha regulace buněčného cyklu a mechanizmů střežících genomovou integritu je z obecného hlediska jedním z prvotních předpokladů vzniku malignity.

Velmi překvapivým je rozdílné chování vysoce rizikových (high-risk) a nerizikových (low-risk) HPV, protože lze předpokládat, že obě skupiny virů musí obejít stejné buněčné překážky, aby mohl proběhnout celý cyklus virové replikace. Příkladem rozdílné funkce u obou typů HPV je protein E6, který u vysoce rizikových virů efektivně interaguje s proteinem p53 zatímco u nerizikových virů tato interakce neexistuje. Dá se předpokládat, že rozdíly mezi těmito skupinami virů mohou být způsobeny místem jejich replikace. Všechny HPV infikují keratinocyty v bazální vrstvě epidermis, ale jsou schopny replikace pouze v epitelu, který proliferuje, protože pro svůj cyklus vyžadují replikaci buněčné DNA. Za daných podmínek viry musí vytvořit rovnováhu mezi stimulací replikace a inhibicí terminální diferenciace, případně apoptózy. Obě skupiny HPV se dají rozlišit podle místa jejich DNA replikace v maturujícím dlaždicovém epitelu (13). Replikace DNA HPV s nízkým rizikem probíhá převážně ve spodních vrstvách kde

keratinocyty stále procházejí buněčným dělením, zatímco vysoce rizikové HPV replikují svůj genom ve vyšších vrstvách epitelu kde se nacházejí keratinocyty za normálních okolností již terminálně diferencované. Pro vysoce rizikové HPV je tedy nezbytnou nutností stimulovat replikaci DNA v nepřirozeném prostředí a je tedy nutno aby jejich E7 protein efektivně moduloval indukci DNA syntézy (14, 15) a rovněž aby E6 protein efektivně inaktivoval funkce proteinu p53.

Cílem předkládané práce bylo srovnání detekce HPV infekce pomocí hybridizace in situ a imunohistochemického průkazu proteinu E6 a ověření možnosti jeho detekce pomocí komerčně dostupných protilátek s využitím amplifikace signálu biotinylovaným tyramidem.

Materiál a metody

Soubor pacientek

Do studie byl zařazen histopatologický parafinový materiál od 36 pacientek ve věku od 19 do 76 let. Studované vzorky byly získány z diagnostických excizi, konizátů, eventuálně z hysterektomií. Histopatologická diagnóza zahrnovala parakeratózu bez dysplazie (1 případ), CIN I (3 případy), CIN II (7 případů), CIN III (8 případů), dlaždicobuněčný karcinom (16 případů) a nediferencovaný karcinom (1 případ).

Imunohistochemická detekce proteinu E6

Rutinně připravené vzorky v parafinových blocích byly nakrájeny a přeneseny na silanizovaná skla, řezy odparafinovány a rehydratovány. Odmaskování antigenních epitopů bylo provedeno povafením vzorků v po dobu 2x5minut v mikrovlnné troubě v 0.01M citrátovém pufru pH 6,0. Po promytí v destilované vodě byly z důvodu zablokování endogenní peroxidázy řezy přeneseny na dobu 20 minut do 1% roztoku H₂O₂ v PBS (fyziologický roztok, pufovaný fosfátem na pH 7,4). Nespecifická vazebná aktivita byla zablokována převrstvením řezů roztokem 5% nízkotučného mléka s 0.01% Tween 20 v TBS (fyziologický roztok pufovaný Tris na pH 7,6). Takto zablokované řezy byly osušeny, a byla na ně na jednu hodinu při pokojové teplotě aplikována monoklonální protilátka (C1P5, Santa Cruz) rozlišující protein E6 papilomavirů 16 a 18, ředěná 1:50 (na 2μg/ml) v TBS s 1% obsahem BSA (bovinního sérového albuminu). Po trojím promytí roztokem 0.01% Tween 20 v PBS byla na 30 minut nanášena anti-myší sekundární protilátka značená biotinem (Amersham) ředěná 1:200 v roztoku 1% BSA v TBS. Po opakovaném trojím promytí roztokem 0.01% Tween 20 v PBS byl na dobu 30 minut aplikován avidin-peroxidázový komplex (Vector-Elite). Po následném trojím promytí roztokem 0.01% Tween 20 v PBS byl aplikován na dobu 10 minut amplifikační systém (biotinylovaný tyramid) ředěný 1:50 v pracovním roztoku (DUPONT). Po trojím promytí roztokem 0.01% Tween 20 v PBS následovalo znovu nanášení komplexu avidin-peroxidáza na dobu 30 minut. Peroxidáza byla pak následně detekována pomocí 0,01% DAB (diaminobenzidinu) v PBS s 0,03% H₂O₂. Řezy byly dobarveny hematoxylinem, dehydratovány, projasněny a zamontovány pro mikroskopické zhodnocení.

Stanovení infekce HPV

Biohit HPV in situ skrining test byl využit pro detekci DNA lidského papilomaviru v parafinových vzorcích tkání metodou in situ hybridizace.

Rutinně připravené vzorky v parafinových blocích byly nakrájeny a přeneseny na silanizovaná skla, řezy odparafinovány a rehydratovány. Metoda hybridizace in situ byla provedena s využitím komerčně dostupného kitu od firmy Biohit a hybridizace in situ provedena dle doporučeného firmního manuálu. Pro skriningové stanovení infekce HPV byla využita DNA próba, která se váže na DNA všech HPV bez rozlišení typu viru. V případě její pozitivity byla dále provedena typizace HPV dalšími sondami umožňujícími specifickou detekci DNA lidského papilomaviru typů 6, 11, 16, 18, 31 a 33.

na souboru 36 pacientek se stanovenou diagnózou dlaždícobuněčný karcinom (16 případů), nediferencovaný karcinom (1 případ), parakeratoza (1 případ) a CIN I – CIN III (18), jsme analyzovali HPV infekci pomocí hybridizace *in situ* a tuto korelovali s expresí proteinu E6. S využitím screeningové testovací sady od firmy Biohit se nám podařilo detekovat HPV infekci u 35 pacientek a 1 pacientka byla na výskyt HPV negativní (tabulka I, obrázek 1). Předcházející metodou jsme určili výskyt HPV infekce bez stanovení přesného typu viru. K bližšímu určení HPV jsem využili typizační sadu téže firmy, která nám umožnila přesné stanovení typu DNA HPV 6, 11, 16, 18, 31 a 33 (obrázek 2). Ve 21/35 (60%) případech byla typizace úspěšná a podařilo se nám nalézt alespoň jeden z výše uvedených typů. U 14 pacientek se nám podařilo prokázat typ 16, v pěti případech typ 18, ve čtyřech případech typ 33, ve

dvou případech typ 6, typ 11 a typ 31. Současný výskyt 16 a 18 jsme nenalezli u žádné z pacientek, kombinaci typ 16 a 18 u dvou pacientek. Kombinace typů 16 a 33, 16 a 31 i nalezeny ve dvou případech a v jednom případě jsme našli kombinaci typů 11 a 31. Jedna pacientka měla kombinaci typů 16, 31 a 33. U 15 pacientek se nám nepodařilo stanovit HPV viru, přestože jsme výskyt HPV prokázali screeningovou sondou. Výskyt HPV 16 a 18 byl u 19 pacientek a z toho v 11 (58%) případech imunohistochemická detekce proteinu E6 kopírovala výskyt HPV 16 a 18 (obrázek 3, obrázek 4). V (42%) případech nebyla hladina E6 detekována. Situace k nebyl potvrzen výskyt HPV 16 a 18 nebyly pozitivní s protilátkou rozlišující E6 protein v žádném z případů. Typizace HPV a imunohistochemická detekce jsou rovněž dokumentovány na obrázcích 1 a 2.

Srovnání HPV infekce pomocí hybridizace *In Situ* a imunohistochemické detekce proteinu E6.

Pacient	Věk	Diagnóza	HPV scr	HPV typ	E6
1	22	kondylom, CIN I	+	16	+
2	37	CINII	+	-	-
3	40	dlaždícobuněčný karcinom	+	-	-
4	37	dlaždícobuněčný karcinom	+	16	+
5	38	CINII	+	16	-
6	30	CINII	+	16	+
7	33	dlaždícobuněčný karcinom	+	6, 18	+
8	30	CINII	+	-	-
9	52	dlaždícobuněčný karcinom	+	11	-
10	76	dlaždícobuněčný karcinom	+	-	-
11	39	CINII	+	16	+
12	37	CINII	+	-	-
13	40	dlaždícobuněčný karcinom	+	-	-
14	37	dlaždícobuněčný karcinom	+	16	-
15	38	CINIII	+	16	-
16	56	dlaždícobuněčný karcinom	+	16	-
17	42	dlaždícobuněčný karcinom	+	16, 31, 33	-
18	32	parakeratóza	+	18	+
19	31	CINI	+	-	-
20	51	dlaždícobuněčný karcinom	+	18	-
21	35	dlaždícobuněčný karcinom	+	16	+
22	35	CINIII	+	-	-
23	31	CINIII	+	-	-
24	40	dlaždícobuněčný karcinom	+	16, 33	+
25	28	CINII	+	-	-
26	39	CINII	+	-	-
27	48	dlaždícobuněčný karcinom	+	16, 33	-
28	48	dlaždícobuněčný karcinom	+	16, 31	-
29	44	CINIII	+	-	-
30	33	dlaždícobuněčný karcinom	+	6, 18	-
31	70	dlaždícobuněčný karcinom	+	-	-
32	29	CINIII	+	-	-
33	34	CINII	+	-	-
34	19	CINII	+	16	+
35	22	CINI	+	11, 33	-
36	38	dlaždícobuněčný karcinom	+	18	-

HPV scr: testování HPV infekce pomocí kitu „Biohit HPV *In Situ* Screening test“

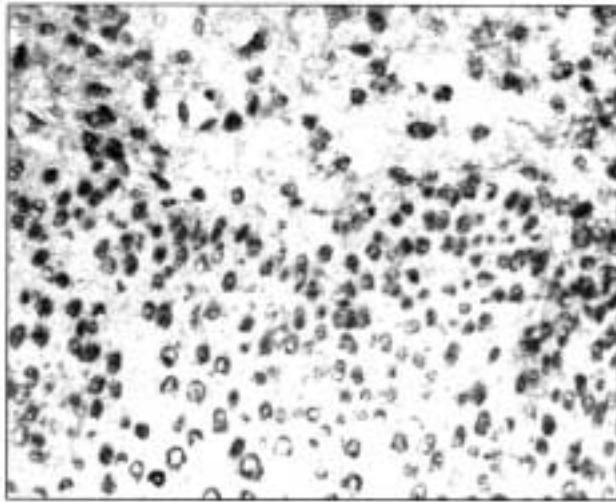
HPV typ: typizace HPV pomocí kitu „Biohit HPV *In Situ* Typing Test

E6: imunohistochemická detekce proteinu E6 pomocí protilátky CIP5 (Santa Cruz).

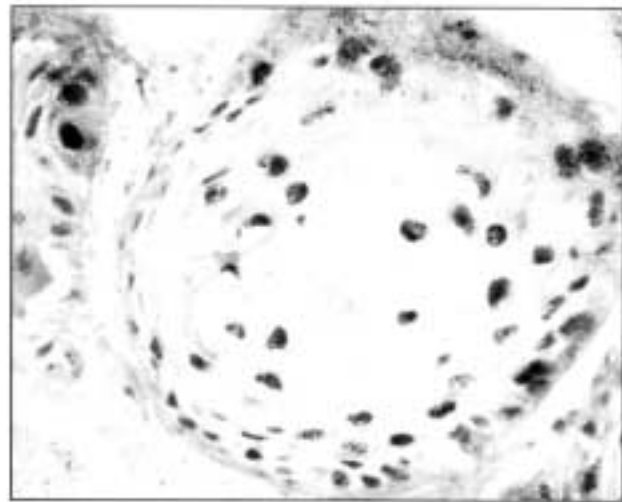
Diskuse

Karcinom čípku děložního je druhým nejčastěji se vyskytujícím typem nádorů u žen v celosvětovém měřítku a existující epidemiologické studie jednoznačně prokázaly, že příčincem vzniku této maligní transformace jsou sexuálně přenášené HPV (16). Schopnost vysoce rizikových HPV vyvolat maligní progresy čípku děložního závisí na expresi proteinů E6 a E7, které jsou odpovědné za inaktivaci proteinu p53 (E6) a protein Rb (E7), produktů antionkogenů p53 a retinoblastomového genu. Protein E6 vysoce rizikových HPV je především zodpovědný za inhibici biologických aktivit proteinu p53, mezi něž patří i) blok v G1 fázi buněčného cyklu, ii) transaktivace genové exprese a iii) proces apoptózy. Inaktivace všech výše jmenovaných funkcí antionkogenů p53 má za následek poruchu regulace genomové integrity a umožňuje vznik karcinomu čípku děložního.

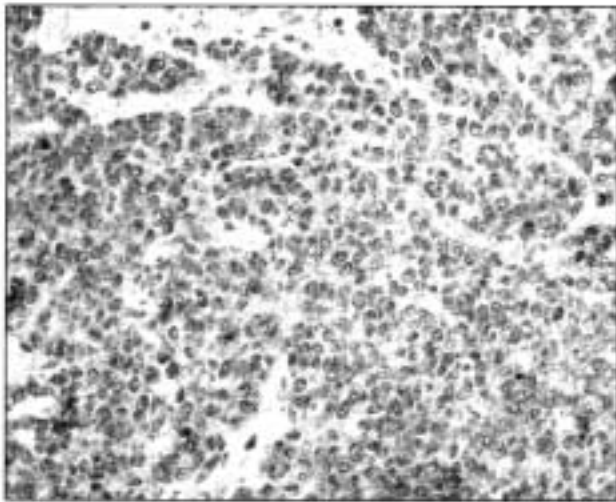
Detekce HPV infekce je v současné době běžně prováděna pomocí hybridizace *in situ* a PCR technik, které jsou zaměřeny na detekci virové DNA jak ve stěrech, tak rovněž v tkáňovém materiálu. Metodická a finanční náročnost výše jmenovaných technik je činí nedostupnými pro většinu rutinních laboratoří a je tedy vhodné se snažit o zavedení jejich levnějších a snadnějších alternativ, které by měly obdobnou výpovědní hodnotu. V současné době přitom existuje velmi málo údajů o expresi proteinu E6 z integrované HPV DNA, protože většina prací se zabývá pouze detekcí virové DNA pomocí mRNA kódující protein E6. V naší práci jsme provedli srovnání exprese proteinu E6 a detekci HPV pomocí hybridizace s cílem srovnat výpovědní hodnotu obou metodik. Výsledky potvrdily výskyt proteinu E6 u 58% pacientek pozitivních na HPV 16 a 18. Ve zbývajících 42 procentech nebylo možno protein E6 imunohistochemicky prokázat, přestože se nám podařilo metodou hybridizace *in situ* stanovit výskyt HPV 16 a 18. Hladina proteinu E6 doposud nebyla uspokojivě analyzována pomocí imunohistochemických metod na rozsáhlých souborech nádorového materiálu, přestože by tyto údaje mohly být velmi zajímavé z hlediska možné predikce odpovědi na radioterapii a chemoterapii vzhledem k interakci proteinu E6 s mechanismem zastavujícím buněčné dělení, případně indukujícím apoptózu po genotoxickém inzultu. Příčinou může být jak nedostupnost kvalitních protilátek s vysokou afinitou k proteinu E6 vysoce rizikových HPV, tak velmi nízká hladina proteinu E6 v nádorových buňkách (17). Výskyt nízké hladiny proteinu E6 v HPV pozitivní nádorové tkáni a buněčných liniích je podpořena výsledky, které jednoznačně prokazují velmi nízkou hladinu mRNA kódující kompletní E6 protein (18, 19). Z těchto poznatků jednoznačně vyplývá, že pro imunohistochemické studie je nutno použít pouze protilátky s vysokou afinitou proti proteinu E6 a speciální amplifikační metodu, která je popsána v metodice. Nedetekovatelnou hladinu E6 proteinu u 42% případů v našem souboru lze tedy vysvětlit výše popisovanými problémy. Při imunohistochemické studii jsme použili *de facto* jediné komerčně dostupné protilátky proti proteinu E6 HPV typů 16 a 18 (ten-



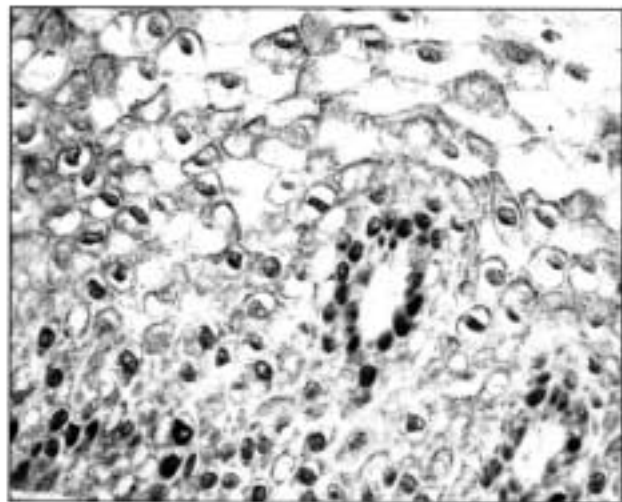
Obrázek 1: In situ hybridizace – HPV screening u spinocelulárního karcinomu (400x).



Obrázek 2: In situ hybridizace – HPV 18 detekovaný u spinocelulárního karcinomu (400x).



Obrázek 3: Imunohistologie – protein E6 detekovaný protilátkou C1P5 u spinocelulárního karcinomu (400x).



Obrázek 4: Imunohistologie – protein E6 detekovaný protilátkou C1P5 u CIN I (400x).

tyž hybridom je rovněž v nabídce firmy Oncogene Science, jiné firmy protilátky proti E6 proteinu nenabízí). V našem souboru jsme nenalezli jediný případ kdy bychom protein E6 detekovali v případě, že nebyl prokázán výskyt DNA HPV 16 nebo 18, což svědčí o její vysoké specificitě, senzitivitu a afinitu je však nemožné spolehlivě hodnotit. Kombinovaný výskyt jednotlivých typů HPV je rovněž v souladu s publikovanými údaji jak po stránce typů HPV tak jejich procentuálního zastoupení (20). U 14(40%) případů, kde nebyl stanoven typ HPV, lze předpokládat výskyt HPV jejichž typizační sondy nebyly k dispozici v naší používané typizační sadě. Nemusí se tedy jednat o nedostatečnou citlivost metody hybridizace *in situ*. Ze získaných výsledků jednoznačně vyplývá, že kombinací několika protilátek rozlišujících různé epitopy proteinu E6

s vyšší afinitou a amplifikační metody by mělo být možné protein E6 detekovat v buňkách infikovaných HPV 16 a 18. Detekce proteinu E6 by pak mohla sloužit jako jednoduchý test na výskyt dvou vysoce rizikových HPV, který by v některých aplikacích nahradil doposud používané techniky detekce virové DNA. Sledování exprese tohoto proteinu, který je zodpovědný za inaktivaci antionkogenu p53, a stanovení jeho hladiny v nádorových buňkách, by mohlo rovněž přispět k využití tohoto proteinu jako potenciálního markeru odpovědi nádoru na radioterapii, případně genotoxickou chemoterapii.

Podpora grantů: Tato práce byla podporována IGA MZ ČR číslo 4256-3 a 4783-3.

Literatura:

1. Lazo P.A.: The molecular genetics of cervical carcinoma. *Br. J. Cancer* 80, 1999, 2008-2018.
2. de Villiers E.M., Lavergne D., McLaren K., Benton E.C.: Prevailing papillomavirus types in non-melanoma carcinomas of the skin in renal allograft recipients. *Int J Cancer* 73, 1997, 356-361.
3. Lorincz A.T., Temple G.F., Kurman R.J., Jenson A.B., Lancaster W.D.:

- Oncogenic association of specific human papilloma-virus types with cervical neoplasia. *J. Nat. Cancer Inst.* 79, 1987, 671-677.
4. Das B.C., Sharma J.K., Gopalkrishna V., Das D.K., Singh V., Gissmann L., Zur Hausen H., Luthra U.K.: A high frequency of human papillomavirus DNA sequences in cervical carcinomas of Indian women as revealed by Southern blot hybridization and polymerase chain reaction. *J. Med. Virol.* 36, 1992, 239-245.

5. Schoell W.M., Janicek M.F., Mirhashemi R.: Epidemiology and biology of cervical cancer. *Semin. Surg. Oncol.* 16, 1999, 203-211.
6. Schwarz E., Freese U.K., Gissmann L., Mayer W., Roggenbuck B., Stremmel A., zur Hausen H.: Structure and transcription of human papillomavirus sequences in cervical carcinoma cells. *Nature* 314, 1985, 111-114.
7. Androphy E.J., Hubbert N.L., Schiller J.T., Lowy D.R.: Identification of the HPV-16 E6 protein from transformed mouse cells and human cervical carcinoma cell lines. *EMBO J* 6, 1987, 989-992.
8. Banks L., Matlashewski G., Pim D., Churcher M., Roberts C., Crawford L.: Expression of human papillomavirus type 6 and type 16 capsid proteins in bacteria and their antigenic characterization. *J Gen Virol* 68, 1987, 3081-3089.
9. Werness B.A., Levine A.J., Howley P.M.: Association of human papillomavirus types 16 and 18 E6 proteins with p53. *Science* 248, 1990, 76-79.
10. Scheffner M., Werness B.A., Huibregtse J.M., Levine A.J., Howley P.M.: The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53. *Cell* 63, 1990, 1129-1136.
11. Banks L., Barnett S.C., Crook T.: HPV-16 E7 functions at the G1 to S phase transition in the cell cycle. *Oncogene* 5, 1990, 833-837.
12. Zur Hausen H.: Molecular pathogenesis of cancer of the cervix uteri and its causation by specific human papillomavirus types. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 186, 1994, 131-156.
13. Doorbar J., Foo C., Coleman N., Medcalf L., Hartley O., Prospero T., Naphthine S., Sterling J., Winter G., Griffin H.: Characterization of events during the late stages of HPV16 infection in vivo using high-affinity synthetic Fabs to E4. *Virology* 238, 1997, 40-52.
14. Sato H., Furuno A., Yoshiike K.: Expression of human papillomavirus type 16 E7 gene induces DNA synthesis of rat 3Y1 cells. *Virology* 168, 1989, 195-199.
15. Banks L., Edmonds C., Vousden K.H.: Ability of the HPV16 E7 protein to bind RB and induce DNA synthesis is not sufficient for efficient transforming activity in NIH3T3 cells. *Oncogene* 5, 1990, 1383-1389.
16. Zur Hausen H.: Human genital cancer: Synergism between two virus infections or synergism between a virus infection and initiating events. *Lancet* 18, 1982, 1370-1372.
17. Butz K., Shahabuddin L., Geisen C., Spitkovsky D., Ullmann A., Hoppe-Seyler F.: Functional p53 protein in human papillomavirus-positive cancer cells. *Oncogene* 10, 1995, 927-936.
18. Schneider-Gadicke A., Schwarz E.: Different human cervical carcinoma cell lines show similar transcription patterns of human papillomavirus type 18 early genes. *EMBO J* 5, 1986, 2285-2292.
19. Bohm S., Wilczynski S.P., Pfister H., Iftner T.: The predominant mRNA class in HPV16-infected genital neoplasias does not encode the E6 or the E7 protein. *Int J Cancer* 55, 1993, 791-798.
20. Tachezy R., Hamsikova E., Hajek T., Mikyskova I., Smahej M., Van Ranst M., Kanka J., Havrankova A., Rob L., Guttner V., Slavik V., Anton M., Kratochvil B., Kotrsova L., Vonka V.: Human papillomavirus genotype spectrum in Czech women: correlation of HPV DNA presence with antibodies against HPV-16, 18, and 33 virus-like particles. *J Med Virol* 58, 1999, 378-386.

informace

Dovolujeme si Vás pozvat na konferenci
ADJUVANTNÍ TERAPIE KARCINOMU PRSU PO ROCE 2000
 konanou dne 11. října 2000 od 10.00 hod.

pořádá
 Onkologická klinika VFN 1. LF UK v Praze, posluchárna na ORL klinice

Konference bude spojena se setkáním řešitelů studie ATLAS

Setkání pořádá Onkologická klinika VFN 1. LF UK a Early Breast Cancer Collaborative Group

Program:

Richard Peto, Christina Davies: *Overview of the world-wide evidence on tamoxifen, ovarian ablation, polychemotherapy, and radiotherapy*

Richard Peto: *Implications of the Overview for the ATLAS trial*

Christina Davies: *Progress of the ATLAS trial world-wide*

Luboš Petruželka: *Overview of ATLAS in Czech republic*

Předpokládané ukončení setkání v 16.00 hod.

Sponzor akce: **ASTRA ZENECA**

Přihlášku k účasti zasílejte do 30. září 2000

na adresu: Onkologická klinika VFN 1. LF UK, U nemocnice 2, 128 08 Praha 2, faxem: (02) 2492 1716, e-mailem: tomdag@vfn.cz

HODNOTENIE KVALITY ŽIVOTA PO TRANSREKTÁLNEJ BIOPSI PROSTATY POD ULTRAZVUKOVOU KONTROLOU A JEJ KOMPLIKÁCIE

QUALITY OF LIFE PATIENTS UNDERGOING ULTRASOUND GUIDED TRANSCRECTA BIOPSY OF PROSTATE

JAVORKA, K., ŠVIHRA, J., LUPTÁK, J., ELIÁŠ, B., KLIMENT, J.

UROLOGICKÁ KLINIKA JESSENIOVEJ LEKÁRSKEJ FAKULTY A MARTINSKEJ FAKULTNEJ NEMOCNICE, MARTIN

Súhrn: *Východiská:* Určiť vplyv digitálneho rektálneho vyšetrenia (DRV), transrektálnej sonografie a punkčnej biopsie prostaty na kvalitu života pacientov s ohľadom na opakovanú biopsiu. *Typ štúdie a súbor:* Štúdia bola vykonaná na skupine pacientov zaradených do skríningovej štúdie na základe DRV a prostatického špecifického antigénu, u ktorých bola urobená punkčná biopsia prostaty pod ultrazvukovou kontrolou. *Metódy a výsledky:* Každý pacient vyplnil po biopsii dotazník, ktorý hodnotil kvalitu života, komplikácie a postoj k opakovanej biopsii prostaty. 215 (71 %) vyplnených dotazníkov, z celkového počtu 303 odoslaných ukázalo, že hematuria sa vyskytla u 67 (31 %) pacientov, krvácanie z konečníka u 45 (21 %), dyzúria u 39 (18 %), bolesti po biopsii u 33 (15 %), hematospermia u 33 (15 %) a horúčka u 13 (6 %) pacientov. Ako najbolestivejšie pacienti hodnotili zavedenie transrektálnej sondy do konečníka. Po negatívnom výsledku biopsie 75 (35 %) pacientov nesúhlasilo s opakovanou biopsiou. *Závery:* Odmietnutie opakovanej biopsie prostaty je u pacientov časté. Pacientovi je dôležité vysvetliť nutnosť opakovanej biopsie po prípadnom negatívnom výsledku histologického vyšetrenia.

Kľúčové slová: karcinóm prostaty, biopsia, komplikácie, kvalita života

Summary: *Background:* To assess an influence of the digital rectal examination, the transrectal ultrasound examination and the ultrasound-guided biopsy of the prostate towards patients quality of life with respect to the repeated biopsy. *Design and subjects:* Our study was proposed in a population based screening program including digital rectal examination of prostate and prostate specific antigen. Following the basic evaluation ultrasound with biopsy gun needle were used. *Methods and results:* Each patient filled in specific self-administrate questionnaire after core biopsy. The questionnaires assessed patients quality of life, complications and attitudes towards prostate cancer and repeated biopsy in case of negative results. 215 (71%) questionnaires from 303 patients showed that hematuria had occurred in 67 patients (31%), rectal bleeding in 45 (21%), dysuria in 39 (18%), pain after biopsy in 33 (15%), hematospermia in 33 (15%) and fever in 13 (6%) patients. Transrectal ultrasound of the prostate, biopsy of the prostate and digital rectal examination in descending order were reported as the most painful procedures. After negative prostate biopsy, 75 (35%) patients did not agree with repeated procedures. *Conclusions:* Patients refusal of repeated prostate biopsy is frequent. It seems helpful to discuss with such patients the necessity to employ further procedure even in case of negative results.

Key words: prostate cancer, biopsy, complications, quality of life

Úvod

Karcinóm prostaty patrí medzi najčastejšie zhubné nádory u mužov a je najčastejším nádorom urogenitálneho systému. Zriedkavo sa vyskytuje vo veku pod 45 rokov, po 50. roku života jeho incidencia narastá a vrchol dosahuje v 8. dekáde života. V poslednom období jeho incidencia každým rokom stúpa. Na vzostupe incidencie sa podieľa jednak zlepšenie diagnostiky - digitálne rektálne vyšetrenie (DRV), vyšetovanie hladiny prostatického špecifického antigénu (PSA), prísnejšie indikácie vyšetrenia pomocou transrektálnej ultrazvukovej sondy (TRUS prostaty) s odberom biopтической vzorky, ale aj predlžovanie priemerného veku života. Kombinácia digitálneho rektálneho vyšetrenia a určenie hladiny prostatického špecifického antigénu sa považujú za základné postupy diagnostiky karcinómu prostaty (7,10). Transrektálne ultrazvukové vyšetrenie prostaty je indikované u pacientov so zvýše-

nými hladinami PSA a/alebo pri pozitívnom palpačnom náleze pri DRV. Ak na základe palpačného nálezu a/alebo zvýšenej hladiny PSA a/alebo pozitívneho nálezu pri TRUS vznikne podozrenie na karcinóm prostaty, diagnóza sa musí potvrdiť histologicky. V súčasnosti sa za štandardný postup považuje odber vzorky z prostaty punkčnou biopsiou, pod sonografickou kontrolou, pomocou biopтической pištole transrektálnou cestou (cieľene, alebo randomizovane).

Materiál a metodika

Cieľom práce bolo zistiť postoje, morbiditu a tolerabilitu pacientov k transrektálnej biopsii prostaty, určiť najčastejšie komplikácie po biopsii prostaty a porovnať vlastné výsledky s výsledkami iných pracovišť. Štúdia je retrospektívna. Údaje o morbidite a tolerabilite transrektálnej punkčnej biopsie prostaty sú získané vyhodnotením dotazníkov (príloha č.1),

Príloha č. 1: Dotazník hodnotenia kvality života po transrektálnej biopsii prostaty.

Vyšetrenie sondou cez konečník bolo bolestivé?	nie	mierne	výrazne
Po vpichu do prostaty ste pri močení krvácali? Ak ste krvácali, tak koľko dní?: počet dní		nie	áno
Po vpichu do prostaty ste krvácali z konečníka, alebo pri odchode stolice? Ak ste krvácali, tak koľko dní?: počet dní		nie	áno
Mali ste po vpichu bolesti pri močení? Ak áno, tak koľko dní?: počet dní		nie	áno
Mali ste po vpichu bolesti v konečníku, alebo pri odchode stolice? Ak áno, tak koľko dní?: počet dní		nie	áno
Mali ste po vpichu zvýšenú teplotu? Ak áno, tak koľko dní?: počet dní		nie	áno
Mali ste po vpichu močových infekciu?		nie	áno
Museli ste po vpichu ležať v nemocnici? Ak áno, tak koľko dní?: počet dní		nie	áno
Prekonali ste v minulosti zápal prostaty alebo močových ciest?		nie	áno
Liečite sa na cukrovku?		nie	áno
Mali ste po vyšetrení sťažené močenie? Ak áno tak koľko dní?: počet dní		nie	áno
Chodili ste po vyšetrení často močiť? Ak áno tak koľko dní?: počet dní		nie	áno
Pozorovali ste prítomnosť krvi pri výrone semena?		nie	áno
Museli ste po vpichu navštíviť Vášho obvodného lekára alebo ste museli ísť na urologickú ambulanciu pre ťažkosti spojené s vyšetrením?		nie	áno
V prípade potreby boli by ste ochotní podstúpiť toto vyšetrenie ešte raz?		nie	áno

ktoré boli zaslané mužom po transrektálnej punkčnej biopsii prostaty pod ultrazvukovou kontrolou. Väčšina mužov bola so skriningovej štúdie uskutočnenej na Urologickej klinike MFN v rokoch 1996 - 1999. Dotazník obsahoval 15 otázok, ktoré boli zostavené zrozumiteľnou formou. Jednotlivé odpovede dotazovaní muži zakrúžkovali. Za indikáciu k biopsii prostaty sme považovali buď susp. palpačný nález pri DRV (uzol, zatvrdnutie, zmenu tvaru) a/alebo hodnotu PSA nad 4 ng/ml. Na vyšetrenie PSA boli použité sety firmy Adico Praha. Ak jedno z vyššie uvedených vyšetrení bolo pozitívne resp. susp. z karcinómu, následne bola urobená TRUS prostaty. Na vyšetrenie prostaty bola použitá transrektálna multiplanárna ultrazvuková sonda (7.5 MHz) firmy Bruel and Kjaer. Pri vyšetrení bola posúdená echoštruktúra celej prostaty (so zameraním sa hlavne na jej periférnu zónu). Biopsia prostaty bola urobená pomocou bioptrickej pištole firmy Manan (Tru-cut - ihla 16G) dvoma spôsobmi: buď ako 1. cieleňá biopsia z palpačne susp. ložiska a/alebo z ložiska zisteného pri TRUS prostaty (najčastejšie hypoechogénne v periférnej zóne prostaty), alebo 2. randomizovaná (sextantová). Pri sextantovej randomizovanej biopsii prostaty bolo odobratých celkovo 6 vzoriek (z bázy, stredú a apexu oboch lalokov prostaty). Každému vyšetřovanému bolo podané profylakticky 250 mg Ciprofloxacínu 1 hod. pred biopsiou a 12 hod. po nej. U väčšiny mužov bola biopsia prostaty urobená ambulantne, výnimku tvorili hospitalizovaní pacienti. Biopsiu prostaty robíme na našom pracovisku bez použitia celkovej anestézie a anxiolytík. Na transrektálnu ultrazvukovú sondu aplikujeme Mesocain gel. Dotazník bol zaslaný 303 mužom vo veku 51-80 rokov (stredný vek 67,5), u ktorých bola urobená punkčná biopsia prostaty pod ultrazvukovou kontrolou s odstupom času 1 až 23 mesiacov (v priemere 6.5 mesiaca) od vyšetřenia.

Výsledky

Z 303 odoslaných dotazníkom sme získali 215 vyplnených (70,7%). Najčastejšie komplikácie biopsie prostaty boli: makroskopická hematúria u 66 mužov (31%), proktorágia u 45 mužov (21%) s priemernou dobou trvania 4 dní. Krvácenie vo väčšine prípadov ustúpilo spontánne bez podania hemostyptík. Dyzurické ťažkosti udávalo v súvislosti s vyšetřením 38 mužov (18%), bolesti rekta pri defekácii 32 mužov (15%) s trvaním do 3 dní. Hemospermium udávalo 32 mužov (15%). Febrilný stav malo 13 vyšetřených (6%) s toho v 8 prípadoch (3,5%) bol kultivačne dokázaný infekť močových ciest, ktorý vyžadoval hospitalizáciu. Priemerná doba hospitalizácie bola 10 dní (7-30 dní). Obvodného lekára v spojitosti s ťažkosťami po punkčnej biopsii navštívilo 12 mužov (5,5%).

Pri subjektívnom hodnotení 31 mužov (14,5%) hodnotilo zavedenie rektálnej sondy ako výrazne bolestivé a viac ako polovica (52,5%) hodnotila vyšetrenie ako bolestivé a nepríjemné. Nebolestivé bolo vyšetrenie pre 71 mužov (33%). Nezistili sme signifikantné rozdiely v subjektívnom pocítovaní vyšetřenia v skupine 39 mužov (18%) s diabetes mellitus. V prípade potreby opakovania vyšetřenia viac ako 1/3 vyšetřovaných - 74 (34,5%) odmieta i napriek riziku malígneho ochorenia znova podstúpiť biopsiu prostaty. 27 mužov (12,5%) súhlasí znova s vyšetřením len v nutnom prípade.

Diskusia

Medzi najčastejšie komplikácie po transrektálnej punkčnej biopsii prostaty patrí krvácenie a infekcia. Jednotlivé komplikácie zistené touto štúdiou sú porovnané so štúdiami z lite-

Tabuľka č. 1: Komplikácie po transrektálnej punkčnej biopsii prostaty v porovnaní s inými publikovanými prácami.

	Javorka a spol. /2000/ Martin, SK /n=200/	Collins a spol. /1993/ Glasgow, GB /n=89/	Kirkels a spol. /1997/ Rotterdam, NL /n=1687/	Irani a spol. /1997/ Poitiers, FRA /n=81/
hematúria	31 %	58 %	24 %	17 %
hemospermia	15 %	29 %	45 %	-
proktorágia	21 %	37 %	2 %	12 %
dyzúria	18 %	7 %	-	-
febrilie	6 %	4 %	4 %	-
akútna retencia	-	-	-	-
akútna epididymitída	-	1 %	-	-
obštipácia	-	10 %	-	-
hnačka	-	4 %	-	-

Tabuľka č. 2: Trvanie hemoragických komplikácií po biopsii prostaty.

	počet dní							
	1	2	3	4	5	6	7	8 a viac
hematúria /n=67/	15	20	14	6	5	3	2	2
proktorágia /n=45/	15	13	7	4	1	-	2	3

Tabuľka č. 3: Subjektívne hodnotenia vyšetřenia.

Bolesti	Javorka a spol. /2000/ Martin /n=200/	Collins a spol. /1993/ Glasgow /n=89/	Aus a spol. /1993/ /n=343/	Clements a spol. /1993/ /n=220/
výrazné	14 %	22 %	8 %	30 %
mierne	53 %	68 %	50 %	70 %
žiadne	33 %	10 %	42 %	0 %

ratúry v tab.1. Subklinická prechodná bakterémia (Subclinical transient bacteraemia – STB) sa vyskytuje po mnohých urologických intervenciách (11). STB bola popisovaná u 73-100 % pacientov, ktorým bola urobená transrektálna biopsia prostaty (12). Klinické príznaky septického stavu sa vyskytujú zriedkavejšie u mužov, ktorým boli profylakticky podané antibiotiká (0,8-17 %) (4,5,6). V našej štúdií 6 % vyšetovaných malo febrilitu po biopsii, napriek podanej profylaktickej dávke ATB. 5,5 % navštívilo obvodného lekára pre rôzne ťažkosti v spojitosti s vyšetrením. 3,5 % vyšetrených bolo hospitalizovaných pre febrilný stav s pozitívnym kultivačným dôkazom infektu močových ciest (najčastejšie E.colli) a boli liečení parenterálnym podávaním ATB, s priemernou dobou hospitalizácie 10 dní. Riziko sepsy je pri invazívnom vyšetrení signifikantné, avšak našťastie pomerne zriedkavé (3). Vzhľadom k týmto záverom jednoznačne doporučujeme podávanie profylaktickej dávky ATB.

Hemoragické komplikácie (hematúria, hemospermia, proktorágia) sú najčastejšími komplikáciami po transrektálnej punkčnej biopsii (viď tab.1). Hematúria sa vyskytla v 17,0 - 32,0 %, krvácanie z konečníka - proktorágia v 2,0 - 21,0 %, hemospermia v 13,0 - 45,0 %. Dobu krvácania sprehľadňuje tab.2. Krvácanie ustúpilo vo väčšine prípadov do 7 dní, ani jeden prípad nevyžadoval operačnú revíziu. Výraznejšie krvácanie bolo zvládnuté konzervatívne podávaním hemostyptík. Medzi zriedkavejšie a menej často udávané komplikácie patrí akútny zápal nadsemeníka, zápcha, hnačka, akútna retencia moča, v našom súbore pacientov sa nevyskytli.

Táto práca sa zamerala aj na subjektívne hodnotenie vyšetrenia. 34,5% vyšetovaných odmieta znova biopsiu prostaty

napriek riziku malígneho ochorenia. 12,5 % je ochotných podstúpiť opakované vyšetrenie len v nutnom prípade. Bolesťivosť vyšetrenia uvádzame v tab.3 i v porovnaní s inými autorami. Autori Collins a spol., 1993, Clements a spol., 1993 udávajú bolesť výraznú v 22,0 a 30,0 %, mierne v 68,0 a 70,0 %, zatiaľ čo naša štúdia sa skôr približuje štúdií Ausa a spol., 1993 (1,2,3). Optimistickejšie hodnotenie zo strany vyšetovaných súvisí pravdepodobne s dlhšou dobou uplynutou od výkonu po zaslanie dotazníka (obe štúdie sú retrospektívne). Na zmiernenie bolesti pri TRUS a biopsii prostaty niektorí autori doporučujú čapíky lidokainu na lokálne znecitlivenie, v niektorých vybraných prípadoch sa pridáva aj analgosedácia (8).

Záver

Transrektálna punkčná biopsia prostaty pod ultrazvukovou kontrolou je presná a spoľahlivá metóda na získanie vzorky tkaniva potrebného na diagnostiku karcinómu prostaty. V súčasnosti je považovaná za štandardnú techniku odberu vzorky z prostaty, akceptovanú väčšinou urologických pracovísk. Je uprednostňovaná pred transperineálnou biopsiou prostaty pre výhody detailnejšieho hodnotenia ultraštruktúry prostaty aj možnosti presnej cieľenej biopsie. Napriek možným vážnym komplikáciám, ktoré sú podľa našej štúdie v súlade s literárnymi údajmi pomerne zriedkavé, biopsie sú spojené so signifikantnou morbiditou a intolerabilitou zo strany vyšetovaných. Menej závažné komplikácie sú časté. Transrektálna punkčná biopsia prostaty je najpresnejšia metóda na odber biopptickej vzorky z lézie zistenej pri DRV, alebo pri zmene echoštruktúry pri TRUS prostaty.

Literatúra

1. Aus, G., Hermansson, C.G., Hugosson J., Pedersen, K.V.: Transrectal ultrasound examination of prostate: complications and acceptance by patients. *Br.J.Urol.*, 1993, 71: s.457-459
2. Clements, R., Aideyan, O.U., Griffiths, G.J., Peeling, W.B.: Side effects and patient acceptability of transrectal biopsy of the prostate. *Clin.Radiol.*, 1993, 47: s.125-126
3. Collins, G.N., Lloyd, S.N., Hehir, M., McKelvie, G.B.: Multiple transrectal ultrasound-guided prostatic biopsies: True morbidity and patient acceptance. *Br.J.Urol.*, 1993, 71: s.460-463
4. Cooner, W.H., Mosley, B. R., Rutherford, B.L.: Clinical application of transrectal ultrasonography and prostate specific antigen in the search for prostate cancer. *J. Urol.*, 1988, 139: s.758-761
5. Coplen, D.E., Andriole, G.L., Yuan, J.J.J.: The ability of systematic transrectal ultrasound guided biopsy to detect prostate cancer in men with the clinical diagnosis of benign prostatic hyperplasia. *J. Urol.*, 1991, 146: s.75-77
6. Hodge, K.K., McNeal, J.E., Stamey, T.A.: Ultrasound guided transrectal core biopsies of the palpably abnormal prostate. *J. Urol.*, 1989, 142: s. 66-70
7. Horňák, M.: Včasná diagnostika karcinómu prostaty: rola praktického lekára. *Slov. lekár*, 1996, 4/96: s.7-10
8. Irani, J., Fournier, F., Bon, D., Gremmo, E., Doré, B., Aubert, J.: Patient tolerance of transrectal ultrasound-guided biopsy of the prostate. *Br.J.Urol.*, 1997, 79: s.608-610
9. Kirkels, W.J., Rietbergen, J.B.W., Boeken Kruger, A., E., Kranse, R., Schroder, F.H., Rotterdam, the Netherlands: Complication rates and risk factors of ultrasound-guided transrectal core biopsies of the prostate in a population based screening program. *J.Urol.*, 13.april 1997
10. Horňák, M.: Klinická diagnostika karcinómu prostaty. In: Kliment, J., Horňák, M. a kol.: Karcinóm prostaty, Vydavateľstvo Osveta, 1999, str. 64-67.
11. Sullivan, N.M., Sutter, V.L., Carter, W.T.: Bacteraemia after genitourinary tract manipulation: bacterial aspects and evaluation of various blood culture systems. *Appl. Microbiol.*, 1972, 23: s.1101-1106
12. Thompson, P.M., Talbot, R.W., Packham: Transrectal biopsy of the prostate and bacteraemia. *Br.J.Surg.*, 1980, 67: s.127-128
13. Thompson, P.M., Pryor, J.P., Williams, J.P.: The problem of infection after prostatic biopsy: the case for the transperineal approach. *Br. J. Urol.*, 1982, 54: s.736-740

NEURONOVÉ SÍTĚ A JEJICH VYUŽITÍ V ONKOLOGII NEURAL NETWORKS

REGNER B.

CENTRUM INFORMATIKY A ANALÝZ, UNIVERZITNÍ ONKOLOGICKÉ CENTRUM BRNO

Souhrn: Neuronové sítě jsou technika doplňující řadu klasických statistických metod, jako jsou regrese, logistická regrese, diskriminační a shluková analýza. Nejčastěji jsou využívány pro klasifikaci (kategorizaci), tedy zařazování vstupujících objektů do některé z předem daných skupin. V posledních několika letech se začínají úspěšně prosazovat i v onkologickém výzkumu, zejména rakoviny prsu.

Abstract: Neural networks can be used in addition or instead of traditional statistical methods, like regression, logistic regression, and cluster and discriminant analysis. They are most widely used for classification problems. In the past few years they have been increasingly used in oncology research, in particular the research of breast cancer.

Úvod

Lékaři dnes a denně stojí před problémem klasifikace. Rozhodnutí, zda pacient je či není zdravý, kterou z několika podobných chorob trpí nebo jaká léčba bude nejučinnější tvoří významnou součást práce lékaře a nalezení správné odpovědi může významně zlepšit kvalitu života pacienta nebo jeho život prodloužit. Toto rozhodování lékař obvykle provádí subjektivně, na základě svých zkušeností a intuice. Problémem zde je rozdílná zkušenost lékařů a možnost chybného rozhodnutí i u velmi zkušeného lékaře. Sice existují nástroje umožňující jednoznačné řešení některých situací, ale většinou je rozhodnutí zcela na lékaři, a nezdá se, že by tomu mělo být v nejbližší době jinak. Proto se vyvíjejí nástroje, které ačkoliv nemohou z lékaře sejmout zodpovědnost konečného verdiktu, mohou mu v jeho úloze pomoci.

Mezi tradiční nástroje využívané patří například TNM systém a mezi lékařskou veřejností méně známé statistické metody jako logistická regrese, Coxova regrese nebo diskriminační analýza. V posledních letech se spolu s rozšiřováním počítačů prosazují tzv. neuronové sítě. Jedná se o matematický koncept mající řadu příjemných vlastností, díky kterým jsou neuronové sítě v současnosti využívány i při výzkumu v oblasti onkologie.

Tento článek si klade za cíl seznámit lékaře se základními principy neuronových sítí, aby získali alespoň základní představu možnostech, které tento nástroj poskytuje.

Obecné informace

Původní typy neuronových sítí (Artificial Neural Networks, ANN nebo NN) vznikly ve čtyřicátých letech dvacátého století jako formální matematický model simulující chování biologických neuronových systémů. Od této doby se teorie NN výrazně rozvinula a řada typů NN v dnešní době má od biologických nervových soustav velmi daleko, a NN jsou chápány jako jedna z tříd paralelních algoritmů. Z počátku svého vývoje si však ponechaly název i terminologii. Pro NN jsou charakteristické tyto vlastnosti:

1. Zpracování číselné informace probíhá v jednoduchých elementech sítě označovaných jako neurony
2. Informace se přenáší mezi neurony po spojích
3. Každý spoj má přiřazeno číslo označované jako váha, kterým se násobí hodnota přenášená po tomto spoji
4. V každém neuronu je na součet hodnot vstupujících do tohoto neuronu aplikována (obvykle nelineární) aktivační funkce, jejíž hodnota se pak stane výstupem neuronu

Sít je charakterizována rozložením neuronů a spojů (architekturou sítě), metodou stanovení vah (analýzou problému nebo častěji učení) a aktivačními funkcemi neuronů.

Důležitým rysem většiny typů NN je schopnost učení, tedy zlepšování výkonnosti (měřené vhodným způsobem) při řešení určité třídy problémů na základě zkušenosti (příkladů).

Učení je proces, při kterém jsou sítí předkládány problémy (například různé kombinace parametrů) spolu se správným řešením. Vhodným

algoritmem jsou nastaveny váhy spojů tak, aby sít byla schopna řešit nejen problémy, se kterými se již setkala, ale i situace neznámé (pokud takové soustavy vah je možné dosáhnout) – schopnost generalizace.

Některá možná použití NN:

- a) Klasifikace vzorů – sít má za úkol vstup reprezentovaný soustavou parametrů zařadit do správné třídy. Učení probíhá předkládáním vstupů spolu se správnou klasifikací. Výkonnost sítě se zde hodnotí podílem správně klasifikovaných vstupů. Odpovídá diskriminační analýze, případně logistické regresi ve statistice. Toto je nejčastější způsob využití NN.
- b) Regrese (lineární či nelineární) – cílem je predikce hodnoty závislého parametru jako funkce několika parametrů vysvětlujících. Měřítkem správnosti je střední čtvercová chyba předpovědi.
- h) Shlukování – zde je cílem ne zařazení vstupů do předem známých kategorií, ale tvorba kategorií na základě podobnosti/rozdílnosti vstupů. Odpovídá shlukové analýze v klasické statistice. Kvalita kategorií se hodnotí podílem variability uvnitř kategorií a mezi kategoriemi.

V případech a) a b) mluvíme o učení s učitelem, v případě c) o učení bez učitele a samoorganizujících sítích.

Jak je vidět, neuronové sítě se zabývají problémy, které se dají řešit i jinými způsoby. Oproti statistickým metodám mají některé výhody. NN jsou robustní, to znamená, že nejsou citlivé k chybám a odlehkým hodnotám v datech (pokud jich není příliš mnoho) a nepředpokládají žádné konkrétní rozložení parametrů. V případě klasifikace a shlukování jsou NN vyhledávat v oblastech libovolného tvaru. Pro regresi není nutné předem stanovovat typ funkce, pro kterou se mají hledat správné hodnoty parametrů. Naopak dostatečně komplexní sít je schopna aproximovat libovolnou rozumnou funkci. Dále je snadné NN (alespoň jejich jednodušší varianty) implementovat programově a poskytovat jako nástroj pro rutinní práci.

Neuronové sítě mají i své nevýhody. Nejpodstatnější je asi nemožnost (nebo alespoň komplikovanost) věcné interpretace vah v síti. Není možné stanovit relativní význam jednotlivých parametrů pro predikci a podobně. Kvalitu sítě je nutné posuzovat na základě správnosti predikce na neznámých datech, nikoli analýzou a věcnou interpretací funkce jednotlivých prvků sítě.

Některé komplikovanější sítě využívají techniky, s jejichž pomocí lze toto omezení obejít.

Druhým problémem je neexistence algoritmu pro jednoznačné stanovení optimální architektury sítě. Je třeba vytvořit různé typy a architektury a z nich vybrat tu, která dává na základě zvolených kritérií nejlepší výsledky.

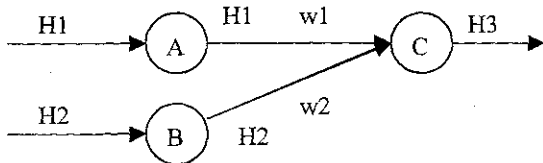
Struktura neuronové sítě

Neuronových sítí existuje celá řada typů majících uplatnění při řešení různých tříd problémů. Zde si všimneme základního a přitom široce užívaného typu, označovaného jako „feed-forward nets“. Tyto sítě fungují jako „black box“ mající několik vstupních bodů a několik bodů výstupních, přičemž vstupní hodnoty jsou transformované na hodnoty výstupní.

Základním prvkem každé neuronové sítě je buňka-jednotka-„neuron“ simulující chování biologického neuronu. Má několik vstupních spojů, které zajišťují přísun informací (~dendrity), „tělo“, ve kterém probíhá transformace vstupních hodnot na hodnotu výstupní, a několik výstupních spojů (~neuritů), kterými se výstupní hodnota předává dalším jednotkám. Každý spoj má přiřazeno číslo (váhu), kterým se hodnota přicházející od předchozího neuronu násobí před jejím předáním následujícímu neuronu. Transformace je reprezentována aplikací nějaké funkce (označované jako aktivační funkce, nejčastěji se jedná o sigmoidu) na součet všech hodnot dodaných dendrity.

Následuje příklad velmi jednoduché neuronové sítě. Neurony A a B reprezentují receptory. Slouží k zadávání údajů do neuronové sítě a označují se jako vstupní neurony. Do nich v našem příkladě přicházejí signály o intenzitě H1 a H2. Ve vstupních neuronech neprobíhají žádné výpočty, proto jsou dále předány vstupní hodnoty. Tyto jsou vynásobeny vahami w1 jednotlivých spojů a vstupují do neuronů druhé vrstvy. Vstup neuronů druhé vrstvy je dán jako součet hod-

not na všech vstupujících spojích. Tedy vstup neuronu $C=H1*w1+H2*w2$. Na tuto hodnotu je aplikována aktivační funkce f , a vypočtená aktivace předána dále, tedy $H3=f(H1*w1+H2*w2)$. V případě, že za C již nenásleduje další neuron, označuje se C jako výstupní neuron, a $H3$ je výstupní hodnota sítě při vstupu $H1$ a $H2$. Neuronů ve vstupní i výstupní vrstvě může být libovolný počet, a obvykle je každý neuron vstupní vrstvy propojen s každým neuronem vrstvy výstupní. Váha každého spoje je obecně jiná.



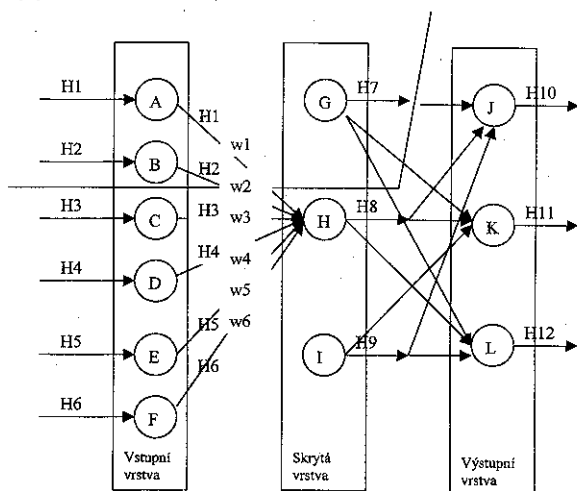
Například A může znamenat tělesnou teplotu ($H1=36,5-42$), B bolest v krku ($H2=0$ (bez bolesti), 1, 2, 3 (silná bolest)). Síť má rozhodnout, zda pacient s nějakou kombinací příznaků má angínu ($H3=1$) nebo ne ($H3=0$). Jako trénovací soubor se použije sada pacientů, u kterých jsou vstupní parametry i diagnóza známy. Dojde k nastavení vah $w1$ a $w2$. Síť pak může klasifikovat nové případy takto:

$H1=36,7$, $H2=3$, pak $H3=0$ (bez anginy) (v trénovací množině taková kombinace parametrů znamenala kost v krku)
 $H1=41,5$, $H2=0$, pak $H3=0$ (spíše se jedná o chřipku)
 $H1=41,5$, $H2=2$, pak $H3=1$

Takovéto rozhodování samozřejmě může provádět (a provádí) každý lékař. V případě většího množství vstupních parametrů však pro člověka může být velmi obtížné až nemožné sledovat závislosti v datech a posléze je aplikovat v praxi. Neuronové sítě se pak mohou stát nástrojem pro odhalení a využití těchto závislostí.

Druhým příkladem je síť komplikovanější. Je zde šest vstupních neuronů, které předávají do nich přicházející informace beze změny dále, a to do všech neuronů v druhé vrstvě. V diagramu jsou záznamně pouze spoje mezi vstupní vrstvou a neuronem H druhé vrstvy. Vstupem neuronu druhé vrstvy je součet výstupů vstupní vrstvy vynásobených vahami jednotlivých spojů, tedy například vstupem neuronu H je $H1*w1+H2*w2+...+H6*w6$. V neuronech druhé vrstvy proběhne transformace pomocí aktivačních funkcí fg , fh , fi , výstupem neuronu H je tedy $H8=fh(H1*w1+H2*w2+...+H6*w6)$. Stejným způsobem se předává informace do výstupní vrstvy.

Druhá vrstva nevyžaduje vstup dat zvnějšku ani data mimo síť neposkytuje, je tedy pro uživatele transparentní a označuje se jako skrytá. Skrytých vrstev za sebou může následovat několik.



Jak je vidět, neuronové sítě transformují n vstupních hodnot na m hodnot výstupních. Závislost výstupu na vstupu je určena soustavou vah a volbou aktivačních funkcí. Cílem při návrhu neuronové sítě je najít takové váhy a funkce, které zajistí, že na výstupu sítě bude něco pro nás zajímavého. Jako aktivační funkce se obvykle používají funkce sigmoidního tvaru, nejčastěji logistická křivka. Problém se tak redukuje na nalezení vah.

Existuje řada algoritmů, které na základě trénovací množiny iterativně nastaví váhy neuronové sítě tak, aby při předložení vstupu dala síť správný výstup.

Volba vhodného typu sítě, vhodné architektury a správného algoritmu významně ovlivňuje proces učení (rychlost učení a počet potřebných příkladů) i celkovou výkonnost sítě.

Jestliže je jednou vytvořena NN a učení nastaveny váhy spojů (což se provádí pomocí speciálního software), je možné vytvořit jednoduchý program realizující tuto síť. Do něj se pak pouze zadají vstupní hodnoty a program vypíše hodnotu výstupní. Tento program pak může být (například lékaři) rutinně využíván.

Příklady použití neuronových sítí

Neuronové sítě jsou technikou, která se během posledních několika let začíná v lékařském výzkumu i praxi výrazně prosazovat. Existují desítky prací využívajících jednoduché typy NN, kterých jsme se zde dotkli, stejně jako typy komplikovanější, dovolující obejít některé problémy sítí základních. Neuronových sítí se využívá pro řešení různých typů problémů, často s výrazně lepšími výsledky než při použití tradičních metod.

Můžeme například vytvořit síť, na jejíž vstup budou přicházet parametry EKG, a na výstupu budeme odečítat, zda toto EKG odpovídá arytmií nebo ne. Jako trénovací množinu použijeme soubor několika set záznamů EKG, u kterých bude konziliem lékařů stanoveno zda se jedná o arytmií nebo ne. Po proběhnutí učící procedury bude i málo zkušený lékař za použití této sítě schopen velmi spolehlivě stanovit přítomnost arytmiie.

Možná to vypadá jako utopie, ale popsany příklad je ze skutečnosti. Ukázalo se, že síť dokáže arytmií poznat lépe než 90 % lékařů.

Následující příklady ukazují různé způsoby využití neuronových sítí v predikci a diagnostice rakoviny prsu. Tato diagnóza byla vybrána, protože pro ni existuje nejvíce aplikací NN.

1. Využití NN pro selekci žen ohrožených rakovinou prsu na základě anamnézy a životního stylu

Ronco (1999) použil neuronové sítě pro selekci žen významně ohrožených rakovinou prsu na základě rodinné a osobní historie nádorových onemocnění, stravovacích návyků a gynekologických a socio-demografických charakteristik. Nejlepší postavená síť měla specifitu 97,6%, citlivost 94,04% (tedy rozeznala 94% žen nemocných žen, zatímco pouze 2,4% v té době zdravých žen označila jako ohrožené) což bylo výrazně lepší, než při použití logistické regrese (68,8%, resp. 77,46%). Tato síť, použitá v praxi, by podle autora mohla nahradit celoplošný screening cíleným sledováním ohrožených žen při výrazně nižších nákladech.

Bylo by vhodné podobnou analýzu provést i v České republice, spolu s návazností na cost-benefit analýzu samotného screeningu, resp. sledování pouze vybraných, více ohrožených žen.

2. NN pro predikci přežití

Burke et al. (1997) využil neuronové sítě k predikci pětiletého přežití u nemocných rakovinou prsu a výsledky srovnal s TNM systémem. Neuronové sítě se ukázaly jako silnější nástroj u několika skupin vstupních dat, a to jak v případě využití pouze parametrů uvažovaných TNM systémem, tak v případě začlenění dodatečných parametrů do modelu sítě.

Takováto síť může být využita pro selekci pacientek s horší prognózou s možností použití agresivnější nebo dražší léčby specificky u těchto pacientek.

Neuronové sítě byly dále s dobrými výsledky použity pro rozlišení mammogramů odpovídajících zdravé tkáni/benignímu/malignímu nálezů nebo pro detekci rakoviny prsu na základě kombinace anamnézy, klinického vyšetření a mammografie.

Literatura:

Ronco, A.L., Use of artificial neural networks in modelling association of discriminant factors: towards an intelligent selective breast cancer screening, Artificial Intelligence in Medicine 16 (1999) 299-309
 Burke, H.B., Goodman, P. H., Rosen, D.B., Henson, D.E., Weinstein, J.N., Harrell, F.E. (Jr.), Marks, J.R., Winchester, D.P., Bostwick, D.G., Artificial Neural Networks Improve the Accuracy of Cancer Survival Prediction, American Cancer Society, Cancer Feb 15, 1997, Vol. 79, Nr. 4, 857-862
 Bishop, Ch. M., Neural Networks for Pattern Recognition, Oxford University Press, 1995

XXX SETKÁNÍ WHO MELANOMA GROUP 26. 5. 2000, SZEGED

XXX W.H.O. MELANOMA GROUP REVIEW MEETING, SZEGED, 2000 MAY, 26

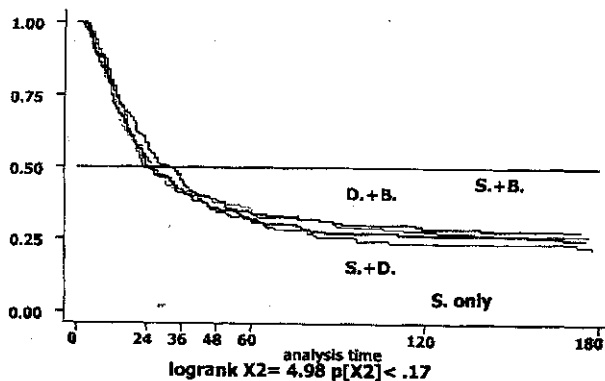
FAIT, V., VAGUNDA, V.

Zasedání se konalo v Maďarském Szegedu, kde se mělo setkání konat již před rokem, ale bylo zmařeno probíhající válkou v Jugoslávii. Díky tomu se setkání konalo s roční přetřzkou.

Byly vyhodnoceny proběhlé studie:

Klinický trial č. 6, zabývající se zhodnocením chemoterapie, imunoterapie a chemoterapie s imunoterapií jako adjuvance. Jako chemoterapie byl použit DTIC, jako imunoterapie BCG. Celkový výsledek studie jasně dokresluje následující graf:

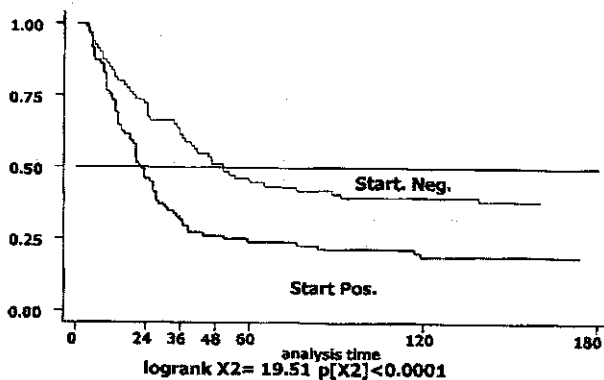
Figure 1
T6. Overall Survival of 721 Melanoma pts according to treatment



Surg. Only 165 pts Surg. + DTIC 185 pts
Surg. + BCG 181 pts Surg. + DTIC & BCG 190 pts

Zajímavým, ač neplánovaným výsledkem byl signifikantní rozdíl v přežívání pacientů léčených imunoterapií a imunoterapií s DTIC v závislosti na vstupním kožním BCG testu, výsledek byl výraznější bez přidání chemoterapie. Statisticky významný rozdíl zde byl potvrzen i multivariací analýzou. Studovaný soubor nicméně neměl postrádat jednotné podrobné vyšetření lymfatických uzlin.

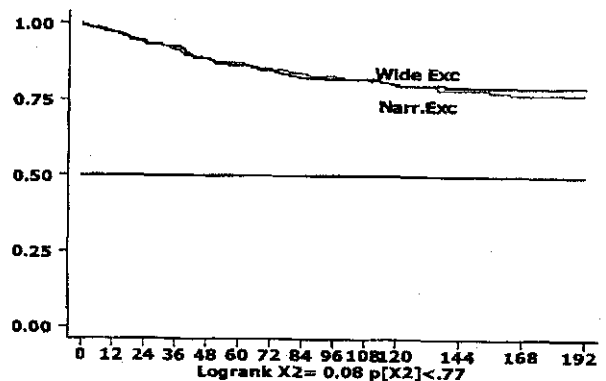
Figure 23
T6. Overall Survival of 181 pts treated with BCG according to reaction to BCG skin te



Starting Neg. 83 pts Starting Pos. 98 pts

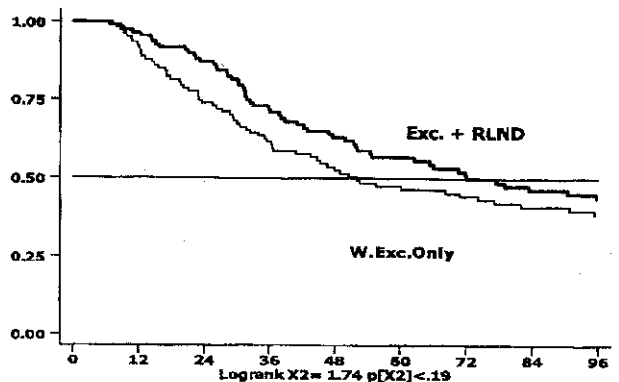
Klinický trial č. 10, hodnotil optimální šířku excise melanomu při primu nad 2mm tloušťky. Po excisi s lemem 1 cm byli pacienti randomizováni ke sledování nebo široké reexcisi s dalším sledováním. Výsledky ukazují, že při kompletní excisi není větší šířka okolní zdravé tkáně rozhodující. V diskusi byla zdůrazněna potřeba odlišit lokální a vzdálené recurence a sekundární primární melanomy od epidermálních metastáz (histopatologicky).

Figure 1
T10. Disease Free of 595 eval. pts according to treatment



Klinický trial č. 14, hodnotil vhodnost elektivní disekce u melanomu s vysokým rizikem (>1,5mm) u trupového melanomu při klinicky nehmattých uzlinách. Rozdíl oproti kontrolní skupině bez disekce nebyl statisticky významný. Při ERLND benefitovali jen pacienti s okultními metastázami – soubor byl nicméně malý pro průkaz statisticky významného rozdílu. Mohlo se také stát, že v některých případech nebyla správně lokalizovaná lymfatická drenáž.

Figure 1

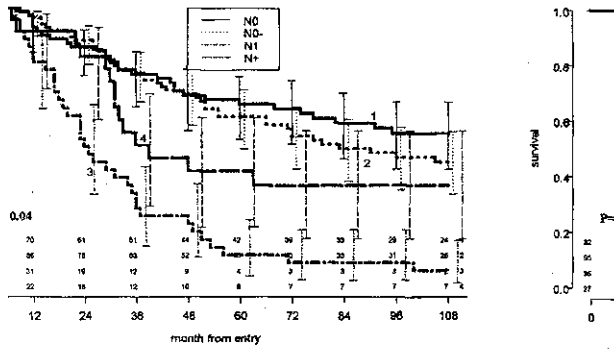


Wide Exc. 118 pts Exc. + RLND 122 pts

Při podrobném rozdělení dle histologického nálezu v uzlinách a dalšího průběhu měli nejlepší přežití pacienti s nehmattými uzlinami, kteří neměli disekci a nikdy se u nich neobjevil regionální relaps (N0), následovali pacienti s disekcí ale negativními uzlinami (N0-), poté pacienti s disekcí a nálezem metastázy. Nejhorší průběh měli pacienti s odloženou disekcí při nálezem pozitivních uzlin. Mezi pacienty N0- byly zřejmě případy s okultními metastázami při nedostatečném uzlinovém samplingu. Pacienti nyní mohou z včasné disekce výrazně profitovat při použití sentinelové techniky s podrobným histopatologickým vyšetřením uzlin včetně imunohistochemie. Sentinelová technika, dnes široce používaná, fakticky odstranila problematiku elektivní versus selektivní terapeutické disekce uzlin.

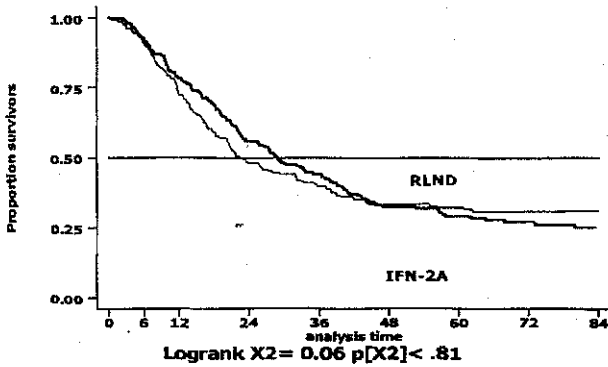
Pacienti ze skupiny s odloženou disekcí se nyní při časně disekci metastáz mohou dostat do prognosticky lepší skupiny. Limitace je nicméně daná faktem, že cca 50% pacientů s pozitivními uzlinami má zároveň hematogenní šíření. Byla navržena detailní histopatologická studie uzlin k detekci migrace maligních melanomových buněk.

14. Overall survival according to status of regional nodes



Klinický trial č. 16 hodnotil adjuvantní podání rIFNa - 2A u maligního melanomu s regionálními metastázami po radikálním chirurgickém odstranění. Studie nenalezla prognostický rozdíl a hodnotí adjuvantní podání IFN jako neindikované:

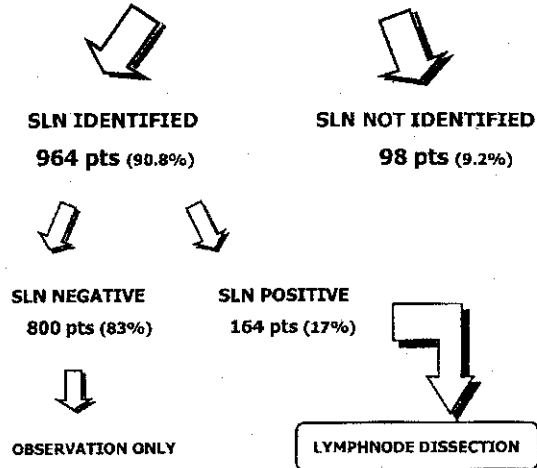
T16. Overall Survival of 426 evaluable pts according to treatment



IFN 218 pts

RLND 208 pts

Studie peroperačního lymfatického mapování byla zatím hodnocena jen předběžně, zatím ji lze hodnotit jako velmi přesnou metodu včasné detekce lymfatických metastáz, která včasnou indikací disekce zlepšuje vyhlídky pacientů s okultními metastázami v regionálních uzlinách.



Patologický panel expertů předložil předběžnou verzi brožury o histopatologické diagnostice melanomu, jejímž cílem je především standardizace histopatologické diagnostiky a prognostických faktorů. Z prognostických modelů je doporučen model dle Clarka Jr., v MOÚ již řadu let používaný. Dále byly navrženy studie v problematice parciální regrese, morfolgie sentinelových uzlin, lokálních rekurencí a vulvárních névů a melanomů.

Stagingový výbor AJCC předložil návrh revidované TNM klasifikace maligního melanomu. V návrhu v kategorii T se zavádí jako prognosticky významné hranice tloušťky (Breslow) 1–2–4 mm. Vypouští se hodnocení stupně invaze dle Clarka a navrhuje se začlenění ulcerace jako upstaging faktoru. V N kategorii se zavádí staging dle počtu pozitivních uzlin v hranicích 1, 2-4, 5 a více. Metastázy in transit a satelity se slučují do kategorie N3. M1 jsou distantní metastázy v kůži či uzlinách, M2 v plicích, M3 ostatní lokalizace nebo jakákoliv lokalizace se zvýšenou sérovou hladinou LDH.

V dalším jednání byl vzhledem k negativním výsledkům trialu č. 16 zamítnut štedře dotovaný projekt nového adjuvantního trialu s interferonem.

Bylo informováno o připravovaném mezinárodním sjezdu o melanomu v Benátkách 28. 2.–3. 2001 a stanoveno místo příští schůzky tamtéž.

DVĚ VÝZNAMNÁ ŽIVOTNÍ JUBILEA

Uprostřed roku, kterým končí století, v němž vznikla česká onkologie se dožívají v plné pracovní a pozoruhodné společenské aktivitě shodného, a pro všechny známé zcela neuvěřitelného, životního jubilea dva stále mladí, ale zkušenostmi a vážností mimořádně významní členové České onkologické společnosti ČLS JEP. Dva blízcí přátelé, bez kterých si naši současnou onkologii neumíme představit. Biolog a molekulární onkolog prof. MUDr. Vladimír Vonka, DrSc. - nositel toho nejlepšího co v české teoretické onkologii máme a prof. MUDr. Josef Koutecký, DrSc. - zakladatel české dětské onkologie a náš dlouholetý předseda. Co zbývalo redakci Klinické onkologie, u těchto významných osobností, před kterými většina z nás stojí v němém obdivu, jiného, než požádat oba slavence, kteří mají tolik společného, o vzájemné přátelské laudace, které nyní rádi čtenářům předkládáme. Mnoho roků, pevně zdraví!

Klinická onkologie- Aleš Rejthar

K sedmdesátinám prof. MUDr. Josefa Kouteckého, Dr.Sc.



Josef Koutecký se narodil v Praze dne 31. 8. 1930. Po maturitě na Akademickém gymnasiu, které v minulosti dalo české kultuře tolik vynikajících osobností, zahájil v roce 1949 svá studia na lékařské fakultě Karlovy university. Rozhodnutí věnovat se medicíně vyplynulo z jeho přesvědčení, že právě ona mu umožní spojit přírodní vědy, jejichž kouzlu propadl, s humanitními ideály, které vyznával a hodlal uplatňovat ve svém životě. Lásky k dětem ho přivedla v průběhu studií na nově

zřízenou pediatričskou fakultu, kterou ukončil v roce 1955. Jeho lékařská dráha započala jako u drtivé většiny jeho spolužáků: umístěnkou byl přidělen do severočeského pohraničí. Svou postpromoční praxi zahájil v Janských Lázních, kde pracoval jako pediatr. I když nikterak nepodceňoval význam této činnosti, jeho touha věnovat se dětské chirurgii, v níž spatřoval své poslání, ho již po dvou letech přivedla na chirurgickou kliniku Fakulty dětského lékařství, kde se stal zákem prof. Kafky. Tam se opakovaně setkával s dětmi trpícími zhoubnými nádory. Vroucně prožíval jejich utrpení i žaly jejich rodičů a zneklidňovala ho malá účinnost tehdejších léčebných postupů. Brzy si uvědomil, jak by bylo výhodné soustředit malé pacienty tak, aby se jim mohlo dostat specializované léčby, která by respektovala zvláštní rysy pediatričských onkologických onemocnění. Již v 60. letech se mu podařilo vytvořit stanici, na které byly nemocné děti netoliko léčeny ale i dlouhodobě sledovány. Když nadějnou dráhu mladého chirurga neočekávaně přerušila nemoc, počal se věnovat dětem se zhoubnými nádory naplno. Stal se tak zakladatelem u nás nového lékařského oboru, který se dnes označuje jako dětská onkologie. Oddělení (později Klinika) dětské onkologie, které vybudoval, nebylo pracovištěm ledajakým. V průběhu desíti let je Koutecký dostal na úroveň srovnatelnou se světovou špičkou. Vedle jeho suverénní znalosti problematiky, hlubokého zaujetí, otevřenosti ke všem novým poznatkům medicínského výzkumu a schopnosti je kriticky vyhodnotit a rychle uplatnit v diagnostice i terapii, nemalou roli sehrálo i jeho umění vybrat si vysoce kvalitní spolupracovníky a nadchnout je pro práci, která tehdy u převážné většiny lékařů vzbuzovala spíše pocity bolestné mamosti. Již na konci 70. let patřil k našim předním klinickým onkologům a výsledky jeho práce začaly rychle pronikat do povědomí mezinárodní lékařské obce. Svě postavení v kontextu světové onkologie si klinika, kterou stále vede, udržuje dodnes. Výrazem uznání bylo i jeho pověření organizací a předsednictvím XXI. Světového kongresu dětské onkologie. Postupně vychoval řadu vynikajících žáků, kteří jsou zárukou toho, že se i v budoucnu česká dětská onkologie bude vyvíjet na vysoké úrovni.

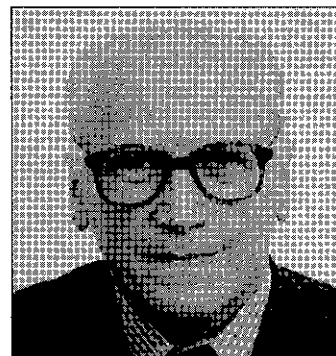
Po listopadové revoluci byl mezi prvními, kteří zformulovali jasný program k překonání zaostání, kterým naše university a lékařské vědy trpěly. Svými rozhodnými vystoupeními si získal sympatie a důvěru jak u široké veřejnosti tak i učitelského sboru a studentů a bylo přirozené, že byl zvolen revolučním děkanem 2. lékařské fakulty University Karlovy. Do této funkce byl vyslán akademickým senátem fakulty ještě třikrát, naposledy na konci minulého roku. Fakultu konsolidoval a modernizoval a vdechl jí ducha svobody, občanské i akademické. Při tom se mu podařilo vybudovat nové klinické oddělení dětské onkologie a nový pavilon určený teoretickým studiím v oblasti onkologie a molekulové a buněčné biologie.

Fakulta však nebyla a není jediným místem jeho působení. Výtečně zapracoval jako prorektor jím tak milované Karlovy university. V této funkci zorganizoval důstojné oslavy 650. výročí jejího založení. Je zakládajícím členem Učené společnosti České republiky a jejím současným předsedou. A je neúnavným organizátorem akcí, jejichž cílem je obnovení úcty k morálním hodnotám a občanským ctnostem v naší společnosti, které – jako by neávratně - vyprchávaly v dobách ne tak daleko minulých.

Oceňuji-li dnes dílo Josefa Kouteckého, nemohu opominout jeho chof Jitku, jejíž porozumění a neustávající podpora, jasný a pronikavý intelekt a vysoká osobní kultura sehrály důležitou roli v jeho životě.

Professor Josef Koutecký je mužem výjimečným. Je jednou z velkých postav české medicíny druhé poloviny 20. století a je učencem v pravém smyslu tohoto slova. Jeho bytost má však více rozměrů, které harmonicky souznívají. Je jedním z mála těch, jež mi život dovolil poznat, o kterých mohu říci, že úspěšně usilují o dosažení tří vrcholů lidského snažení, jakými jsou dobro, krásno a vědění. Patří mezi ty, kteří dokáží rozezvučet lidské mysle, vyhnět z nich duchovní prázdnotu a zbavovat je lhostejnosti, onoho nejhoršího atributu postmoderní doby. A to vše koná ve věku, kdy převážná většina jeho vrstevníků je už dávno na odpočinku. Josef Koutecký je oddaným cítelem antiky. Zakončím proto svou laudaci výrokem proslulého římského řečníka, který pokládám za patřičný: „Pectus est enim, quod disertos facit, et vis mentis.“ V. Vonka

Profesoru Vladimíru Vonkovi v přátelství a s úctou



Vladimír Vonka se narodil ve znamení Lva - 31. července 1930. Já o měsíc později, přesně na den. To už vládla Panna. Zmiňuji to proto, že kdybych se s narozením opozdil, mohlo nás to připravit o setkání. Nevím jak Vládu, ale mne by to moc ochudilo.

Setkali jsme se v roce 1949. Oba nás tehdy přijali na pražskou lékařskou fakultu. Od té doby jsme se potkávali, prohodili pár slov a respektovali se. Ale trvalo to ještě pěkných pár let, než jsme se skutečně poznali. Poznání, které mám na

mysli, přichází jaksi samo, zřídka a je vzácné. Někdy tak vnímám tmou a její nejnitřnější poselství. Černá a houstecká až do pomyslného zhmotnění. Lidský vztah nabývá vroucnosti a zduchovní do báječného přátelství. Takové k Vláduci cítím.

Sledovat jeho přímočarou, intelektuálními a charakterovými vlastnostmi budovanou kariéru, je hodné pozornosti, obdivu a uznání. Jen první popromoční rok se letmo dotknul klinické medicíny v ústecké nemocnici (vnitřní a infekční nemoci). Pak ho zcela pohltila badatelská vášeň: odd. virových neuroinfekcí Ústavu epidemiologie a mikrobiologie v Praze (1956/57), Výzkumný ústav imunologický v Praze (1957/60), laboratoř pro výzkum poliomyelitidy tamtéž (1961/64), odd. virologie a epidemiologie Baylor College of Medicine Houston (1964/65 - výzkumný pracovník WHO), Výzkumný ústav imunologický v Praze (1965/71 - šéf odd. biologie virů) a v tomto období hostující profesura virologie opět v Houstonu (1968/69), ÚSOL v Praze (1971/91 - vedoucí lékař odd. experimentální virologie), odkud si „odskočil“ na mikrobiologické odd. Pennsylvánské státní univerzity v Hershey jako hostující vědecký pracovník (1983/84) a od roku 1991 dosud ÚHKT v Praze (vedoucí oddělení experimentální virologie). Oblastí hlubokého Vonkova zájmu o viry přibývalo, aniž by opustil pro-

blematiku už studovanou. Virové vakcíny (1957), genetika virů (1960), virová kancerogeneze (1965) a genová terapie (1995). Byl průkopníkem molekulové biologie u nás (označení molekulární nemá rád) a usiluje o stanovení podmínek genové terapie - zasvěceně a s vědomím všech problémů, které jí budou provázet. Výsledky své úžasné práce sděloval profesor Vonka průběžně vědecké obci (více než 250 publikací, sedm monografií a kapitol v monografiích). Počet vyřešených a vysoce oceněných výzkumných úkolů je úctyhodný (dvakrát cena ministra zdravotnictví ČR). Profesor Vonka je ovšem také nadšeným a s úctou přijímaným učitelem mediků a postgraduátů a tak se není co divit, že vědeckých i pedagogických hodností časem přibývalo: kandidatura věd (1963), doktorát věd (1981), profesura (1992 - kromě té hostující v USA). Prostor uvést všechna členství v četných společnostech, radách, komisích, ani výčet ocenění, která jubilant získal, nemám. Ale musím prohlásit, že součet všeho, co profesor Vonka docílil je fascinující. Patří nepochybně k nej přednějším vědcům - biologům.

Zájmy profesora Vonky samozřejmě přesahují obor virologie. Intenzívně se zabývá filozofií věd. Slyšel jsem jeho přednášku „K problému kauzality v medicíně“, kterou proslavil na zasedání Učené společnosti České republiky, jejímž je zakládajícím členem. Byla brilantní, právě tak jako jeho mluvené i tištěné úvahy o četných problémech genového inženýrství. Protože „historia est testis temporum, lux veritatis, vita memoriae,

magistra vitae, nuncia vetustatis“ (historie je svědectvím času, světlo pravdy, život paměti, učitelka života, zvěstovatelka dávných dob - Cicero), a profesor Vonka to bezvýhradně uznává, věnuje soustředěný zájem historii.

Vzácné chvíle oddechu, ať v Praze či v chalupě, tráví společně s věrnou životní partnerkou - paní MUDr. Jarmilou. Je mu po celý život oporou ve všem. V Praze také často s výtvarným uměním, které miluje. Rád sdílím Vládovo radostné nadšení, když mi světuje jaký obraz a za jakých okolností se mu podařilo získat.

Profesor Vonka disponuje kromě výsostného vědění velkou, ctnostnou a nádhernou duší. Nemám právě rád tak často používanou předponu nej-. Kdo z nás má právo soudit o někom nebo o něčem, že je „nej“? Ale u Vlady Vonky neváhám. Patří mezi těch nemnoho, kterým to „nej“ přísluší, protože on patří k nejvzdělanějším, nejlidnější a nejšhovívavějším, nejlidštějším a nejslušnějším. Jsem věčný osudu, že mi daroval jeho přátelství. Máme na sebe trestuhodně málo času a měli bychom ho najít - dokud je čas! A pokud ho najdeme, ani bychom nemuseli moc hovořit. Ono už pouhé vědomí vzájemně vnímaného ladění je nenahraditelným požehnáním.

Kdybych směl použít k charakteristice Vladimíra Vonky jenom jedno jediné slovo, ani na chvíli bych nezaváhal: Ušlechtilost. Ad multos annos, milý Vládo!
Tvůj Josef Koutecký

onkologické společnosti

Onkologická společnost České lékařské společnosti J. E. Purkyně

Předseda: Prof. MUDr. Pavel Klener, DrSc. Tel: (02) 297471
Vědecký sekretář: Doc. MUDr. Luboš Petruželka, CSc. Tel: (02) 294304

Výroční zpráva o činnosti České onkologické společnosti ČLS JEP za rok 1999.

V březnu 1999 byl zvolen nový výbor ČOS v tomto složení:

Předseda: Prof. MUDr. Pavel Klener, DrSc.
Místopředseda: Prof. MUDr. Jiří Vorlíček, CSc.
Vědecký sekretář: Doc. MUDr. Luboš Petruželka, CSc.
Pokladník: MUDr. Jan Fischer
Členové: MUDr. Josef Drbal
Prof. MUDr. Josef Koutecký, DrSc.
Doc. MUDr. Jan Žaloudík, CSc.

Revizní komise: MUDr. Alena Jeřínková
MUDr. Olga Přibyllová
MUDr. Vratislav Šmelhaus

Po ročním působení podává výbor tuto zprávu:

- Výbor provedl kontrolu evidence členů. Vzhledem k tomu, že v průběhu roku se oživil zájem o společnost. Bylo přijato 67 nových členů. Počet členů se zvýšil k 31.3.2000 na 443 členů. Byla provedena též inventura majetku a pokladník výboru prim Fischer provedl kontrolu účtů.
- Za prvořadý úkol považoval nový výbor zlepšení komunikace s členskou základnou. Již od března 1999 jsou zápisy ze schůzí pravidelně zveřejňovány v časopise „Klinická onkologie“. Za velmi významný počín lze považovat zřízení internetové stránky, na níž mohou členové společnosti najít informace o veškerých aktivitách společnosti, chystaných akcích, doškolovacích kurzech a podobně. Stránka byla připravena ve spolupráci a za podpory firmy AstraZeneca a se souhlasem předsednictva ČLS JEP máme v úmyslu zavést stránku pro zpětnou komunikaci a dotazy členů.
- Pod záštitou ČOS byly uspořádány tyto odborné akce:
 - 4. den profesora Vladimíra Staška, 1999/03/23, Praha
 - 23. brněnské onkologické dny, 1999/05/07-09, Brno
 - 3. ostravské dny podpůrné léčby v onkologii, 1999/04/09-10, Ostrava
 - 5. brněnský den paliativní medicíny, 1999/09/30, Brno
 - 6. jihočeské onkologické dny, 1999/10/14-17, Český Krumlov
- Výbor aktivoval žádost o členství ČOS v UICC. Po ročním jednání byla Česká onkologická společnost přijata za člena. Do ESO (European School of Oncology) byl zaslán návrh na kooptaci Doc. Žaloudíka do organizačního výboru. ČOS převzala garanci za členství ČR

- v EACR (European Association for Cancer Research). Councilerem za ČR v této organizaci byl na dobu dvou let zvolen prof. Klener.
- Byl kompletován a vydán návrh doporučených lékařských postupů v onkologické péči a rozeslán k připomínkování nejen všem členům společnosti, ale také ostatním odborným lékařským společnostem. V současné době je v přípravě definitivní verze, jejíž vydání se předpokládá do poloviny roku 2000. Tato konečná verze bude vystavena na internetových stránkách ČOS.
- Byla vypracována koncepce klinické onkologie, výbor se vyjadřoval k návrhům vyhlášek MZ ČR, členové výboru zasedají v NOR. Zástupcem ve vědecké radě MZ ČR za onkologii je prof. Vorlíček.
- Spolupráce s ČLK: výbor jmenoval svého zástupce do orgánů ČLK a ve spolupráci s ČLK připravil na rok 2000 4 doškolovací kurzy (viz.)
- Spolupráce s jinými subjekty: započalo se s mapováním všech odborných i laických společností, spolků a občanských sdružení, zabývajících se problematikou nádorových onemocnění (Liga proti rakovině, Arcus onkocentrum, Studio pro život, Česká společnost podpory zdraví, Prevence a pomoc ženám s rakovinou prsu a další) Bylo zahájeno jednání o fúzi Společnosti komplexní onkologické péče s.r.o. s ČOS ve snaze o integraci onkologických aktivit. Byla navázána spolupráce s konsorciem farmaceutických firem sdružených do „ONKOFORA“. Z této spolupráce vzešla informace pro veřejnost „Onkologické Minimum“ otištěná v Mladé frontě DNES. Byla uspořádána tisková konference o problémech onkologické prevence.
- Výbor ČOS udělil cenu společnosti za rok 1998 za práci Přibyllová O., Macháček J., Kohoutek M., Vodvářka P., Kyselá T., Tajblová J., Šuk J., Dorazilová V., Bauer J. Srovnání adjuvantní chemoterapie karcinomu prsu kombinací cyklofosamid, metotrexat, 5-fluorouracil (CMF) a AC (doxorubicin, cyklofosamid). První výsledky národní kooperativní studie.
- Na cenu předsednictva ČLS JEP výbor navrhl monografii Klener P., Vorlíček J. et al: Podpurná léčba. Předsednictvo ČLS návrh přijalo a monografie obdržela cenu předsednictva ČLS JEP za rok 1998.
- V průběhu roku 1999 byla vyhlášena soutěž o návrh na logo ČOS. V této době je již jeden z vybraných návrhů vystaven na s komentářem.
- Všem členům společnosti byl odeslán otevřený dopis s výzvou o popis takových případů, aby mohl být iniciován postih nelegálních postupů orgány ČLK. Ve snaze účinněji zasáhnout v potlačení non-lege artis postupů rozhodl se výbor soustředit konkrétní případy nemocných poškozených těmito postupy.
- Byla založena onko-chirurgická sekce ČOS.

Za ČOS ČLS JEP: Prof. MUDr. Pavel Klener, DrSc., předseda

Z výroční zprávy České onkologické společnosti ČLS JEP

Za prvotný úkol považoval nový výbor zlepšení komunikace s členskou základnou. Již od března 1999 jsou zápisy ze schůzí pravidelně zveřejňovány v časopise Klinická onkologie. Za velmi významný počín lze považovat zřízení internetové stránky <http://www.linkos.cz>, na níž mohou členové společnosti najít informace o všech aktivitách společnosti, chystaných akcích, doškolovacích kurzech a podobně. Se souhlasem předsednictva ČLS JEP máme v úmyslu zavést stránku pro zpětnou komunikaci a dotazy členů.

Pod záštitou ČOS byly uspořádány tyto odborné akce: 4. den profesora Vladimíra Staška, 3/1999, Praha; 23. brněnské onkologické dny, 5/1999, Brno; 3. ostravské dny podpůrné léčby v onkologii, 4/1999, Ostrava; 5. brněnský den paliativní medicíny, 9/1999, Brno; 6. jihočeské onkologické dny, 10/1999, Český Krumlov.

Po ročním jednání byla Česká onkologická společnost přijata za členu UICC. Do ESO (European School of Oncology) byl zaslán návrh na kooperaci doc. Žaloudíka do organizačního výboru. ČOS převzala garanci za členství ČR v EACR (European Association for Cancer Research). Counselorem za ČR v této organizaci byl na dobu dvou let zvolen předseda společnosti.

V uplynulém období byla vypracována koncepce klinické onkologie. Vydán byl rovněž návrh doporučených lékařských postupů v onkologické péči, který byl rozeslán k připomínkování členům ČOS a také ostatním odborným lékařským společnostem. V současné době je v přípravě definitivní verze, jejíž vydání se předpokládá do poloviny roku 2000. Bude vystavena na internetových stránkách ČOS.

Výbor se vyjadřoval k návrhům vyhlášek Ministerstva zdravotnictví ČR, členové výboru zasedají v NOR. Zástupcem ve vědecké radě MZ ČR za onkologii je prof. Vorlíček. Svého zástupce jmenoval výbor také do orgánů ČLK a ve spolupráci s ní připravil na rok 2000 čtyři doškolovací kurzy (viz www.linkos.cz).

Společnost začala mapovat odborné i laické společnosti, spolky a občanská sdružení, zabývající se problematikou nádorových onemocnění (Liga proti rakovině, Arcus onkocentrum, Studio pro život, Česká společnost podpory zdraví, Prevence a pomoc ženám s rakovinou prsu a další). Ve snaze o integraci onkologických aktivit bylo zahájeno jednání o fúzi Společnosti komplexní onkologické péče, spol. s r. o., s ČOS. Společnost rovněž navázala spolupráci s konsorciem farmaceutických firem sdružených do ONKOPORA. Výsledkem bylo Onkologické minimum, informace pro veřejnost, otištěná v Mladé frontě DNES. O problémech onkologické prevence informovala ČOS rovněž na tiskové konferenci.

Výbor ČOS udělil cenu společnosti za rok 1998 za práci Srovnání adjuvantní chemoterapie karcinomu prsu kombinací cyklofosfamidů, metotrexátu, 5-fluorouracilu (CMF) a AC (doxorubicin, cyklofosfamid) – První výsledky národní kooperativní studie (O. Přibyllová, J. Macháček, M. Kohoutek, P. Vodvářka, T. Kyseř, J. Tajblová, J. Šuk, V. Dorazilová a J. Bauer).

Na cenu předsednictva ČLS JEP za rok 1998 výbor navrhl monografii P. Klenera, J. Vorlíčka et al.: Podpůrná léčba. Předsednictvo ČLS JEP návrh přijalo.

Všichni členové společnosti obdrželi otevřený dopis s výzvou k popisu případů, které by vyžadovaly postih nelegálních postupů ze strany orgánů ČLK. Ve snaze účinněji zasáhnout v potlačení non-lege artis postupů rozhodl se výbor soustředit konkrétní případy poškozených pacientů.

V průběhu roku 1999 byla také vyhlášena soutěž o návrh na logo ČOS. V současné době je již jeden z vybraných návrhů vystaven s komentářem na internetové stránce ČOS. Na stejné adrese jsou přístupné mj. zpráva chirurgické a pediatrické sekce společnosti.

V průběhu roku 1999 se zájem o společnost oživil. Bylo přijato 67 nových členů a celkový počet se tak k 31. březnu 2000 zvýšil na 443 členů. V rámci ČOS byla založena onko-chirurgická sekce.

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

Výroční zpráva - Pediatricko-onkologická sekce České onkologické společnosti

Organizátorem a garantem úrovně onkologické péče je v České republice Pediatricko onkologická sekce České onkologické společnosti založená 9.7.1997, kdy se v Praze Motole uskutečnila její první, ustavující schůze z iniciativy výboru ČOS. Jejím předsedou byl zvolen profesor Koutecký a vědeckým sekretářem docent Kavan. V průběhu několika měsíců byl publikován koncept principů komplexní centralizované péče o děti se zhoubným nádorovým onemocněním.

Poskytovatelem pediatricko onkologické péče pro Čechy je vládním usnesením z roku 1986, podle dosud stále platné koncepce oboru klinické onkologie MZ ČR, Klinika dětské onkologie FN v Praze Motole. Pro region Morava rozhodnutím Ministerstva zdravotnictví ČR ze dne 15. 7. 1998, odsouhlaseným POS ČOS a výborem ČOS, Oddělení dětské onkologie FN Brno. Všichni pacienti mladší 18 let se zhoubným solidním nádoro-

vým onemocněním či lymfomem se zařazují do jednotné databáze POS ČOS a průběh léčby je skupinou monitorován. Pacienti jsou ošetřováni podle identických diagnostických a léčebných standardů vypracovaných a schválených POS ČOS. Standardy jsou dílem celé pediatricko onkologické skupiny, jejich projednávání bylo veřejné a otevřené, přijeti jednomyslně.

V průběhu roku 1999 proběhlo pět zasedání Pediatricko onkologické skupiny. Na zasedáních konaných v dubnu a květnu se členové POS ČOS a Slovenské skupiny dětské onkologie rozhodli dále zintenzivnit vzájemnou spolupráci a integrovat obě skupiny ve smyslu jednotných diagnostických, léčebných a klinicko výzkumných postupů. Bylo odsouhlaseno, že obě sekce se budou v šestiměsíčních intervalech scházet a pracovat ve skupinách dělených podle typů nádorového onemocnění (přehled pracovních skupin - viz příloha)

Plán činnosti na rok 2000:

- pracovní setkání POS ČOS a pracovníků zainteresovaných oborů v Brně - uskutečnilo se v únoru
- zasedání pracovní skupiny pro nádory CNS Mezinárodní společnosti pro dětskou onkologii (SIOP) - uskutečnilo se v březnu
- pracovní schůzka - nové protokoly a příprava programu na květnové zasedání CZ-SK POG
- pravidelné zasedání CZ-SK POG - místo setkání Praha (Klinika dětské onkologie FN Motol) - 12.-14. květen
- pravidelné zasedání CZ SK POG - místo setkání Brno - říjen
- prezentace výsledků v rámci Pediatrického kongresu Hradec Králové
- prezentace výsledků v rámci Jihočeských onkologických dnů Český Krumlov

Doc. MUDr. Petr Kavan

Výroční zpráva - Sekce chirurgické onkologie (Sechiron) České onkologické společnosti

Sekce chirurgické onkologie (Sechiron) České onkologické společnosti vznikla v září 1999 s cílem prezentovat zájmy a stanoviska onkologicky profilovaných specialistů chirurgických oborů v klinické onkologii, přispívat k rozvoji onkologie jako multidisciplinárního oboru a účinnějšímu boji proti zhoubným nádorům. Vznik sekce byl oznámen v časopise Klinická onkologie, na webových stránkách České onkologické společnosti a na **jednání 5. brněnského dne paliativní medicíny věnovaného roli chirurgické léčby v paliativní onkologii**. Do sekce se dosud přihlásilo přes 40 převážně všeobecných chirurgů, jejichž pracovním zaměřením je z velké nebo převážné části onkologická chirurgie. Záměrem je získat členy také mezi zástupci dalších chirurgických specializací jako jsou urologové, ortopedi, gynekologové, neurochirurgové, otorinolaryngologové, stomatochirurgové, plastičtí a dětská chirurgové. Zatím však Sechiron čeká také na znění nového zákona o postgraduálním vzdělávání lékařů, kde by se měl projevit návrh výboru České onkologické společnosti o **nadstavbových specializacích z onkologie právě pro jmenované specialisty řady chirurgických oborů**, vymezující jejich konziliární onkologickou kompetenci do oborů, které vykonávají. Jde o to, abychom pro členství v sekci mohli cíleně získávat **onkologické ordináře chirurgických oborů**, kteří dosud ustaveni nejsou, jejichž potřeba je však zřejmá, stejně jako prospěšnost této funkční specializace pro kvalifikovanou a propojenou péči o onkologicky nemocné napříč diagnózami. V podzimních měsících roku 1999 vyšla **dvě onkochirurgická monotematická čísla časopisu Onkologická péče 3/99 a 4/99** na téma Problémy po operacích zhoubných nádorů, kde byly zpracovány odborné pohledy specialistů celé řady chirurgických oborů a která prokázala možnost víceoborové publikační spolupráce na společně onkologicky orientované problematice. Sekce chirurgické onkologie je v kontaktu s vedením **World Federation of Surgical Oncology Societies (WFSOS)**, které je průběžně informováno o konstituování členské základny v České republice stejně jako o záměru připojit se k WFSOS jakmile se sekce rozšíří do více chirurgických oborů a bude mít volené vedení. Do řádných voleb je organizací sekce a přípravnými pracemi pověřen člen výboru České onkologické společnosti. V roce 2000 nebude sekce pořádat samostatné konferenci, její členové však byli vyzváni, aby se aktivně zúčastnili **Brněnských onkologických dnů** věnovaných problematice nádorů digestivního traktu a **Petrálského dne v Olomouci**, kde bude rovněž na programu problematika chirurgické onkologie. Příspěvkem Sekce chirurgické onkologie by mělo být také **zvýšení podílu prací s onkochirurgickou problematikou v časopise Klinická onkologie**, která v roce 1999 pokrývala pouze 8 % celoročního obsahu časopisu. Dynamika činnosti Sekce je nyní přímo závislá na přijetí nové koncepce lékařského vzdělávání a koncepce oboru onkologie s ustavováním onkologických ordinářů v chirurgických oborech.

Doc. MUDr. Jan Žaloudík, CSc.