

VYDÁVÁ
ČESKÁ LÉKAŘSKÁ
SPOLEČNOST J. E. PURKYNĚ
IČO 444359

V NAKLADATELSTVÍ
ApS BRNO, spol. s r. o.
IČO 00543535
Božetěchova 2
612 66 Brno
e-mail: papezova@aps-brno.cz

REDAKCE:
Masarykův onkologický ústav Brno
Žlutý kopec č. 7
656 53 Brno

Sekretář redakce:
ing. Zdeněk Bouša
tel., fax: 543 134 226
mobil: 604 226 113
Přijetí příspěvků:
e-mail: vukfait@centrum.cz
e-mail: bousa@mou.cz

Tiskne Moravská typografie, a. s.
Brno, Moravské náměstí 13
IČO 15549763

Vychází 6krát ročně
Roční předplatné 180 Kč
pro studenty LF 90 Kč

Expedici na základě roční objednávky
vyřizuje redakce

Ministerstvo kultury ČR
MK ČR 5158
ISSN 0862-495 X

INTERNET – vstupní adresa:
<http://www.linkos.cz>
<http://www.mou.cz>

INDEXED IN EXCERPTA MEDICA

ČASOPIS ČESKÉ ONKOLOGICKÉ SPOLEČNOSTI A SLOVENSKEJ ONKOLOGICKEJ SPOLOČNOSTI

THE JOURNAL OF THE CZECH AND SLOVAK ONCOLOGICAL SOCIETIES

VÝKONNÁ REDAKČNÍ RADA

VEDOUcí REDAKTOR REJTHAR ALEŠ

VÝKONNÝ REDAKTOR FAIT VUK

REDAKTOŘI

ČOUPEK PETR, Brno
FORETOVÁ LENKA, Brno
HÁJEK ROMAN, Brno
KOCÁK IVO, Brno

SVOBODA MAREK, Brno
VALÍK DALIBOR, Brno
VORLÍČEK JIŘÍ, Brno
ŽALOUDÍK JAN, Brno

REDAKČNÍ RADA

ADAM ZDENĚK, Brno
BABUŠÍKOVÁ OLGA, Bratislava
BARTOŠ JIŘÍ, Liberec
BEDNAŘÍK OTAKAR, Brno
CWIERTKA KAREL, Olomouc
JURGA LUDOVIT, Trnava
KAUŠITZ JURAJ, Bratislava
KLENER PAVEL, Praha
KOVAŘÍK JAN, Brno

KOZA IVAN, Bratislava
MAYER JIŘÍ, Brno
MELICHAR BOHUSLAV, Hr. Králové
ONDRUŠ DALIBOR, Bratislava
PAČOVSKÝ ZDENĚK, Brno
PETRUŽELKA LUBOŠ, Praha
VYZULA ROSTISLAV, Brno
WAGNEROVÁ MÁRIA, Košice

ČESTNÍ ČLENOVÉ REDAKČNÍ RADY

BILDER JOSEF, Brno
ECKARDT SANDOR, Budapešť
KLAŠTERSKÝ JAN, Brusel
KOUTECKÝ JOSEF, Praha

MECHL ZDENĚK, Brno
NĚMEC JAROSLAV, Brno
PLEŠKO IVAN, Bratislava
UJHÁZY VILIAM, Bratislava

Přehled	
Feranec R., Otevřel P., Frgala T., Dörr A. Mapování lymfatické biopsie sentinelové uzliny u pacientek s karcinomem endometria	199
Procházka P., Vicha A., Kodet R., Kodetová D., Eckschlager T. Nádory ze skupiny Ewingova sarkomu - molekulární biologie a genetika	205
Filip S., Svoboda V., Zouhar M., Moudrá S., Jandová M., Milka D., Petera J. Hodnocení medicínsko - ekonomických ukazatelů paliativní péče u onkologických nemocných	209
Původní práce	
Kleiblová P., Fidlerová J., Bílek M., Bezdíčková D., Novotný J., Kleibl Z., Studium mutací a polymorfismů dihydropyrimidindehydrogenázy (DPD) v predikci toxicity spojené s podáním fluoropyrimidinů	215
Šimíčková M., Nekulová M., Petránková K., Pecan L., Staníček J., Frgala T., Pilný R., Dubská L., Valík D. Sérový N-terminální propeptid prokolagenu typu I (P1NP) a kostní metastázy karcinomu prsu	220
Kleibl Z., Havránek O., Novotný J., Kohoutová M., Štekrová J., Matouš B. Analýza mutace c.1100delC genu CHEK2 v populaci pacientů se sporadickým karcinomem kolorekta a familiární adenomatózní polypózou	224
Sdělení	
Jurga L., Malý M. Úskalí kombinované radiochemoterapie a bioterapie maligních gliómů	227
Mohammad Motawy, MD. Sadeq Abuzallouf, FRCPC. Omar El-Hattab. George Thomas, MD. Salah Fayaz, MD And Ayman Murray, Msc. Výsledek léčby karcinomu rekta a rektosigmoidu v Kuvajtu - retrospektivní analýza	231
Zprávy	
Slabý O. Zpráva z konference advances in microarray technology 2006, amsterdam, 30.10. - 2.11.2006	235
Řehák Z. XLIII. Dny nukleární medicíny	236
Informace	236
- recenze knihy	208
- Jihočeské onkologické dny	219
- Výbor Slovenské onkologické společnosti	214
Onkologické společnosti	237

CONTENTS

2 / 2007

Reviews	
Feranec R., Otevřel P., Frgala T., Dörr A. Lymphatic mapping and sentinel lymph node biopsy in patients with endometrial cancer	199
Procházka P., Vicha A., Kodet R., Kodetová D., Eckschlager T. Ewing sarcoma family of tumors - molecular biology and genetics	205
Filip S., Svoboda V., Zouhar M., Moudrá S., Jandová M., Milka D., Petera J. The evaluation of medical and economic indices of palliative care in oncologic patients	209
Original publication	
Kleiblová P., Fidlerová J., Bílek M., Bezdíčková D., Novotný J., Kleibl Z., Analysis of mutations and polymorphisms of dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) in prediction of toxicity caused by fluoropyrimidines	215
Šimíčková M., Nekulová M., Petránková K., Pecan L., Staníček J., Frgala T., Pilný R., Dubská L., Valík D. N-terminal propeptide of type I procollagen (P1NP) and breast cancer bone metastases	220
Kleibl Z., Havránek O., Novotný J., Kohoutová M., Štekrová J., Matouš B. Analysis of the c.1100delC mutation of the CHEK2 gene in sporadic colorectal carcinoma and familial adenomatous polyposis patient population	224
Communications	
Jurga L., Malý M. Reflections on the pitfalls of combined therapy in glial tumors	227
Mohammad Motawy, MD. Sadeq Abuzallouf, FRCPC. Omar El-Hattab. George Thomas, MD. Salah Fayaz, MD And Ayman Murray, Msc. Treatment outcome of rectal and rectosigmoid cancer in Kuwait - A retrospective analysis	231
Report	
Slabý O. Report from conference advances in microarray technology 2006, Amsterdam, 30.10. - 2.11.2006	235
Řehák Z. Days of Nuclear Medicine	236
Information	236
- book review	208
- South Bohemian Oncology Days	219
- Board Slovakian Oncological Society	214
Onkological associations	237

MAPOVÁNÍ LYMFATIK A BIOPSIE SENTINELOVÉ UZLINY U PACIENTEK S KARCINOMEM ENDOMETRIA

LYMPHATIC MAPPING AND SENTINEL LYMPH NODE BIOPSY IN PATIENTS WITH ENDOMETRIAL CANCER

FERANEC R., OTEVŘEL P., FRGALA T., DÖRR A.

ODDĚLENÍ GYNEKOLOGICKÉ ONKOLOGIE, MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV

Souhrn

Zhoubné nádory těla děložního jsou nejčastější gynekologickou malignitou. Incidence je 30 na 100 000 a má stoupající tendenci. Hlavní léčebnou modalitou je radikální operační výkon, jenž zjednodušeně zahrnuje hysterektomii s bilaterální adnexektomií, peritoneální laváží, pánevní lymfadenektomií a v případě positivity high-risk prognostických faktorů i paraaortální lymfadenektomii. V souladu s trendem snižování radikality onkologických chirurgických výkonů se detekce sentinelové uzliny u zhoubných nádorů těla děložního jeví jako slibná metoda s potenciálem snižování radikality operačního výkonu a upřesnění stagingu. První zkušenosti naznačují, že využití hysteroskopické aplikace radiokoloidu pravděpodobně nejlépe respektuje anatomické souvislosti a přirozenou drenáž endometria. Kombinaci předoperační lymfoscintigrafie a peroperační detekce pomocí ruční gama sondy lze využít pro identifikaci sentinelové uzliny u časných stadií karcinomu endometria.

Klíčová slova: karcinom, endometrium, sentinelová uzlina, hysteroskopie.

Abstract

The endometrial carcinoma remains the most frequent gynecological malignity. The incidence is 30:100 000 with an increasing tendency. The main therapeutic modality remains radical surgery, including hysterectomy, bilateral adnexectomy, peritoneal wash, pelvic lymphadenectomy and paraaortal lymphadenectomy in cases of high-risk prognostic factors positivity. In agreement with the trend of decreasing oncological surgery radicality, sentinel node detection of endometrial cancer appears to be a promising method with the potential of decreasing surgery radicality and staging clarification. First experiences imply that utilization of hysteroscopic application of radiocolloid respects the anatomical consequences and natural lymphatic drainage of endometrium best. Combination of pre-operative lymphoscintigraphy and intra-operative detection using handheld gamma probe can be beneficial for sentinel lymph node identification in early endometrial cancer.

Key words: carcinoma, endometrium, sentinel lymph node, hysteroscopy.

Úvod

Zhoubné nádory těla děložního jsou nejčastější gynekologickou malignitou. Incidence má v České republice stoupající tendenci (asi 30 onemocnění na 100 tisíc žen, tj. více než 1600 nových případů ročně). Za hlavní rizikové faktory jsou považovány vysoký věk, obezita a diabetes mellitus, dále vyšší příjem živočišných tuků a bílkovin, pozdní menopauza, nulliparita, ovariální poruchy s neoponovaným prolongovaným působením estrogenů, imunodeficitní onemocnění a imunoprese. Hlavní léčebnou modalitou je radikální operační výkon, který je ale vzhledem k výše uvedenému profilu typické pacientky s korporálním karcinodem často nemožný v plném rozsahu. Za standardní výkon možno zjednodušeně označit radikální abdominální hysterektomii s oboustrannou adnexektomií, peritoneální laváží a pánevní lymfadenektomií. Kontroverzní je role paraaortální lymfadenektomie. Podle literárních údajů přibližně 50 % postižených lymfatických uzlin nacházíme v oblasti pánve, ale postižení pelvických a paraaortálních uzlin současně se vyskytuje až ve 30 % případů. Izolované postižení paraaortál-

ních lymfatických uzlin se vyskytuje asi ve 20 % případů. Kompletní pelvická a paraaortální lymfadenektomie je však spojena s prodloužením operačního výkonu, větší krevní ztrátou, vyšší frekvencí operačních a pooperačních komplikací ve smyslu krvácení, poranění cév a močového traktu, ileosního stavu a lymfedému. Ve snaze o minimalizaci uvedených komplikací u často polymorbidních a obézních patientek je snaha definovat pacientky s pozitivitou high-risk faktorů, u kterých je indikovaný kompletní operační výkon včetně paraaortální lymfadenektomie. Mezi prognostické faktory vysokého rizika patří G3, hluboká invaze myometria, postižení lymfatických uzlin, prorůstání nádoru do čípku, serosní papilární a clear-cell karcinom. I přes racionální selekci, u více než poloviny high-risk patientek nenacházíme metastaticky postižené lymfatické uzliny.

Ve snaze vyhnout se systematické (a často zbytečné) lymfadenektomii, byl pro mnohé nádory vypracován koncept sentinelové lymfatické uzliny. Metodika je v onkogynologické praxi využívána u karcinomu prsu, u karcinomu vulvy probíhají studie III. fáze, hledá se využití u cervikál-

ního karcinomu. Detekce sentinelové uzliny u karcinomu endometria však zatím naráží na nedostatek dat a zkušeností.

Karcinom endometria

1. Epidemiologie

Zhoubné nádory těla děložního jsou nejčastější gynekologickou malignitou. Incidence má v České republice stoupající tendenci a v současnosti se pohybuje kolem 30:100 tisíc žen. Ročně je v naší republice diagnostikováno více než 1600 nových případů. Mortalita je relativně nízká a udržuje se na hladině cca 7:100 tisíc žen. Tato situace je důsledkem mnoha faktorů. Převážná většina případů je diagnostikována ve včasných stadiích. Pětileté přežívání u pacientek ve stadiu I se pohybuje kolem 90%, zatímco pětileté overall survival rate žen ve stadiu IV je pouze 19 %. [1] Zhoubné nádory děložního těla jsou onemocněním především vyššího věku, maximum incidence je v 6. a 7. deцениu. Celosvětově nejvyšší incidence je v bílé populaci v rozvinutých zemích, což je zřejmě důsledkem dietetických faktorů, životního stylu a částečně vlivem životního prostředí.

2. Patogeneze

Zhoubné tumory děložního těla představují heterogenní skupinu. O etiopatogenezi některých máme pouze minimální informace. Karcinomy endometria můžeme z etiopatogenetického hlediska rozdělit do dvou skupin. Typ I vzniká na podkladě dlouhodobé stimulace endometria estrogeny, na podkladě hyperplázie endometria. Typ II jsou karcinomy vznikající na atrofickém endometriu bez zjevného působení estrogenů.

Tabulka 1.: Rizikové faktory spojené s karcinomem endometria

Rizikový faktor	Relativní riziko
Časné menarche	2.4
Nulliparita	7.6
Obezita (BMI>29)	2.7 - 4.2
Diabetes mellitus	2.0
Neoponované estrogeny	9.5
Tamoxifen	2-3
Komplexní atypická hyperplázie	29
Nárůst parity	0.5 - 0.3
Orální kontraceptiva	0.6

Za rizikové faktory (Tab.1) se považují věk, obezita, vyšší příjem živočišných tuků a bílkovin, pozdní menopauza, ovariální poruchy s prolongovaným působením estrogenů bez odpovídající hladiny gestagenů. Nulliparita samotná pravděpodobně nezvyšuje riziko vzniku karcinomu endometria, ale pouze ve spojitosti s anovulačními cykly a nedostatkem gestagenů v luteální fázi menstruačního cyklu. Další uváděné rizikové faktory jsou diabetes mellitus, hormonálně aktivní nádory ovaria, imunodeficitní onemocnění a imunosuprese. Beresford et al. prokázal u žen užívajících hormonální léčbu trvající déle než 5 let s progestinem zařazeným v cyklu na méně než 10 dní relativní riziko (RR) endometriálního karcinomu 4.8 (95% CI, 2.0-11.4). Ženy užívající progestin 10-21 dní v cyklu měly RR 2.7 (95% CI, 1.2-6.0). [2]

Užívání orální kontracepce má prokazatelný vliv na snížení rizika vzniku karcinomu endometria i ovaria. CASH

(the Cancer and Steroid Hormone) studie demonstrovala, že uživatelky orální kontracepce po dobu minimálně 12 měsíců měly RR endometriálního karcinomu 0.6 (95% CI, 0.3-0.9). [3] Uvedený protektivní efekt orálních kontraceptiv přetrvává ještě 15 let od doby užívání. Tamoxifen je rovněž označován jako rizikový faktor karcinomu endometria. Jedna retrospektivní kontrolovaná studie z Nizozemí prokázala, že užívání Tamoxifenu déle než 2 roky je spojeno s 2.3-násobným nárůstem rizika vzniku karcinomu těla děložního. [4] Rovněž Stockholm Breast Cancer Study Group prokázala nárůst rizika endometriálního karcinomu u pacientek s karcinomem prsu léčených Tamoxifenem. [5] V roce 1996 ACOG (American College of Obstetricians and Gynecologists) rozhodla, že benefit léčby Tamoxifenem převyšuje nežádoucí zvyšování rizika endometriálního karcinomu. [6]

3. Histologie

Endometriální adenokarinom představuje nejčastější subtyp, postihující 85% pacientek (Tab.2). Clear cell karcinom reprezentuje asi 5-10% s výrazně horší prognózou. Jedná se o vysoce agresivní tumor, který často diagnostikujeme již v pozdním stadiu a s metastatickým postižením lymfatických uzlin.

Tabulka 2.: Histologické typy

<u>I. epitelální nádory</u>	
- adenokarinom - endometroidní, papilární, sekreční	
- adenokarinom s dlaždicovou složkou (dříve adenoakantom)	
- clear cell karcinom	
- serósní papilární karcinom	
- spinocelulární karcinom (raritní)	
<u>II. sarkomy těla děložního</u>	
- leiomyosarkom (low a high grade)	
- endometrální stromální sarkom (low a high grade)	
- smíšené mesodermální nádory	
- adenosarkom	
- smíšený mülleríanský (karcinosarkom) homologní	
- smíšený mülleríanský (karcinosarkom) heterologní	

4. Klinické projevy a diagnostické postupy

Všechny postmenopauzální ženy, u kterých dochází k vaginálnímu krvácení bez souvislosti s případnou hormonální terapií, by měly být podrobně vyšetřeny s cílem vyloučení karcinomu endometria. Screening se zatím nejvíce jeví jako efektivní pro detekci časných stadií.

Základním diagnostickým vyšetřovacím postupem je provedení vaginálního ultrasonografického vyšetření. U postmenopauzálních žen je tloušťka endometria < 4mm spojena pouze s nízkým rizikem karcinomu. [7] Sonohysterografie využívající instilaci tekutiny do kavity dělohy s cílem přesnější sonografické kontroly profilu endometria a diagnostiky polypů nenašla většího uplatnění. Současným doporučeným postupem je biotická verifikace každého postmenopauzálního krvácení separovanou abrazí nebo lépe hysteroskopií.

5. Terapie

Po upřesnění stadia onemocnění provedením stagingových vyšetření je v diagnosticko-terapeutické rozvaze rozhodující stanovení rizika rekurence onemocnění pomocí prognostických faktorů. V současné době je snaha rozdělit známé prognostické faktory na *prognostické faktory nízkého*

rizika (grade 1, invaze maximálně do 1/2 myometria) a *faktory vysokého rizika* (grade 3, invaze do myometria více než jedna polovina, invaze do lymfatických uzlin, pozitivní cytologie (lavage), serosní papilární Ca, clear-cell Ca, karcinosarkom, prorůstání do cervixu). [8] Byly definovány *nové prognostické faktory*, mezi které řadíme absolutní vzdálenost tumoru od serosy (Tumor-Free Distance from the Uterine Serosa, TFD), kdy hranice 1 cm je kompromisem sensitivity a specifity v predikci rekurence. [9] Dalším sledovaným faktorem je ploedita DNA.

Tabulka 3.: TNM klasifikace a stadia FIGO

TNM FIGO	
<i>T - primární nádor</i>	
TX	primární nádor nelze posoudit
T0	žádné známky primárního nádoru
Tis	0 karcinom in situ (preinvasivní karcinom)
T1 I	<i>nádor ohraničený na tělo dělohy</i>
T1a	IA nádor omezený na endometrium
T1b	IB invaze nádoru do nebo méně než do jedné poloviny myometria
T1c	IC invaze nádoru více než do poloviny myometria
T2	II nádor infiltruje čípek, ale nešíří se mimo dělohu
T2a	IIA jsou infiltrovány pouze endocervikální žlázy
T2b	IIB invaze do cervikálního stromatu
T3 a/nebo	III <i>lokální a/nebo regionální šíření uvedená pod T3a,b, a FIGO IIIA,B a C</i>
T3a	IIIA nádor infiltruje serózu a/nebo adnexa (přímým šířením či metastázami) a/nebo nádorové buňky a ascitu nebo v peritoneálním výplachu
T3b	IIIB šíření do pochvy (příme šíření nebo metastázy)
N1	IIIC metastázy do pánevních a/nebo paraaortálních lymfatických uzlin
T4	IVA nádor infiltruje sliznici močového měchýře a/nebo sliznici střeva
	<i>přítomnost bulózního edému nestačí ke klasifikaci T4</i>
M1	IVB vzdálené metastázy
(mimo metastáz do pochvy serózy a adnex, včetně metastáz do intraabdominálních uzlin s výjimkou uzlin paraaortálních a/nebo inguinálních)	
<i>N - regionální mizní uzliny</i>	
NX	regionální mizní uzliny nejde posoudit
N0	regionální mizní uzliny bez metastáz
N1	metastázy v regionálních mizních uzlinách
<i>M - vzdálené metastázy</i>	
MX	Přítomnost vzdálených metastáz nelze určit
M0	Bez vzdálených metastáz
M1	Vzdálené metastázy
<i>pTNM: patologická klasifikace</i>	
Kategorie pT, pN a pM odpovídají kategoriím T, N, a M	
pN0 Histologické vyšetření preparátu z pánevní lymfadenektomie musí obsahovat 10 nebo více lymfatických uzlin.	

Hlavní léčebnou modalitou je chirurgický výkon, jehož radikality závisí na stadiu onemocnění a přítomnosti rizikových faktorů, jakož i na zdravotním stavu a habitu pacientky. Za standardní výkon možno zjednodušeně označit radikální abdominální hysterektomií s bilaterální adnexektomií, laváží a pánevní lymfadenektomií. U pacientek s dobře diferencovaným endometroidním karcinomem ve stadiu T1a a T1b je provádění pánevní lymfadenektomie sporné. V důsledku složité lymfatické drenáže těla děložního přibližně 50 % postižených lymfatických uzlin nacházíme v oblasti pánve, ale postižení pelvických a paraaortálních uzlin současně se vyskytuje až ve 30 % případů. Izolované postižení paraaortálních lymfatických uzlin se vyskytuje

asi ve 20 % případů. Kompletní pelvická a paraaortální lymfadenektomie je však spojena s prodloužením operačního výkonu, větší krevní ztrátou, vyšší frekvencí operačních a pooperačních komplikací. S cílem minimalizovat uvedené komplikace u často polymorbidních a obézních pacientek je snaha definovat pacientky s pozitivitou high-risk faktorů, u kterých je indikován kompletní operační výkon včetně paraaortální lymfadenektomie. Mezi prognostické faktory vysokého rizika patří již uvedený grade G3, hluboká invaze myometria, postižení lymfatických uzlin, prorůstání nádoru do čípku, serosní papilární a clear-cell karcinom. Podle výsledků studie GOG-33 vedené Creasmanem et al, zahrnující 621 pacientek představuje hloubka myometrální invaze a grade tumoru nejvýznamnější faktory predikce postižení pánevních a paraaortálních lymfatických uzlin. (Tab.4) [10] I přes racionální selekci nenacházíme u více než poloviny high-risk pacientek metastaticky postižené lymfatické uzliny.

Tabulka 4.: Grade a hloubka myometrální invaze v predikci pánevních/paraaortálních lymfatických metastáz dle GOG-33

Grade tumoru			
Hloubka invaze	G1	G2	G3
Bez invaze	0%/0%	3%/3%	0%/0%
Vnitřní třetina	3%/1%	5%/4%	9%/4%
Střední třetina	0%/5%	9%/0%	4%/0%
Hluboká	11%/6%	19%/14%	34%/23%

Paraaortální lymfadenektomie u karcinomu endometria
V otázce rozsahu pánevní lymfadenektomie u karcinomu endometria v případě pozitivitu faktorů vysokého rizika dosud nepanuje jednota. I když lymfatická drenáž ze subserosní oblasti fundu dělohy směřuje až do subrenální oblasti, metastatické postižení této oblasti je při negativitě nižších paraaortálních etáží vzácné. U karcinomu endometria je proto doporučováno odstranění prekaválních a levých laterálních paraaortálních uzlin po odstup dolní mesenterické artérie. [11]

Laparoskopický staging

Pánevní i paraaortální lymfadenektomie prováděná technikami minimálně invazivní chirurgie může být alternativou tradiční laparotomie u selektovaných pacientek. Použitelnost laparoskopického stagingu řeší III. fáze randomizované studie GOG (Gynecologic Oncology Group) 9402. [12]

Vyšetření sentinelové uzliny

Ve snaze vyhnout se systematické lymfadenektomii a snížit radikality operačního výkonu byl pro mnohé solidní nádory vypracován koncept sentinelové lymfatické uzliny. Metodika je v onkogynekologické praxi využívána u karcinomu prsu, u karcinomu vulvy probíhají studie III. fáze, hledá se využití u cervikálního karcinomu. Detekce sentinelové uzliny u karcinomu endometria zatím naráží na nedostatek dat a zkušeností.

Koncept sentinelové uzliny

Sentinelová biopsie je metoda, která v posledním desetiletí výrazně zasáhla onkochirurgii a onkologii vůbec. Metoda přináší nové možnosti pro onkology, ale především pro pacienty.

Sentinelová uzlina (sentinel = stráž) je lymfatická uzlina, která má s primárním nádorem přímé spojení ve formě lymfatické cévy. SLN je tedy primárním místem, kam nádor lym-

fogenně metastazuje. Metastázy se v lymfatických uzlinách šíří sekvenčním způsobem, a proto je znalost o případném metastatickém postižení SLN důležitá. Podrobné vyšetření SLN umožňuje zvýšit spolehlivost zařazení onkologického pacienta v TNM systému, což je základní informace z hlediska prognózy a léčebné strategie. V případě, že není v SLN prokázán metastatický proces, je velmi málo pravděpodobné, že by byla detekována metastáza v lymfatických uzlinách vyššího řádu. To umožňuje provádět konzervativnější operační výkony a snižovat morbiditu chirurgické terapie.

Historie

První zmínky o existenci lymfatického aparátu sahají do roku 1653 a jejich autorem je *Bartholin*. *Virchow* v devatenáctém století formuloval teorii o lymfatických uzlinách a filtraci lymfy. Dalším logickým krokem v evoluci *Virchowovy* teorie bylo provedení radikální mastektomie *Halstedem* na konci devatenáctého století. *Halstedův* model en block disekce jako základní doporučený princip onkologické chirurgie byl zpočty až v šedesátých letech dvacátého století. *Wiliam Halsted* totiž vytvořil obraz karcinomu prsu jako lokoregionální choroby, která při invazivním růstu metastazuje do regionálních uzlin a z nich následně cestou ductus thoracicus do krevního oběhu a dále do vzdálených orgánů. Jeho teorie byla nahrazena náhledem na malignitu jako na systémové onemocnění s důrazem i na kvalitu života pacienta. S tím souvisely i snahy o zpřesnění vyšetření lymfatických uzlin a snížení radikality.

Cabanas v sedmdesátých letech prokázal existenci sentinelové uzliny v lymfatické drenáži penisu. Pomocí lymfografie prokázal přímou drenáž z penisu do lymfatických uzlin v blízkosti vena epigastrica superficialis. [13] *Chiappa* pokračoval v lymfografických studiích a prokázal přímou drenáž u testikulárního karcinomu. Svým výzkumem rovněž podpořil teorii sentinelové uzliny. [14] *Kett* aplikoval patentovou modř areolární injekcí s následnou vizualizací lymfatických uzlin u karcinomu prsu. *Christensen* využil v roce 1980 ke značení lymfatické drenáže prsu lymfoscintigrafii. *Morton* použil lymfoscintigrafii s radiokoloidem zlata v roce 1977 k identifikaci lymfatické drenáže kožního melanomu. Současně rozvinul techniku peroperačního mapování a selektivního odstranění lymfatických uzlin z přímé drenážní cesty melanomu. Tyto sentinelové uzliny byly považovány za první místo eventuálního rozvoje metastáz. Jeho práce v John Wayne Cancer Institute iniciovala jeden z nejdůležitějších současných vědeckých záměrů v chirurgické onkologii. V roce 1989 byla Mortonem prezentována technika intraoperačního lymfatického mapování na II. Mezinárodní Melanomové Konferenci WHO, kde představil své výsledky s využitím isosulfanové modři. [15] O rozvoj mapování lymfatických uzlin u karcinomu prsu se zasloužil především *Guiliano* s kolektivem. První práce o využití Patent Blau byly publikovány v roce 1994. O něco později uveřejnil zprávy o využití radiokoloidu s peroperační detekcí sentinelové uzliny pomocí gamma sondy. Předoperační lymfoscintigrafie byla doplněna pro lepší specifikaci místa a počtu sentinelových uzlin. [16]

Technika

V současné době se k detekci SLN používají dvě základní techniky - vizuální pomocí isosulfanové modři (Patent Blau) a radionuklidová pomocí ^{99m}Tc -koloidů. Zlatým standardem je kombinace uvedených metod.

Histologické zpracování sentinelové uzliny

Dle Výboru Společnosti českých patologů ČLS JEP byl v dubnu 2005 přijat standard pro zpracování sentinelové uzliny. Metodiku lze shrnout do několika bodů:

1. Sentinelovou uzlinu musí označit operátor a musí být dodána v samostatné, označené nádobě s poznámkou na průvodce, že se jedná o sentinelovou uzlinu.
2. Uzlina je přikrojena v podélné ose na bločky 3-4mm silné. Malé uzliny jsou zpracovány celé, v jednom bločku.
3. Z každého tkáňového bločku se zhotoví celkem čtyři řezy s rozstupem 5-10 mikronů: tři řezy barvené hematoxylinem-eozinem a jeden řez s imunohistochemickým průkazem cytokeratinu.

Záchytnost karcinomu navrhovanou metodou je 97,9%. [27]

Detekce sentinelové uzliny u karcinomu endometria

Pouze několik málo studií se zaměřuje na detekci sentinelové uzliny u karcinomu endometria.

Burke et al. se v roce 1996 na souboru 15 žen pokusil o prokázání možnosti lymfatického mapování a upřesnění chirurgického stagingu karcinomu endometria identifikací sentinelové uzliny. V průběhu laparotomie byla aplikována patentová modř subserosní injekcí do myometria ve třech místech. Barvení lymfatických cest bylo následně observováno po dobu deseti minut. Sentinelová uzlina byla nalezena pouze v 67%. Následně byla provedena hysterektomie s bilaterální adnexektomií, selektivní pánevní a paraaortální lymfadenektomií. Z celkově zachycených 31 SLN bylo 12 lokalizovaných v paraaortální oblasti. Práci je vytýkána způsob aplikace barviva nerespektující lokalizaci tumoru, jenž nelze abdominálně odhadnout. Drenáž subserosní oblasti rovněž nemusí odpovídat lymfatické drenáži endometria. Značení sentinelové uzliny využitím pouze Patent Blau vykazuje obecně výrazně nižší senzitivitu záchytu ve srovnání s kombinovanou technikou. [17]

Na práci Burkeho navázal **Holub et al.** (2000-2004). Ve svých pracích použil laparoskopický přístup k subserosní myometrální injekci patentové modři. Pronikání barviva bylo standardně monitorováno po dobu 5 minut. Následně byl laparoskopicky otevřen retroperitoneální prostor. Senzitivita záchytu sentinelové uzliny uvedenou metodikou ve shodě s prací Burke et al. byla pouze 63%. V pozdějších pracích uvedených kolektivem autorů srovnával subserosní myometrální aplikaci Patent Blau (skupina SM) kontra vaginálně - laparoskopicky/abdominálně aplikované injekce barviva do čípku děložního a současně do subserosního myometria fundu (skupina CSM). Sentinelová uzlina byla ve skupině SM ve shodě s předchozími výsledky zachycena pouze v 62% případů, ve skupině CSM ale záchyt vzrostl na 83%. V práci byla prokázána 100% negativní prediktivní hodnota metody, kdy ani v jednom případě histologicky negativní SLN nebyly zachyceny metastázy v dalších lymfatických uzlinách. [18, 19, 20]

Ve studii **Pelosi et al.** (2003) byly radiokoloid a patentová modř aplikovány pouze do cervikální oblasti. Pánevní lymfadenektomie jakož i detekce SLN pomocí gamasondy byla prováděna laparoskopicky. Záchyt sentinelové uzliny byl ve 100%, prokázána negativní prediktivní hodnota rovněž 100%. [21] Obdobný postup i výsledky publikoval i **Bar-ranger et al.** Metodice lze vytknout nerespektování lymfatické drenáže těla děložního a lokalizaci tumoru. Cervi-

kální aplikace nezávisle na lokalizaci tumoru mohla logicky vést ke selhání záchytu sentinelové uzliny v oblasti paraaortální a tím i k možnému podhodení stadia onemocnění v případě jejich metastatického postižení. [28]

Niikura et al. (2003) jako první použil hysteroskopické injekce radiokoloidu a Patent Blau peritumorózně do subendometriální vrstvy. Patentová modř byla použita pouze k přesnější vizualizaci místa vpichu a vyloučení úniku radiofarmaka do distenčního média. U všech pacientek po provedení lymfoscintigramu následovala abdominální hysterektomie s bilaterální adnexektomií, totální pánevní lymfadenektomií a paraaortální lymfadenektomií do úrovně odstupu renálních věn. Před zahájením lymfadenektomie byly detekovány radioaktivní lymfatické uzliny pomocí ruční scintilační gamasondy. Za radioaktivní uzliny (sentinelové) byly považovány všechny uzliny vykazující minimálně desetinasobek aktivity pozadí. Průměrný zisk lymfatických uzlin z oblasti pánve byl 42.9 a 27.9 uzlin bylo odstraněno z paraaortální oblasti. Průměrný zisk detekovaných sentinelových uzlin byl 3. Tři pacientky měly prokázanou sentinelovu uzlinu pouze paraaortálně, 15 pacientek současně paraaortálně i v malé pánvi. Sentinelová uzlina byla nalezena v 82%, ve všech případech selhání se jednalo o hlubokou myometrální invazi tumoru ev. i s postižením lymfatických uzlin. Senzitivita i specifita metodiky dosáhly 100%. [23]

Fersis et al. (2003) obdobně použil hysteroskopickou injekci radiokoloidu (bez barviva) do peritumorózní oblasti. Ve studii nebyl zachycen jediný falešně negativní výsledek. [24]

Maccauro et al. (2004) rovněž prokázal použitelnost metody vyšetření sentinelové uzliny u karcinomu endometria využitím hysteroskopie na souboru 26 pacientek. Po hysteroskopické aplikaci Tc-99 Nanocoll a Patent Blau subendometriálně a přísně peritumorózně následovala lymfoscintigrafie a ve stejný den za 3-4 hodiny vlastní operace. Ta spočívala v hysterektomii, bilaterální adnexektomii a pánevní lymfadenektomii. Paraaortální lymfadenektomie byla provedena pouze v případech průkazu serosního papilárního karcinomu. Všechny sentinelové uzliny byly vyšetřeny barvením hematoxilineozinem a imunohistochemickými metodami. Deklarovaná senzitivita uvedené techniky v záchytu sentinelové uzliny (SLN) je 100%. Průměrný zisk sentinelových uzlin byly tři uzliny, v rozsahu 2 - 4. 14 ze 65 získaných sentinelových uzlin bylo lokalizováno paraaortálně (21%), všechny další sentinelové uzliny byly nalezeny v malé pánvi. Metastaticky postižená paraaortálně lokalizovaná SLN byla prokázána pouze v jednom případě. Pouze 38% sentinelových uzlin bylo obarvených Patent Blau, všechny modré uzliny ale vykazovaly radioaktivitu při peroperační detekci ruční gamasondou. V práci nebyla potvrzena žádná korelace mezi lokalizací tumoru a lokalizací SLN.

Na rozdíl od práce Niikura et al. je metodicky nejasná selekce pacientek k provedení paraaortální lymfadenektomie dle přítomnosti rizikových faktorů. Případná pozitivita nevyšetřených paraaortálních uzlin evokuje pochybnosti o jinak vynikajících výsledcích autorů. [26]

Raspagliesi et al. (2004) je dalším autorem využívajícím subendometriální hysteroskopickou injekci radiokoloidu a následně Patent Blau. Autoři nezaznamenali ani jeden případ falešně negativity vyšetření sentinelové uzliny. Všechny sentinelové uzliny byly detekovány primárně pomocí lymfoscintigrafie, obarvení patentovou modří bylo pozorováno pouze ve 33 %. Důležité je, že ve 24 % případů byla nalezena sentinelová uzlina i v oblasti paraaortální, což potvrzuje primární lymfatické cesty endometriálního karcinomu do uvedené oblasti. [25]

Pilka et al. (2004) v první podskupině pacientek s karcinomem endometria aplikoval po provedení peritoneální laváže a přerušení vejcovodů izosulfanovou modř do děložní dutiny pomocí Schulzeho kanyly. Ve druhé podskupině aplikovali izosulfanovou modř do děložního fundu. V další skupině byl aplikován transcervikálně subendometriálně radiokoloid pod kontrolou vaginální ultrazvukové sondy. V podskupině, kde byla modř aplikována do dutiny dělohy nebyla sentinelová uzlina nalezena ani v jednom případě. Při aplikaci barviva do děložního fundu se podařilo zobrazit lymfatické kanály v malé pánvi ve všech případech, jejich průběh do paraaortální oblasti se zobrazit nepodařilo. Úspěšnost zobrazení lymfatických uzlin touto technikou byla ale pouze 40%. Transcervikální podání radiokoloidu vedlo k zobrazení sentinelových uzlin a je doporučeno autorem jako jeden z možných přístupů detekce sentinelové uzliny u karcinomu endometria. [29]

Dosud největší soubor pacientek (33) publikoval v roce 2006 **Dzvinčuk et al.** Ve své práci aplikoval nanokoloid značený techniciem Tc99 s aktivitou 50 MBq transcervikálně jehlou do myometria. Dávka rozdělená do 4-6 porcí byla aplikovaná cervikálním kanálem do oblasti fundu, do přední a zadní stěny a za vnitřní branku. Snahou byla přísná subendometriální injekce nejprve pod ultrazvukovou kontrolou, později pouze podle děložní sondy a pohmatem. Autoři identifikovali sentinelovou uzlinu v 79 %, průměrný počet detekovaných uzlin byl 2,9. Histopatologicky byly prokázány metastázy v 5 ze 72 uzlin (7%), všechny z pánevní oblasti. Nebyl zaznamenán případ falešně negativní sentinelové uzliny. [30]

Závěr

Detekce sentinelové uzliny u karcinomu endometria se jeví jako slibná metoda s potenciálem snižování radikality operačního výkonu a upřesnění stagingu. První zkušenosti naznačují, že využití hysteroskopické aplikace radiokoloidu pravděpodobně nejlépe respektuje anatomické souvislosti a přirozenou drenáž endometria. Jako další slibná metodika se jeví transcervikální subendometriální aplikace radiokoloidu jehlou pod ultrazvukovou kontrolou.

Kombinace předoperační lymfoscintigrafie a peroperační detekce pomocí ruční gama sondy je použitelná pro identifikaci sentinelové uzliny u časných stádií karcinomu endometria. Metodika je dle literárních údajů pacientkami dobře tolerována, zatím však zůstává určena pouze pro vědecké studie vzhledem k nedostatku dat a zkušeností.

Literatura

1. Journal of Epidemiology and Biostatistics, FIGO Annual Report of the Results of Treatment in Gynaecological Cancer, 2001, 6(1): 62.
2. Beresford S.A.A., Weiss N.S., Voight L.F. et al.: Risk of endometrial cancer in relation to use of estrogen combined with cyclic progestogen therapy in postmenopausal women. *Lancet* 1997, 349: 458-461.
3. The Cancer and Steroid Hormone Study of the Centers for Disease Control and the National Institute of Child Health and Human Development: Combination oral contraceptive use and the risk of endometrial cancer. *JAMA* 1987, 257: 796-800.
4. Van Leeuwen F.E., Benraad J., Coebergh J. W. et al.: Risk of endometrial cancer after tamoxifen treatment of Breast cancer. *Lancet*, 1994, 343: 448-452.
5. Rutqvist L.E., Johansson H., Signomkiao T., et al.: Adjuvant tamoxifen therapy of early stage breast cancer and second primary malignancies. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1995, 87: 645-651.
6. American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Gynecologic Practice: Tamoxifen and endometrial cancer: Committee opinion, 1996, 169.
7. Goldstein S.R., Nachtigall M., Snyder J.R. et al.: Endometrial assessment by vaginal ultrasonography before endometrial sampling in patient with postmenopausal bleeding. *Am J Obstet Gynecol.* 1990, 163: 119-123.
8. Svoboda B. et al.: Adekvátní chirurgický postup u karcinomu endometria, IX. Onkologie v gynekologii a mamologii, 2004.
9. Lindauer J. et al.: Is there a prognostic difference between depth of myometrial invasion and the tumor-free distance from the uterine serosa in endometrial cancer? in *Gynecol. Oncol.* 2003, Dec, 91: 547-51.
10. Creasman W.T., Morrow C.P., Bundy B. N., et al: Surgical pathologic spread patterns of endometrial cancer: A Gynecologic Oncology Group study. *Cancer* 1987, 60(8 suppl.): 2035- 2041.
11. Morro C.P., Curtin J. P.: Gynecologic cancer surgery. First edition. New York: Churchill Livingstone, 1996.
12. Spirtos N., Eisenkop S.C., Boike G., Schlaerth J.B., Cappellari J.: Laparoscopic staging in patients with incompletely staged cancers of the uterus, ovary, fallopian tube, and primary peritoneum: a Gynecology Oncology Group study. *Am J Obstet Gynecol* 193(5): 1645-9, 2005.
13. Cabanas R. M. et al.: An approach for the treatment of penile carcinoma. *Cancer.* 1977, 39: 456- 466.
14. Chiappa S., Uslenghi C., Bonadonna G., Marano P., Ravasi G.: Combined testicular and foot lymphangiography in testicular carcinomas. *Surg. Gynecol Obstet.* 1966, 123: 10-14.
15. Morton D. L., Wen D. R., Cochran A.J.: Pathophysiology of regional lymph node metastases in early melanoma studied by intraoperative mapping of the cutaneous lymphatics (abstract). Second International Conference on Melanoma. 1989: 131.
16. Giuliano A.E., Kirgan D.M., Guenther J.M., Morton D. L.: Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for breast cancer. *Ann Surg.* 1994, 220: 391-398.
17. Burke T.W., Levenback C., Tornos C., Morris M., Wharton J.T., Gershenson D.M.: Intraabdominal lymphatic mapping to direct selective pelvic and paraaortic lymphadenectomy in women with high-risk endometrial cancer: results of a pilot study. *Gynecol Oncol.* 1996 Aug;62(2):169-73.
18. Holub Z., Kliment L., Lukac J., Voracek J.: Laparoscopically-assisted intraoperative lymphatic mapping in endometrial cancer: preliminary results. *Eur J Gynaecol Oncol.* 2001;22(2):118-21.
19. Holub Z., Jabor A., Kliment L.: Comparison of two procedures for sentinel lymph node detection in patients with endometrial cancer: a pilot study. *Eur J Gynaecol Oncol.* 2002;23(1):53-7.
20. Holub Z., Jabor A., Lukac J., Kliment L.: Laparoscopic detection of sentinel lymph nodes using blue dye in women with cervical and endometrial cancer. *Med Sci Monit.* 2004 Oct;10(10): CR587-91. Epub 2004 Sep 23.
21. Pelosi E., Arena V., Baudino B., Bello M., Giusti M., Gargiulo T., Palladin D., Bisi G.: Pre-operative lymphatic mapping and intra-operative sentinel lymph node detection in early stage endometrial cancer. *Nucl Med Commun.* 2003 Sep;24(9):971-5.
22. Gargiulo T., Giusti M., Bottero A., Leo L., Brokaj L., Armellino F., Palladin L.: Sentinel Lymph Node (SLN) laparoscopic assessment early stage in endometrial cancer. *Minerva Ginecol.* 2003 Jun;55(3):259-62.
23. Niikura H., Okamura C., Utsunomiya H., Yoshinaga K.: Sentinel lymph node detection in patients with endometrial cancer. *Gynecol Oncol.* 2004, 92(2): 669 - 674.
24. Fersis N., Gruber I., Relakis K., Friedrich M.: Sentinel node identification and intraoperative lymphatic mapping. First results of a pilot study in patients with endometrial cancer. *Eur J Gynaecol Oncol.* 2004, 25(3): 339 - 342.
25. Raspagliesi F., Ditto A., Kusamura S., Fontanelli R.: Hysteroscopic injection of tracers in sentinel node detection of endometrial cancer: a feasibility study. *Am J Obstet Gynecol.* 2004, 191(2): 435 - 439.
26. Maccauro M., Lucignani G., Aliberti G., Villano C.: Sentinel lymph node detection following the hysteroscopic peritumoral injection of (99m)Tc-labelled albumin nanocolloid in endometrial cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2005, May, 32(5): 569-74.
27. International Union Against Cancer: Prognostic factors in Cancer. 2nd Ed. Edited by M.K. Gospodarowicz, Wiley-Liss 2001.
28. Barranger E., Fay S., Cortez A., Uzan S., Darai E.: Value of sentinel node biopsy in uterine cancers. *Gynecol. Obstet Fertil.* 2004 Sep, 32(9): 694-702.
29. Pilka R., Kudela M., Koranda P., Lubušský D.: Možnosti detekce sentinelových uzlin u žen s karcinomem endometria - pilotní studie, *Česká gynekologie*, 66, 2001, No 6, 427-431.
30. Dzvinčuk P., Pilka R., Kudela M., Koranda P.: Detekce sentinelových lymfatických uzlin pomocí 99mTc- nanokoloidu u karcinomu endometria. *Čes. Gynek.*, 71, 2006, č.3, s. 231-236.

Došlo: 13. 9. 2006
Přijato: 1. 2. 2007

NÁDORY ZE SKUPINY EWINGOVA SARKOMU - MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE A GENETIKA

EWING SARCOMA FAMILY OF TUMORS - MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS

PROCHÁZKA P., VÍCHA A., KODET R., KODETOVÁ D., ECKSCHLAGER T.

KLINIKA DĚTSKÉ HEMATOLOGIE A ONKOLOGIE, UK 2. LF A FN MOTOL, PRAHA
ÚSTAV PATOLOGICKÉ ANATOMIE A MOLEKULÁRNÍ MEDICINY, UK 2. LF A FN MOTOL, PRAHA

Souhrn

K nádorům skupiny Ewingova sarkomu (dále jen Ewingův sarkom) patří Ewingův sarkom kostí i extraskeletální a periferní primitivní neuroektodermální nádor. Nádory této skupiny jsou po osteosarkomu druhými nejčastějšími primárními maligními nádory kostí starších dětí a mladých dospělých. Postihují často pánevní kosti, dlouhé kosti dolních končetin a hrudníku a měkké tkáně. Metastazují nejčastěji do plic, kostí a kostní dřevě, vzácněji do uzlin, jater a mozku. Ojedinele byly popsány nádory ze skupiny Ewingova sarkomu vycházející z různých orgánů. Ewingův sarkom se vyznačuje specifickými chromozomálními aberacemi postihujícími 22. chromozom - translokací **t(11;22)**, méně často **t(21;22)**, sporadicky se mohou vyskytnout i tak zvané minoritní translokace. Translokace specifické pro zařazení do skupiny Ewingova sarkomu spojují část genu EWS lokalizovaného na 22. chromozomu s některým z genů rodiny ETS (FLI-1, ERG, ETV-1, EIAF, FEV). Kromě těchto specifických translokací nacházíme u Ewingova sarkomu sekundární změny jako jsou trizomie a tetrazomie 8. a 12. chromozomu a nebalancovaná translokace **t(1; 16)**, vedoucí k delecí 16q a ke zmožnění 1q. Význam průkazu těchto sekundárních aberací pro prognózu je předmětem intenzivního výzkumu. Nicméně již nyní se zdá, že translokace **t(1;16)** a trizomie či tetrazomie 8. chromozomu jsou známkou nepříznivé prognózy.

Klíčová slova: Ewingův sarkom, PNET, translokace (11;22) a (21; 22), EWS/FLI1, EWS/ ERG, sekundární chromozomální aberace

Summary

Ewing sarcoma of the bones, extraskeletal and peripheral primitive neuroectodermal tumors all belong to the Ewing sarcoma family of tumors. Ewing sarcoma is the second most common primary malignant bone tumor in older children and young adults following osteosarcoma. Pelvic bones, the long bones of lower extremities, as well as the thorax and soft tissue of the above mentioned locations are often affected. They often metastasize into the lungs, bones and bone marrow, but rarely into the nodes, the liver and the brain. Ewing sarcoma was only sporadically reported from different organs. Specific chromosomal aberrations affecting chromosome 22 - translocation **t(11;22)**, fewer **t(21;22)**, and the rarely occurring so-called minor translocation - are typical of Ewing sarcoma. Translocations, specific for the Ewing sarcoma family of tumors combine a part of the EWS gene, localized on chromosome 22, with some of the ETS family of genes (FLI-1, ERG, ETV-1 and others). Besides these specific translocations in Ewing sarcoma secondary changes are revealed, such as trisomy and tetrasomy of chromosome 8 and 12 and often nonbalanced translocation **t(1; 16)** leading to deletion of 16q and amplification of 1q. The significance of establishing these secondary aberrations for prognosis is the focus of intensive research. However, **t(1;16)** translocation and trisomy or tetrasomy of chromosome 8 are appear to be indications of unfavorable prognosis of the disease.

Key words: Ewing sarcoma, PNET, translocation (11;22) and (21; 22), EWS/FLI1, EWS/ ERG, secondary chromosomal aberration.

Buňky v lidském těle jsou vystaveny celé řadě fyzikálních, chemických nebo biologických vlivů, které mohou indukovat poškození jejich genomu. Tyto chromozomální aberace a mutace genů se významně podílejí na vzniku nádorů, přičemž pro vznik a vývoj určitých nádorů jsou specifické konkrétní chromozomální aberace a genové mutace. Z toho vychází molekulárně genetická diagnostika a kombinovaná morfologická a genetická klasifikace nádorů. V dnešním pojetí patří k nádorům skupiny Ewingova sarkomu (dále jen Ewingův sarkom) vlastní Ewingův sarkom kostí, extraskeletální Ewingův sarkom a též periferní primitivní neuroektodermální nádor postihující kosti nebo měkké tkáně (PPNET, zkráceně **PNET**)¹. Ewingův

sarkom postihuje nejčastěji pánevní kosti, dlouhé kosti dolních končetin a hrudníku i měkké tkáně v těchto lokalizacích. Na rozdíl od osteosarkomu vychází kostní Ewingův sarkom z diafyzy. Metastazuje do plic, kostí a kostní dřevě, vzácněji do uzlin, jater a mozku. Metastázy jsou přítomny asi u 1/4 pacientů v době stanovení diagnózy. V literatuře byly popsány kazuistiky Ewingova sarkomu vycházející z různých orgánů například ledviny, močového měchýře, vaječníku, varlete, dělohy, plic, žaludku, slinivky, slinných žláz nebo mesenteria. Na našem pracovišti jsme diagnostikovali PNET ledviny, u kterého jsme prokázali specifickou translokaci **t(11; 22)** metodou RT-PCR nejen v nádoru, ale i v kostní dřevě, což svědčilo pro

minimální metastatické postižení². Ewingův sarkom patří k prognosticky méně příznivým onemocněním dětí a mladistvých a za poslední roky se, na rozdíl od řady jiných nádorů této věkové kategorie, nepodařilo výrazněji zlepšit jeho přežití.

Ewingův sarkom je po osteosarkomu druhým nejčastějším primárním maligním nádorem kostí starších dětí a mladých dospělých. U dospělých nad třicet let a dětí do pěti let je vzácný³. Incidence Ewingova sarkomu v populaci mladší dvaceti let je udávána přibližně 2,9 pacientů / milion za rok. Ewingův sarkom se více vyskytuje u mužů, kteří tvoří 55% pacientů s tímto nádorem⁴. Významné rozdíly výskytu jsou patrné v různých populacích. Převažuje postižení bělošské populace. Naopak u asiátů a populace afroamerické i u původních obyvatel subsaharské Afriky je výskyt Ewingova sarkomu šestkrát nižší než u bělochů. Vysvětlením může být délka repetitivních Alu sekvencí intronu 6, nacházejících se blízko oblasti translokačního zlomu Ewingova sarkomu. Alu sekvence jsou retropseudogeny (geny vzniklé zpětnou transkripcí z mRNA transkriptů strukturálních genů přemístovaných transpozicí v rámci genomu) o velikosti přibližně 300 nukleotidů, tvořící 5% lidské DNA. Repetitivní DNA sekvence, jako například Alu elementy, jsou oblastmi vysoké frekvence zlomů a tedy translokací. Velikost této sekvence v intronu 6 genu EWS je u části osob afrického původu zkrácena na polovinu homologní translokací mezi dvěmi Alu sekvencemi⁴. Na druhé straně z výsledků japonsko - německé studie vyplývá, že prognóza Ewingova sarkomu u bělochů je příznivější než u Japonců⁵. Dlouhou dobu panovaly rozpory v názorech na vznik Ewingova sarkomu. V současné době převládá názor, že nádorové buňky Ewingova sarkomu mají původ v prekursorových buňkách parasympatiku. Hlavním důkazem je průkaz cholecystokininu v buňkách Ewingova sarkomu a experimentální studie in vitro, kde cAMP, nervový růstový faktor (NGF) nebo forbol-myristát acetát indukovaly v buněčných liniích odvozených od Ewingova sarkomu tvorbu neurofilament⁶. Variabilní lokalizace nádorového onemocnění v kosti nebo měkkých tkáních různé lokalizace je způsobena přítomností pluripotentních kmenových buněk parasympatického nervového systému na mnoha místech organismu. Na původ z neurální tkáně je u Ewingova sarkomu možné usuzovat také z přítomnosti Homer-Wrightových rozet, neurosekretorických granul a imunocytochemicky detekovaných znaků typických pro neurální tkáň⁷.

Pro Ewingův sarkom jsou typické chromozomální aberace postihující gen EWS lokalizovaný na 22. chromozomu-**t(11;22)**(q24;q12), méně často **t(21;22)**(q22;q12) a sporadicky **t(7;22)**(p22;q12), **t(17;22)**(q12;q12), **t(2;22)**(q33;q12) nebo komplexní translokace zahrnující 11. a 22. chromozom. Tyto translokace specifické pro zařazení do skupiny Ewingova sarkomu spojují část genu EWS s některým z genů rodiny ETS. Gen FLI-1 je lokalizován na 11. chromozomu, gen ERG na 21. chromozomu, ETV-1 na 7. chromozomu, EIAF na 17. chromozomu a FEV na 2. chromozomu^{8,9}. UES byla popsána také inv 22 postihující geny EWS a ZSG¹⁰. Gen EWS se podílí na fúzních genech i u jiných nádorů- EWS/ATF1 (**t(12;22)**(q13;q12)) u sarkomů z jasných buněk a EWS/WT1 (**t(11;22)**(p13;q12)) u desmoplastických nádorů. Méně než 1% nádorů klasifikovaných jako Ewingův sarkom obsahuje fúzní gen FUS/ERG odpovídající translokaci **t(16;21)**(p11;q22)¹¹. U translokace **t(11;22)**(q24;q12) je podle zlomových míst

popisováno více typů. Nejčastější je 1. typ který spojuje exon 7 genu EWS s exonem 6 genu FLI1. 2. typ představuje fúzi exonu 7 genu EWS s exonem 5 genu FLI1. Typ 1 se vyskytuje přibližně u poloviny a typ 2 asi u čtvrtiny nádorů, zbytek tvoří vzácnější typy. Z literárních údajů i našich zkušeností vyplývá, že u nádorů s translokací 2. typu se častěji vyskytují metastázy¹².

Experimentálně byl prokázán význam fúzních genů a jejich proteinů pro maligní zvrstvení. Transformaci buněk a inhibici apoptózy vyvolá transfekce fibroblastů v tkáňové kultuře fúzním genem EWS/FLI1 - **t(11;22)**(q24;q12) nebo EWS/ERG - **t(21;22)**(q22;q12). Minimální velikost fúzního proteinu postačující k transformaci obsahuje prvních 82 aminokyselin EWS a část proteinu kódované posledním (devátým) exonem genu FLI1. Více výzkumných týmů již učinilo pokusy o využití poznatků molekulární biologie Ewingova sarkomu v jeho terapii. V experimentech in vitro a in vivo byly testovány antisense nukleotidy a siRNA inhibující fúzní geny EWS/FLI1 nebo EWS/ERG. Výsledky potvrzují, že inhibice těchto fúzních genů brzdí růst buněk Ewingova sarkomu^{14,15}.

Kromě uvedených translokací, které jsou považovány za primární, se u Ewingova sarkomu vyskytují také sekundární chromozomální aberace. Nejčastěji je detekována trizomie a tetrazomie 8. a 12. chromozomu a translokace **t(1;16)**(q10-21;q10-13). Tato translokace je často nebalancovaná a vede k delecí 16q a ke zmožnění 1q. Zda se tyto sekundární chromozomální aberace podílejí na vývoji chování Ewingových sarkomů není dosud zcela jasné. Trizomie 8. a 12. chromozomu je podle některých autorů prokazována častěji v nádorech relabujících než v nádorech vyšetřených v době stanovení diagnózy^{16,17}.

Vyšetření Ewingova sarkomu metodami molekulární cytogenetiky

Jedna z prvních studií zaměřená na vyšetřování pacientů postižených Ewingovým sarkomem analyzovala 20 vzorků Ewingových sarkomů od 17 pacientů¹⁸. Metodou srovnávací genomové hybridizace (CGH)¹⁹⁻²¹ bylo identifikováno u 75 % vyšetřovaných nádorů zmožnění a/nebo chybní genetického materiálu. Nejčastější změnou bylo zmožnění celého chromozomálního raménka nebo dokonce celého chromozomu. U 35% nádorů byl zmožněn genetický materiál 8. chromozomu, u 25% zmožnění 1q21-22 a u 25% zmožnění celého 12. chromozomu¹⁸. Podobné výsledky měla i rozšířená studie této pracovní skupiny. U 75% z 28 vyšetřovaných Ewingových sarkomů byly prokázány genetické změny. Nejčastější bylo zmožnění 8. chromozomu detekované u 36% nádorů. U 5 nádorů byl zmožněn úsek 1q21-22 a 5 nádorů mělo zmožněnou oblast 7q, 11% nádorů mělo zmožnění 6p21.1-pter, zmožnění 12. chromozomu a ztrátu 16q. V jiné studii bylo pomocí CGH vyšetřeno 62 (52 nádorů primárních a 10 recidiv) Ewingových sarkomů. Nejčastější změny zahrnovaly zmožnění 8., 12. a 20. chromozomu a 1q, ztráty 16q a 19q. Byly zjištěny časté kombinace zmožnění 8. a 12. chromozomu, zmožnění 20. chromozomu se zmožněním raménka 8q nebo 18q a ztráta 16q a 17p. Univariantní analýzy ukázaly, že pacienti se zmožněním 1q, 2q a 12. a 20. chromozomu nebo se ztrátou 16q²³ a 17p mají významně nižší celkové přežití než pacienti bez těchto aberací. V multivariantní analýze byla ztráta 16q nezávislým prognostickým faktorem²³. Brisset a spolupracovníci porovnali 21 lokalizo-

Tabulka 1.: Chromozomové změny u Ewingových sarkomů prokázané metodou CGH.

Pozn: Tučně zvýrazněné jsou časté změny. N- počet vyšetřených

Studie	N	CGH zmnožení	CGH ztráta
Armengol (1997)	20	1q21-22; 8; 12	
Tarkkanen (1999)	28	1q21-22; 6p21.1-pter; 7q; 8; 12	16q
Ozaki (2001)	62	1q; 8; 12; 20	16q; 19p
Brisset (2001)	43	1q; 2; 5; 8; 12; 15; 18; 20	16q

vaných nádorů s 22 metastazujícími nádory. U 63% nádorů (13 lokalizovaných a 14 metastazujících) zjistili genetické změny. Všechny změny se týkaly celých chromozomů nebo celých ramének chromozomů. U lokalizovaných nádorů bylo nejčastější změnou zmnožení 8., 12., 20. a 2. chromozomu. Méně častou změnou bylo zmnožení 5. a 15. chromozomu. V metastazujících nádorech bylo nejčastější změnou zmnožení 8. nebo 12. chromozomu a 1q, méně časté bylo zmnožení 18. a 20. chromozomu. Jedenkrát byla zjištěna ztráta 16q se současným zmnožením 1q představující nebalancovanou translokaci (1;16)²⁴. Amiel se spolupracovníky se zaměřil na korelaci změn genomu detekovaných metodami FISH a CGH s telomerázovou aktivitou zjišťovanou pomocí metody TRAPez. V celém souboru prokázali změny genomu u 12 z 15 pacientů. Zvýšená telomerázová aktivita byla prokázána u 10 z 15 testovaných nádorů. 80% nádorů se zvýšenou telomerázovou aktivitou vykazovalo genetické změny. Nebyl tedy rozdíl ve výskytu změn genomu v závislosti na telomerázové aktivitě. Z pacientů s aneuploidními nádory, na rozdíl od dětí s nádory diploidními, nepřežil nikdo 5 let²⁵. Tým japonských a německých autorů porovnával chromozomální změny u Ewingova sarkomu detekované metodou CGH u Japonců a bělochů. U Japonců našli častěji delecii 19p i 19q než u bělochů. Rovněž byl nalezen rozdíl ve výskytu jednotlivých typů fúzního genu EWS/FLI1- u Evropanů byl méně častý 1.typ .

Vyšetření Ewingových sarkomů na KDHO

Na klinice dětské hematologie a onkologie UK 2.LF a FN Motol jsme v letech 1999-2005 vyšetřili metodou RT PCR²⁶ 38 vzorků histologicky verifikovaných Ewingových sarkomů. 31x (81, 6 %) jsme prokázali fúzní transkript EWS/FL1, 4x (10,5 %) EWS/ERG a 3x (7,9 %) jsme fúzní gen nedetekovali²⁷. Naše nálezy jsou ve shodě se zahraničními literárními údaji^{8,9}.

Ewingovy sarkomy a nediferencované sarkomy morfolicky připomínající Ewingovy sarkomy jsme vyšetřili metodou CGH a RT PCR pro průkaz specifických translokací. U dvou nádorů Ewingova sarkomu hrudní stěny jsme prokázali specifickou translokaci (11;22) a našli zmnožení 8. chromozomu, které je považováno za sekundární změnu provázející horší prognózu. U pacienta s PNETem žebra jsme detekovali specifickou translokaci t(11;22), delecii 16q a zmnožení 1q 9q32-qter, které mohou odpovídat nebalancované translokaci (1;16). Dva ze tří nediferencovaných sarkomů, u kterých nebyla zjištěna translokace t(11;22), měli zmnožení 8. chromozomu. Tato změna tedy není specifická pro Ewingovy sarkomy a je nejspíše sekundární. U našich pacientů s Ewingovými sarkomy jsme našli metodou CGH změny popsané v literatuře - zmnožení 8.chromozomu, delecii 16q se zmnožením 1q.

Domníváme se, že přítomnost některých sekundárních změn může být v pozdější době používána k hodnocení prognózy onemocnění a volba léčby tím bude blíže stratifikována. U nádorů skupiny Ewingova sarkomu lze očekávat nalezení molekulárně genetických znaků s prediktivním významem a patrně i uplatnění některé z forem genové terapie (antisense nukleotidy nebo siRNA).

Práce vznikla za finanční podpory výzkumných záměrů MZCR 0021620813 a MŠMT 0021620813

Literatura:

- Dehner, L.P., *Primitive neuroectodermal tumor and Ewing's sarcoma*. Am J Surg Pathol, 1993. **17**(1): p. 1-13.
- Vicha, A., E. Stejskalova, D. Sumerauer, et al., *Malignant peripheral primitive neuroectodermal tumor of the kidney*. Cancer Genet Cytogenet, 2002. **139**(1): p. 67-70.
- Bernstein, M., H. Kovar, M. Paulussen, et al., *Ewing's sarcoma family of tumors: Ewing's sarcoma of bone and soft tissue and the peripheral primitive neuroectodermal tumors*. in: Pizzo PA, Poplack DG eds. Principles and practice of pediatric oncology. Lippincott Williams & Wilkins, 2006.
- Ozaki, T., K.L. Schaefer, D. Wai, et al., *Population-based genetic alterations in Ewing's tumors from Japanese and European Caucasian patients*. Ann Oncol, 2002. **13**(10): p. 1656-64.
- Eckschlager, T., A. Vicha, V. Smelhaus, et al., *Molekulární biologie nádorů ze skupiny Ewingova sarkomu*. Klinická onkologie, 1999. **12**: p. 124-127.
- Horowitz, M.E., M.G. Tsokos, and T.F. DeLaney, *Ewing's sarcoma*. CA Cancer J Clin, 1992. **42**(5): p. 300-20.
- Ida, K., S. Kobayashi, T. Taki, et al., *EWS-FLI-1 and EWS-ERG chi-*

- meric mRNAs in Ewing's sarcoma and primitive neuroectodermal tumor*. Int J Cancer, 1995. **63**(4): p. 500-4.
- Ginsberg, J.P., S.Y. Woo, M.E. Johnson, et al., *Ewing's sarcoma family of tumors: Ewing's sarcoma of bone and soft tissue and the peripheral primitive neuroectodermal tumors*. in: Pizzo PA, Poplack DG eds. Principles and practice of pediatric oncology. Lippincott Williams & Wilkins, 2002.
- Mastrangelo, T., P. Modena, S. Tornietti, et al., *A novel zinc finger gene is fused to EWS in small round cell tumor*. Oncogene, 2000. **19**(33): p. 3799-804.
- Shing, D.C., D.J. McMullan, P. Roberts, et al., *FUS/ERG gene fusions in Ewing's tumors*. Cancer Res, 2003. **63**(15): p. 4568-76.
- Zoubek, A., B. Dockhorn-Dworniczak, O. Delattre, et al., *Does expression of different EWS chimeric transcripts define clinically distinct risk groups of Ewing tumor patients?* J Clin Oncol, 1996. **14**(4): p. 1245-51.
- Dittner, J. and A. Nordheim, *ETS transcription factors and human disease*. Biochimica Biophysica Acta, 1988. **F1**: p. 1377-1380.
- Lambert, G., J.R. Bertrand, E. Fattal, et al., *EWS fli-1 antisense nanocapsules inhibits ewing sarcoma-related tumor in mice*. Biochem Biophys Res Commun, 2000. **279**(2): p. 401-6.
- Dohjima, T., N.S. Lee, H. Li, et al., *Small interfering RNAs expressed from a Pol III promoter suppress the EWS/Flt-1 transcript in an Ewing sarcoma cell line*. Mol Ther, 2003. **7**(6): p. 811-6.

16. Maurici, D., A. Perez-Atayde, H.E. Grier, et al., *Frequency and implications of chromosome 8 and 12 gains in Ewing sarcoma*. Cancer Genet Cytogenet, 1998. **100**(2): p. 106-10.
17. Eckschlagler, T. and R. Prusa, *Laboratorní vyšetření v onkologii*. 2002, Praha: Triton.
18. Armengol, G., M. Tarkkanen, M. Virolainen, et al., *Recurrent gains of 1q, 8 and 12 in the Ewing family of tumours by comparative genomic hybridization*. Br J Cancer, 1997. **75**(10): p. 1403-9.
19. Kallioniemi, A., O.P. Kallioniemi, D. Sudar, et al., *Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors*. Science, 1992. **258**(5083): p. 818-21.
20. Kallioniemi, A., O.P. Kallioniemi, J. Piper, et al., *Detection and mapping of amplified DNA sequences in breast cancer by comparative genomic hybridization*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1994. **91**(6): p. 2156-60.
21. Weiss, M.M., M.A. Hermsen, G.A. Meijer, et al., *Comparative genomic hybridisation*. Mol Pathol, 1999. **52**(5): p. 243-51.
22. Tarkkanen, M., S. Kiuru-Kuhlefelt, C. Blomqvist, et al., *Clinical correlations of genetic changes by comparative genomic hybridization in Ewing sarcoma and related tumors*. Cancer Genet Cytogenet, 1999. **114**(1): p. 35-41.
23. Ozaki, T., M. Paulussen, C. Poremba, et al., *Genetic imbalances revealed by comparative genomic hybridization in Ewing tumors*. Genes Chromosomes Cancer, 2001. **32**(2): p. 164-71.
24. Brisset, S., G. Schleiermacher, M. Peter, et al., *CGH analysis of secondary genetic changes in Ewing tumors: correlation with metastatic disease in a series of 43 cases*. Cancer Genet Cytogenet, 2001. **130**(1): p. 57-61.
25. Amiel, A., A. Ohali, M. Fejgin, et al., *Molecular cytogenetic parameters in Ewing sarcoma*. Cancer Genet Cytogenet, 2003. **140**(2): p. 107-12.
26. Sumerauer, D., A. Vicha, H. Kucerovala, et al., *Detection of minimal bone marrow infiltration in patients with localized and metastatic Ewing sarcoma using RT-PCR*. Folia Biol (Praha), 2001. **47**(6): p. 206-10.
27. Sumerauer, D., A. Vicha, A. Hrubá, et al. *Význam detekce minimální nádorové choroby u pacientů s nádory Ewingova sarkomu/pPNETu metodou RT-PCR*. in 15. konference dětských hematologů a onkologů ČR a SR. 2005. České Budějovice.

Došlo: 2. 7. 2006
Přijato: 3. 10. 2006

Informace - recenze

AUGUSTÍN PROCHOTSKÝ: KARCINÓM HRUBÉHO ČREVA A KONEČNÍKA.

Litera Medica, Bratislava 2006, náklad 1500 výtisků, ISBN 80-967189-4-0

Monografie o 652 stranách, 1. vydání, předmluvu napsal prof. MUDr. Jiří Hoch, CSc.

Kniha je přehledně členěna do 36 kapitol, ve kterých postupuje autor systematicky od incidence a epidemiologie, etiopatogenezy, rizikových skupin a rizikových faktorů, přes prevenci, screening, symptomatologii, diagnostiku, diferenciální diagnostiku, polypektomie, patologickou anatomii, klasifikaci, progresi a prognostické faktory. Pokračuje úlohou patologa a originálními anatomickými studiemi, různými terapeutickými modalitami včetně léčby lokální, paliativní a adjuvantní. Nepominul pokročilá stadia, léčbu bolesti. Z chirurgických postupů se věnuje hodnocení různých typů anastomóz, technice stomií a rovněž hodnotí přínos laparoskopických přístupů. Dále zmiňuje faktory, ovlivňující výsledky léčby, otázky prevence trombembolické choroby, rizikové faktory a končí dispenzarizací nemocných.

Docent Prochotský dokončil obdivuhodné dílo, které v české i slovenské literatuře v podobném rozsahu dlouho chybělo. Pravděpodobně poslední slovenská monografie na podobné téma banskobystřického Antona Pelikána je z roku 1985. V Česku vyšlo v posledních letech několik stručnějších publikací s tématem kolo-

rektální či rektální karcinom (L. Holubec 2004, Markéta Jablonská 2000, 2004, Kamil Vysloužil 2005).

Na monografii je obdivuhodné, že byla zpracována jediným autorem (kromě kapitoly o léčbě bolesti, na které se podílela L. Nemčíková).

Kniha je formátu A4, velmi kvalitně provedená. Je velice přehledná a navíc obsahuje i CD verzi. Počet citací je rovněž hodný obdivu: (1930). Je bohatě doprovázená schémata i barevnými obrázky (530) a přehlednost zvyšuje i počet tabulek (90).

Publikace je určena nejen začínajícím a zkušeným chirurgům, ale i gastroenterologům a širší lékařské veřejnosti. Mnohá poučení v najdou i patologové a onkologové, jakož i další specialisté.

Kniha má i některé drobné nedostatky. Jako většina slovenských a českých publikací věnuje malou pozornost vlastním písemnictvím. Stejnou měrou opomíjí publikace našich sousedů a východní Evropy vůbec. Některé kapitoly jsou příliš stručné (kalkulace operačního rizika, karcinom análního kanálu), jiné zase naopak svým rozsahem převyšují význam tématu (mechanická příprava střeva před operací), kam je zařazena navíc i antibioprophylaxe. V kapitole o adjuvantní radioterapii se tato zaměřuje s terapií neoadjuvantní.

Publikace A. Prochotského by neměla chybět v žádné knihovně chirurgického pracoviště a jistě najde cestu k řadě kolegů s hlubším zájmem o kolorektální karcinom, který je svojí incidencí závažným medicínským a společenským problémem v Česku i na Slovensku.

SkříčkaT.

HODNOCENÍ MEDICÍNSKO - EKONOMICKÝCH UKAZATELŮ PALIATIVNÍ PÉČE U ONKOLOGICKÝCH NEMOCNÝCH

THE EVALUATION OF MEDICAL AND ECONOMIC INDICES OF PALIATIVE CARE IN ONCOLOGIC PATIENTS

S. FILIP¹, V. SVOBODA¹, M. ZOUHAR¹, A. MOUDRÁ¹, M. JANDOVÁ¹, D. MILKA², J. PETERA¹

¹KLINIKA ONKOLOGIE A RADIOTERAPIE LF UK A FN, HRADEC KRÁLOVÉ

²ODBOR FINANCÍ A ANALÝZ FN, HRADEC KRÁLOVÉ

Souhrn

Proměny v naší společnosti a následně i ve zdravotnictví po roce 1989, tj. v posledních 15 letech, přinesly celou řadu významných změn. K těm jistě pozitivním patří větší autonomie každého jedince a přiblížení zdravotnických služeb konkrétní a efektivní péči o pacienta. Na tyto následné a nutné ekonomické, etické i sociální změny nejsme mnohdy dosud připraveni. Proto je jistě záslužná každá snaha nalézat optimální podklady pro kvalitní organizační opatření, splňující současné potřeby společnosti. Do uvedené studie bylo zařazeno celkově 118 nemocných, z toho 110 (93.2%) mužů a 8 (6.8%) žen. Průměrný věk mužů byl 57.2 roku (rozdíl 21-82 let) a průměrný věk žen byl 52.3 roku (rozdíl 37-73). Při ekonomickém hodnocení sledované skupiny nemocných s paliativní péčí a ostatních nemocných radikálně léčených na lůžkovém oddělení kliniky, lze říci, že náklady jsou u paliativní péče vyšší. Náklady přepočtené na ošetřovací den a pacienta v letech 2004 a 2005 byly u nemocných v paliativní léčbě 2411 Kč, proti 2155 Kč u ostatních pacientů. Náklady na „vyžádanou péči“ u nemocných s paliativní péčí byly v průměru 955 Kč oproti 973 Kč u ostatních nemocných kliniky. To je prakticky stejná částka u obou skupin. To potvrzuje předpoklad, že nemocný s paliativní péčí vyžaduje minimálně stejné náklady na diagnostiku a léčbu aktuálního stavu (restaging), tj. změn v onkologickém onemocnění i vedlejších efektů vlastní onkologické léčby, má-li být léčba účelně indikována. Dále např. při hodnocení v počtu podaných transfuzí není významných rozdílů. Hlavním přínosem této studie bylo vyhledání a definování některých důležitých medicínsko-ekonomických, kvantitativních i kvalitativních faktorů, charakterizujících činnost naší onkologické léčby a charakterizují tak blíže paliativní péči na lůžkové části onkologického oddělení. Podklady mohou umožnit zkvalitnit tuto péči, ale mohou i pomoci vytvořit ekonomické podmínky pro její realizaci bez poklesu péče o pacienty. Zpracované údaje jsou také jistě nezbytné pro jednání se zdravotními pojišťovnami.

Klíčová slova: paliativní péče, podpůrná péče, onkologický pacienti, ekonomické hodnocení.

Summary

Changes in our society and, consequently, in our Health Care System during the 15 years after 1989 have brought many important modifications. The definitely positive changes are greater autonomy and actual health services coming closer to the model of effective care for an individual patient. However, we are not prepared for these necessary changes - economical, ethical and social. That is why every effort is praiseworthy to find and establish such organizational measures to meet the needs of today's society. A total of 118 oncologic in-patients were admitted to this study, 110 men (93.2%) and 8 women (6.8%). Mean age of the male patients was 57.2 years (range 21-82 years) and mean age of the female patients was 52.3 years (range 37-73 years). Economic evaluation in this group of patients showed that palliative care was more expensive than radical therapeutic regimens given to the rest of the treated patients. In the years 2004 and 2005 expenses calculated for 1 nursing day per 1 patient with palliative care were 2411 Czech Crowns versus 2155 Czech Crowns in other patients. Mean expenses for „care by request“ in palliative care patients were 955 Czech Crowns versus 973 Czech Crowns in the rest, practically the same amount in both groups. This also supports the presumption that the patient on palliative care requires at minimum the same expenses as are needed for diagnosis (restaging) and therapy of patient's actual condition - in oncologic disease also side-effects are included, should the therapy be well targeted. No significant differences were recorded evaluating numbers of given transfusions. In this study, the main objective was to find and define several important medical, economical, quantitative and qualitative factors, which characterize the activity of our oncologic therapy and closer palliative care provided at the in-patient part of an oncologic ward. The results obtained may allow to improve this care but also help to create economic conditions for its realization without decreasing its quality. Initial processed data will be needed for negotiations with health insurance companies, too.

Key words: palliative care, supportive care, oncology patients, economical evaluation.

Úvod.

Změny v naší společnosti a následně i ve zdravotnictví po roce 1989 přinesly celou řadu významných změn. K těm jistě pozitivním patří větší autonomie každého jedince a při-

blížení zdravotnických služeb konkrétní a efektivní péči o pacienta. Na tyto následné a nutné ekonomické, etické i sociální změny nejsme mnohdy dosud připraveni. Proto je jistě záslužná každá snaha nalézat optimální podklady

pro kvalitní organizační opatření, splňující současné potřeby společnosti.

V roce 2004 jsme se zahájili projekt pod názvem „Centrum paliativní medicíny“. Tento projekt jsme rozpracovali na podmínky a možnosti Onkologické a radioterapeutické kliniky LFUK a FN v Hradci Králové. Jeho hlavním cílem bylo aktivně se podílet na realizaci a rozvoji paliativních postupů u onkologických nemocných na lůžkovém oddělení kliniky. V rámci tohoto projektu jsme připravili formulaci návrhů organizačních opatření s návazností onkologické péče na spádová odborná oddělení nemocnic, zařízení „následné péče“ i na činnost agentur domácí péče v našem regionu.

Řada onkologických onemocnění nese s sebou rozhodnutí o způsobu dalšího léčebného postupu a zejména o účelnosti (1,2,3). Definice paliativní péče je velice obtížná a proto použijeme definici podle WHO: „Paliativní medicína je celková léčba a péče o nemocné, jejichž nemoc nereaguje na kurativní léčbu. Nejdůležitější je léčba bolesti a dalších symptomů, stejně jako řešení psychologických, sociálních a duchovních problémů nemocných. Cílem paliativní medicíny je dosažení co nejlepší kvality života nemocných a jejich rodin“ (3).

V období přípravy a realizace programu paliativní péče jsme si uvědomovali jeden z problémů: vztah komunikace s pacientem v kontextu ekonomického pohledu na nádorové onemocnění. Správný způsob komunikace s pacientem umožňuje odborně i lidsky řídit aktivní léčbu po celé období onkologického onemocnění. Potvrdilo se, že často i dobré teoretické znalosti lékaře v onkologii naráží na medicínsko-ekonomické problémy a jejich zlehčování vede jak k problémům v komunikaci, tak k dalším problémům např. zvýšená četnost stížností na zdravotní péči. Oblast paliativní léčby u onkologických nemocných je tomu příkladem. Bez získání potřebných zkušeností dlouhodobější praxí a výcvikem v komunikaci, ale osvojení si i např. racionálního ekonomického myšlení, není možné v současné době paliativní medicínu provozovat. Toto bohužel dosud není součástí vysokoškolského medicínského vzdělání (1,3,4,5). Problém komunikace s pacientem a jeho rodinou je úzce spojen s medicínsko-ekonomickým zázemím zdravotnického zařízení. Lékař ve svém konání musí mít určeny jasné pravidla např. ekonomické kalkulace léčby a vyžádané péče. Měl by mít představu o tom „kolik stojí jeho pacient“ a tím dále „jak drahou péči je možno mu poskytovat“. Pacient i jeho rodina vyžaduje převážně pravdivou a „plnou“ informovanost na jedné straně, ale na druhé straně se dále již otázka „nákladů na zdravotní péči“ ztrácí. Pacient sám však není vždy na prognosticky závažnou konkrétní informaci připraven. Dnes můžeme bez obalu říct, že ani na „ekonomický dopad“ své nemoci. V tomto procesu je nutno zvážit jeho aktuální zdravotní stav i rozsah jím skutečně požadované informace. Provést následně kalkulaci aktuálně potřebné a také předpokládané zdravotní péče. Vytvořit podmínky pro nutná opatření, která mohou významně přispět k tomu, že se vyhneme problémům jak v oblasti informovanosti pacienta, tak v oblasti zabezpečení potřebné zdravotní péče. Lékař stojí před těžkou situací: v rozhovoru nesmí být pacientovy zastírána závažná povaha onemocnění, ale na druhé straně vždy mu musí zůstat určitý i když postupně klesající stupeň naděje - cíl léčebného úsilí: vyléčení, prodloužení limitované doby života

a konečně i udržení alespoň únosné kvality života (2,6,7). Kvalita zdravotní péče a tedy i kvalita života nemocného je projevem dodržování jasně definovaných medicínsko-ekonomických pravidel.

Lékař léčí pacienta multimodální specifickou onkologickou léčbou. Včas však musí volit co nejracionalnější komplexní symptomatickou a podpůrnou léčbu, jestliže přechází modalita nepřináší pacientovi očekávaný efekt a mohou být pro něj naopak v dané fázi onemocnění i zátěží. Technická sofistikovaná medicína je hlavním obsahem studia lékaře a dosažené dnešní nesporné úspěchy často zastírají léčebné limity v očekávaném maximálním efektu, to je vyléčení. Jde zejména o biologickou povahu zhoubných nádorů. Lokální léčebný efekt je omezen rizikem metastazování. Řada postupů se snaží také o částečnou kompenzaci nespecifičnosti chemoterapie. Proto dochází k postupnému snižování úspěšnosti aktivní specifické léčby nádorů, i přes dodržení standardních doporučených postupů. Zvláště u některých diagnóz, nelze chápat výsledný efekt léčby méně zkušeným lékařem jako „selhání“ léčby. Nelze ale také bez trvalé kontroly dosažení pozitivního očekávaného efektu, pokračovat v neúčelné léčbě (3,8,9). Můžeme zde potvrdit, že neúčelná léčba je drahá léčba a v tomto období „ztrácíme“ prostředky, které by bylo možné využít v účelné a dobře vedené paliativní léčbě.

Nemocný musí být (pokud to situace dovoluje) informován o možnostech a limitech naší účelné paliativní léčby, dalších kontrolách i o možnostech, které poskytují zařízení v okolí bydliště. Zvažována byla vždy i účelnost pomoci agentur domácí péče ve spolupráci s praktickým lékařem, pokud to stav pacienta a rodinná situace umožňovala. Účelná je vždy spolupráce se sociálními pracovníky příslušného zařízení (2,10).

Získané výsledky naší pilotní studie ukazují na nutnost pokračovat ve výše uvedených medicínsko-ekonomické analýze s cílem hledání a výběru vhodných parametrů sledování paliativní péče onkologických pacientů.

Soubor nemocných a metodika.

Do studie byli zařazeni nemocní léčení na Klinice onkologie a radioterapie LFUK a FN v Hradci Králové od 1.8.2004 do 30. 8. 2005. Nemocní byly vybíráni do sledování průběžně podle toho, jak byly hospitalizováni na lůžkovém oddělení kliniky.

Do studie bylo zařazeno celkově 118 nemocných z toho 110 (93.2%) mužů a 8 (6.8%) žen. Průměrný věk mužů byl 57.2 roku (rozdíl 21-82 let) a průměrný věk žen byl 52.3 roku (37-73). Do studie jsme nezařazovali nemocné, kteří se léčili pro duplicitní nebo triplicitní tumor. Jejich Karnofského index (KI) byl v průměru 70% (rozdíl 54%-84%) viz. Tab. 1. Dále jsme nemocné rozdělili podle dalších kritérií a dle diagnózy viz. Tab. 2.

Soubor nemocných byl vybrán náhodně podle data přijetí na lůžkové oddělení. Analýza byla provedena formou sledování medicínsko-ekonomických ukazatelů (viz. příloha programu sledování). Zahrnuta byla i léčba podpůrná. A to např. počet dní vyžadujících podpůrnou infúzní léčbu, počet dní s febrilní neutropenií, počet dní s i.v. aplikací antibiotik, počet transfúzí, počet trombo-náplavů, ekonomická kalkulace přepočtena na den hospitalizace atd. Vytvořením vhodného programu a výběru dat medicínských i ekonomických bylo možno určit prediktivní faktory pro paliativní péči.

Tabulka 1.: Soubor nemocných

Věk	Muži	Ženy	Celkový počet	Karnofského index
Starší 80 let	5 (4.1%)	0	5 (4.1%)	58% (50-71%)
71-80 let	27 (22.8%)	1 (0.9%)	28 (23.7%)	64% (58-82%)
61-70 let	41 (34.5%)	1 (0.9%)	42 (35.4%)	71% (69-85%)
51-60 let	23 (19.5%)	2 (1.8%)	25 (21.3%)	69% (64-84%)
41-50 let	8 (6.8%)	3 (2.7%)	11 (9.5%)	76% (71-88%)
Mladší 40 let	6 (5.1%)	1 (0.9%)	7 (6.0%)	80% (76-92%)

Tabulka 2.: Rozdělení souboru nemocných podle diagnózy

Diagnóza	Muži	Ženy	Celkový Počet
C16	9	0	9 (7.6%)
C18	12	0	12 (10.1%)
C19	16	2	18 (15.3%)
C20	17	0	17 (14.5%)
C34	14	0	14 (11.9%)
C50	0	6	6 (5.1%)
C61	12	0	12 (10.1%)
C64	15	0	15 (12.7%)
C71	15	0	15 (12.7%)

Rozdělení podle stadia nemoci bylo následující: v stadiu I-III. bylo 38 nemocných, v stadiu III. bylo 49 nemocných a v stadiu IV bylo 16 nemocných. Bez určení stadia bylo 15 nemocných.

Zdravotní kategorie nemocných byla vykazována u všech hospitalizovaných pacientů za každý den hospitalizace, kromě dne ukončení hospitalizace viz. Vyhledávka MZ ČR č. 493/2005 Sb. Při první hospitalizaci a zařazení do programu sledování byly následující: kategorie 2 byla u 20 (16.9%) nemocných, kategorie 3 byla 73 (61.9%) nemocných a kategorie 4 byla 25 (21.2%) nemocných.

Pro účely ekonomického hodnocení se v tomto článku používá obvyklá veličina, celková velikost nákladů na poskytnutou zdravotní péči. Náklady jsou v tomto případě tvořeny cenami, účtovanými v daném období zdravotním pojišťovnám z vykázaných výkonů včetně zvlášť účtovaných léčiv (ZULP) a zdravotnického materiálu (ZUM) a neobsahují položky za léky z individuální preskribce. Všechna potřebná data ekonomického charakteru byla získána z nemocničního informačního systému FN.

Statistické hodnocení

Výsledky byly zpracovány standardními nástroji programu MS Excell.

Pro numerické hodnoty byly vypočteny průměrné hodnoty pro celý soubor pacientů.

Jako hlavní ekonomický ukazatel byly v první fázi vybrány celkové náklady na léčbu. Byly sledovány průměrné náklady v závislosti na době hospitalizace, při léčbě vedlejších projevů a komplikací zdravotního stavu při radikální onkologické léčbě, podpůrné léčbě a dle kategorií pacientů. Výsledky byly hodnoceny Studentovým t-testem.

Výsledky.

Na Klinice onkologie a radioterapie LF UK a FN v Hradci Králové bylo v období od 1.8.2004 do 30.8.2005 hodnoceno 118 nemocných.

Relaps základního onemocnění byl popsán u všech sledovaných nemocných. Lokální recidiva byla popsána

u 44 (37.3%) nemocných. Distanční metastázy byly popsány u 114 (96.6%) nemocných.

Metastatické postižení skeletu bylo popsáno u 41 (36%) nemocných, jater u 31 (27.2%) nemocných, plic u 25 (21.9%) nemocných, mozku u 16 (14%) nemocných, kůže u 1 (0.9%) nemocného a u 4 (3.4%) nemocných nebyly zaznamenány žádné distanční metastázy. Jeden orgán mělo postiženo 31 (27.5%) nemocných, dva orgány 37 (32.5%) nemocných, tři orgány 13 (11.4%) nemocných a čtyři orgány 1 (0.9%) nemocný.

Počet nemocných, kteří absolvovali operaci pro nádorové onemocnění před zařazením do programu sledování bylo 80 (67.8%) a reoperovaných nemocných bylo 24 (20.3%). Počet nemocných neoadjuvantně ozářených bylo 27 (22.9%) a adjuvantně ozářených před zařazením do programu sledování bylo 57 (48.3%).

Neoadjuvantní chemoterapii mělo 17 (14.4%) nemocných, adjuvantní chemoterapii mělo 60 (50.8%) nemocných. Chemoterapii ve 2. linii mělo 33 (28%) nemocných a chemoterapii v 3. linii mělo 15 (12.7%) nemocných.

Ze souboru sledovaných nemocných zemřelo doma 8 (6.8%) nemocných, na lůžkovém oddělení kliniky 41 (34.7%) nemocných, na lůžkách následné péče 3 (2.5%) nemocní a v hospici 17 (14.4%) nemocných. Ke dni 30.8.2005 žilo ze sledovaného souboru 49 (41.5%) nemocných

Nemocní byli hospitalizováni v průměru 2.1 krát (rozmezí 1- 3 krát).

Klinické sledování v průběhu období vstupní hospitalizace:

Počet nemocných hospitalizovaných byl 118, průměrná doba hospitalizace byla 27.1 dne (rozdíl 16-32 dní). Rozdělení komplikací a podpůrné léčby v průběhu první hospitalizace, viz. Tab. 3.

Tabulka 3.: Hodnocení jednotlivé hospitalizace – 1. (první)

	Počet nemocných	Průměrný počet dní	Klasifikace dle WHO (median)
Komplikace			
Febrilní stav (teplota > 38,5°C)	13 (11%)	4.6 (2-6 dní)	2
Anemie	31 (26.3%)	8.7 (5-11 dní)	3
Trombocytopenie	18 (15.3%)	3.8 (2-7 dní)	3
Průjem	32 (27.1%)	12.4 (6-17 dní)	2
Zvracení	57 (48.3%)	4.2 (1-7 dní)	2
Renální insuficience	3 (2.5%)	12.7 (8-19 dní)	2
Neurotoxita	1 (0.9 %)	12 dní	2
Podpůrná léčba			
Infúzní léčba	88 (74.6%)	16.5 (12-23 dní)	
Léčba s ATB	42 (35.6%)	9.4 (7-14 dní)	
Korekce anemie (EM)	28 (23.7%)		
Korekce trombocytopenie	11 (9.3%)		
Plasma	1 (0.9%)		

Zdravotní kategorie nemocných byly následující: kategorii 1 neměl žádný nemocný, kategorii 2 mělo 20 (17%) nemocných, kategorii 3 mělo 73 (62%) nemocných, kategorii 4 mělo 25 (21%) nemocných a kategorii 5 neměl žádný nemocný.

Počet nemocných plně informovaných o svém zdravotním stavu bylo 106 (90%) a počet nemocných, u kterých byla plně informována jeho rodina byl 116 (98%).

Průměrný počet podaných transfuzí u nemocných v průběhu první hospitalizace byl 2.5 (rozdíl 2-4), trombocytárních náplavů ze separátoru byl 1.2 (rozdíl 1-3) a u jednoho nemocného musela být podána plasma ve standardní dávce. Náklady na lůžko a den byly 2811.5 Kč.

Klinické sledování v průběhu druhé hospitalizace:

Počet nemocných podruhé hospitalizovaných byl 52 (44.1%), průměrná doba hospitalizace byla 17.4 dne (rozdíl 12-25 dní). Rozdělení komplikací a podpůrné léčby v průběhu druhé hospitalizace, viz. Tab. 4.

Tabulka 4.: Hodnocení jednotlivé hospitalizace – 2. (druhé)

	Počet nemocných	Průměrný počet dní	Klasifikace dle WHO (median)
Komplikace			
Febrilní stav (teplota > 38,5°C)	3 (5.7%)	5.3 (3-8 dní)	2
Anemie	15 (28.8%)	13.7 (5-11 dní)	3
Trombocytopenie	8 (15.3%)	3.2 (2-5 dní)	3
Průjem	25 (48.1%)	9.4 (5-11 dní)	2
Zvracení	27 (51.9%)	4.1 (2-6 dní)	2
Renální insuficience	0		
Neurotoxická	0		
Podpůrná léčba			
Infúzní léčba	47 (90.1%)	10.9 (6-18 dní)	
Léčba s ATB	15 (35.6%)	8.1 (7-13 dní)	
Korekce anemie (EM)	14 (26.9%)		
Korekce trombocytopenie	7 (13.5%)		
Plasma	0		

Zdravotní kategorie (dle VZP) nemocných byly následující:

Kategorii 1 neměl žádný nemocný, kategorii 2 mělo 5 (9.5%) nemocných, kategorii 3 mělo 32 (61.5%) nemocných, kategorii 4 mělo 15 (29%) nemocných a kategorii 5 neměl žádný nemocný.

Počet nemocných plně informovaných o svém zdravotním stavu bylo 46 (88.5%) a počet nemocných u kterých byla plně informována jeho rodina byl 52 (100%).

Průměrný počet podaných transfuzí u nemocných v průběhu druhé hospitalizace byl 2.3 (rozdíl 1-4), trombocytárních náplavů ze separátoru byl 1.6 (rozměří 1 až 2).

Náklady na lůžko a den byly 2306.3 Kč.

Klinické sledování v průběhu třetí hospitalizace:

Počet nemocných potřeží hospitalizovaných byl 16 (13.6%), průměrná doba hospitalizace byla 11.5 dne (rozměří 7-18 dní). Rozdělení komplikací a podpůrné léčby v průběhu hospitalizace, viz. Tab. 5.

Zdravotní kategorie nemocných (dle VZP) byly následující:

Kategorii 1 neměl žádný nemocný, kategorii 2 měli 2 (12.4%) nemocní, kategorii 3 mělo 7 (43.8%) nemocných, kategorii 4 mělo 7 (43.8%) nemocných a kategorii 5 neměl žádný nemocný.

Počet nemocných plně informovaných o svém zdravotním stavu bylo 12 (75%) a počet nemocných, u kterých byla plně informována jeho rodina bylo 16 (100%).

Průměrný počet podaných transfuzí u nemocných v průběhu druhé hospitalizace byl 3.2 (rozdíl 2-4), trombocytár-

Tabulka 5.: Hodnocení jednotlivé hospitalizace – 3. (třetí)

	Počet nemocných	Průměrný počet dní	Klasifikace dle WHO (median)
Komplikace			
Febrilní stav (teplota > 38,5°C)	12 (5.7%)	3.1 (3-6 dní)	2
Anemie	3 (18.8%)	4.6 (3-8 dní)	3
Trombocytopenie	3 (18.8%)	3.7 (2-5 dní)	3
Průjem	6 (37.5%)	8.8 (6-14 dní)	3
Zvracení	4 (25%)	5.8 (3-8 dní)	3
Renální insuficience	3 (18.8%)	9.3 (6-12 dní)	3
Neurotoxická	0		
Podpůrná léčba			
Infúzní léčba	11 (68.8%)	8.7 (7-16 dní)	
Léčba s ATB	4 (25%)	5.1 (7-12 dní)	
Korekce anemie (EM)	3 (18.8%)		
Korekce trombocytopenie	3 (18.8%)		
Plasma	0		

ních náplavů ze separátoru byl 2.1 (rozdíl 1-2). Náklady na lůžko a den byly 2116.6 Kč.

Klinické sledování v průběhu všech hospitalizací na lůžkovém oddělení:

Počet dní ošetrovatelské péče na lůžku: průměrný počet byl 35.6 dne (rozměří 3-192 dní).

Objektivně dokladované zvýšené nároky na ošetrovatelskou péči na lůžku byly u 117 (99.1%) nemocných.

Hodnocení spolupráce nemocného: 91 (77.1%) nemocných spolupracovalo dobře, 22 (18.6%) nemocných mělo snahu spolupracovat, 2 (1.8%) nemocní neměli zájem spolupracovat a 3 (2.5%) nemocní nespoupracovali.

Počet nemocných, kteří chtěli hovořit o své diagnóze (a prognóze):

80 (67.8%) nemocných chtělo hovořit vždy, 28 (23.7%) nemocných nechťelo hovořit vůbec, 9 (7.7%) nemocných se snažilo hovořit o své diagnóze a prognóze a 1 (0.8%) nemocný neměl vůbec zájem hovořit o své diagnóze a prognóze.

Počet nemocných informovaných o možnostech další hospitalizace na lůžkách následné péče nebo hospicových lůžkách: 53 (44.9%) bylo informováno a 65 (55.1%) nemocných nebylo plně informováno.

Počet nemocných, kteří aktivně využívali možnosti domácí péče a spolupráce s obvodním lékařem: 93 (78.7%) nemocných využívalo jak domácí péče, tak spolupráce s obvodním lékařem, 23 (19.5%) nemocných buď využívalo nepravidelně jak domácí péči tak spolupráci s obvodním lékařem. 2 (1.8%) nemocní neměli zájem ani o domácí péči ani o spolupráci s obvodním lékařem.

Počet nemocných spokojených s péčí a léčbou (v průběhu našeho sledování): 101 (85.6%) bylo spokojeno, 3 (2.5%) nemocní nebyli spokojeni, 13 (11.1%) nemocných spíše ano a 1 (0.8%) nemocný spíše ne.

Ekonomické hodnocení paliativní léčby na lůžkovém oddělení:

Kritériem pro zařazení nemocných do paliativní péče bylo: 1. Ukončení aktivní specifické onkologické léčby.

2. Pobyt nemocného na našem lůžkovém oddělení před dalším překladem do spádu nebo k domácí péči.

Tabulka č. 6.: Hodnocení nákladů na léčbu nemocných zařazených do sledování

Pacienti	Počet pacientů	Průměrné náklady na pacienta v Kč	Průměrné náklady na oš. den v Kč
Jenom ozáření	723	53 910	1 911
Jenom chemoterapie	230	48 733	2 974
Ozáření a chemoter.	257	93 146	2 340
Celkem	1210	61 259	2 155
Paliativní péče	118	65 854	2 411

Z tabulky č.6 lze říci, že paliativní péče v našem souboru nemocných byla následující:

náklady, přepočtené na ošetrovací den a pacienta v letech 2004 a 2005, byly u nemocných v paliativní léčbě 2411 Kč proti ostatním pacientům 2155 Kč náklady na vyžádanou péči u nemocných v paliativní péči byly 955 Kč proti 973 Kč u ostatních nemocných.

Při ekonomickém hodnocení sledované skupiny paliativních nemocných a ostatních nemocných léčených na lůžkovém oddělení kliniky lze říci, že náklady jsou vyšší u nemocných s paliativní léčbou (n=118) za podmínek správného výběru ekonomicky i onkologicky zdůvodněných diagnostických a léčebných postupů. Dále ekonomické zhodnocení nákladů na vyžádanou péči je zhruba stejné u obou skupin, což potvrzuje předpoklad, že nemocný s paliativní péčí vyžaduje minimálně stejné náklady na diagnostiku, dalších projevů onkologického onemocnění, vedlejších efektů onkologické léčby atd. Dále např. ekonomické vyhodnocení podaných transfuzí je přibližně na stejné úrovni.

Diskuze

Počet pacientů při dalších hospitalizacích postupně klesal (118-52-16). Také průměrná doba hospitalizace se zkracovala (24,1-17,4-11,5 dne) v souvislosti s reálným posouzením nezbytné doby pobytu na naší klinice a pak následným překladem do jiných zařízení spádu. Postupně menší počet přijímaných pacientů vyplýval z toho, že někteří byli již hospitalizováni jinde, tj. na lůžkách následné péče ve spádu. Nutnost dalších hospitalizací odpovídala také nižší intenzitě následně zvolené onkologické léčby (např. chemoterapie - monoterapie), nebo i úbytku počtu pacientů v případě jejich úmrtí.

Z infekčních komplikací nedocházelo u pacientů zařazených do paliativní péče k extrémně výraznému poklesu počtu krevních elementů. Febrilní stav v průběhu hospitalizací byl zjištěn v souvislosti s poklesem, který dosahoval převážně 2. stupně dle WHO klasifikace. Počet pacientů s febrilní neutropenií s dalšími intermitentními hospitalizacemi klesal. Doba hospitalizace se výrazněji neměnila a nepřesáhla jeden týden. Aplikace antibiotik zvláště se širokým spektrem, byla nutná u 1/3 a ve třetí hospitalizaci u 1/4 nemocných při dosažení poměrně rychlé úpravy infekčního stavu. Anemický syn-

drom byl zjišťován asi u jedné 1/4 pacientů a převažoval nad trombocytopenií zvláště v období prvních dvou hospitalizací.

Při třetí hospitalizaci byla poněkud zvýrazněna trombocytopenie nad anemií, a bylo ji nutno častěji korigovat.

Podání krevní plasmy bylo aplikováno jen ve zcela úzkých indikacích.

Většina pacientů přijímaných na lůžko měla také příznaky od poruchy funkce zažívacího traktu. Především šlo o zvracení a to u 1/2 pacientů při prvních dvou hospitalizacích a při třetím pobytu u více než 1/3 osob. Častou příčinou byly i poruchy pasáže, způsobené mechanickým útlakem. Často byla výrazná dehydratace s obštipací.

V podobném rozsahu kolísal i průjem po radikální léčbě tumorů zažívacího traktu. Intenzita ze stupně WHO 2 se zvýšila u obou příznaků na stupeň WHO 3, při třetí hospitalizaci. Tomu odpovídala i nutnost aplikace infuzí a korekce poruch minerálního metabolismu.

Neurotoxická vzhledem ke složení aplikovaných cytostatik byla spíše výjimkou.

Nárůst renálního postižení u pacientů při třetí hospitalizaci měl jako příčinu nejen intenzivnější rozvoj hypohydratace při domácím pobytu, ale častěji i subrenální příčinu, tj. stenózu z útlu, s dilatací odvodného močového systému.

Z uvedených pozorování je zřejmé, že paliativní pacient představuje velmi nákladnou skupinu, a to jak ve smyslu nákladů na léky, zdravotnický materiál atd., ale také ve smyslu na vynaloženou práci sester, zdravotnického personálu atd.

Hlavním cílem bylo získání potřebných medicínských a ekonomických dat pro vytvoření základního medicínsko-ekonomického pohledu na problematiku paliativní léčby u onkologických nemocných. Tyto výstupy mohou také tvořit základní informaci např. pro jednání se zdravotními pojišťovnami o možnosti navýšení potřebných finančních prostředků pro „paliativní lůžko“. Jasná zdravotnická a ekonomická definice paliativního lůžka umožní komplexní posouzení indikace pro paliativní péči v klinickém onkologickém zařízení, intenzivně vyžadovanou rodinami i pacienty, a její další ovlivňování v rozsahu ekonomického zajištění zdravotními pojišťovnami. To omezí aktuální nároky na lůžkovou kapacitu onkologického pracoviště, předurčenou především k aktivní specifické onkologické léčbě, k níž je vybaveno (zářiče, chemoterapie atd.), a sníží riziko nedorozumění a stížností. Včas umožní reagovat na změnu profilu péče současných lůžkových zařízení v daném regionu.

Práce vznikla za podpory programu pod názvem: Roční analytické studie v onkologii (RASO ČOS) v roce 2005.

Literatura

1. Salajka, F.: Kvalita života onkologického pacienta-kritérium úspěšnosti naší péče. Klinická onkologie, 2001, 1, s. 27-29
2. Svoboda, V., Filip, S., Petera, J.: Paliativní medicína jako další významná etapa onkologické léčby. X. vědecký celostátní kongres s mezinárodní účastí 3.- 5.11. 2004, Hradec Králové (ISBN 80-239-2870-8)
3. Vorlíček, J., Adam, Z., a kol.: Paliativní medicína. Grada Publishing (Praha), 1998, 480 s., ISBN 80-7169-437-1
4. Bošková, V.: Sdělování diagnózy. Kdo se bojí -nemocný nebo doktor? Zdravotnické noviny, 2002, 51, s.12
5. Irmíš, F.: Výroky lékařů vyvolávající různé stresové reakce pacientů. Praktický lékař, 2005, 85, s. 44-46
6. Cherny, N.I., Catane, R.: Attitudes of medical oncologist toward palliative care for patients with advanced and incurable cancer. Cancer, 2003, 98, s. 2502-2510
7. Konopásek, B.: Postavení onkologie v současné medicíně (10 úkolů onkologického centra). Lékařské listy, 2005, 9, s. 2-3
8. Fleishman, S.B.: Treatment of symptom clusters: pain, depression and fatigue. J. Natl. Cancer Inst., 2004, 32, s. 119-123
9. Malý, Z.: Sdělování diagnózy - právní,etický a lidský problém. Zdravotnické noviny, 2002, 51, s.14-15
10. Willard, C., Luker, K.: Supportive care in the cancer setting: rhetoric or reality? Paliat. Med., 2005, 19, s. 328-333

Došlo: 8. 3. 2006
Přijato:31. 1. 2007

I n f o r m a c e - Slovenská onkologická spoločnosť

V NOVEMBRI 2006 SA KONALI VOĽBY DO VÝBORU SLOVENSKEJ ONKOLOGICKEJ SPOLOČNOSTI, NA ZÁKLADE KTORÝCH VZNIKOL NOVÝ VÝBOR. JEHO ČLENOVIA SÚ:

Predseda: Doc. MUDr. Jozef Mardiak, CSc.
Podpredseda: Prof. Stanislav Špánik, CSc.
Tajomník: Doc. Peter Beržinec, CSc.
Pokladník: MUDr. Vladimír Bela

Členovia: Doc. MUDr. Igor Andrašina, CSc.
h. Doc. MUDr. Elena Bolješíková, CSc.
h. Prof. MUDr. Juraj Kaušitz, CSc.
Prof. MUDr. Ivan Koza, Dr.Sc.
Doc. MUDr. Izabela Makaiová, CSc.
MUDr. Vladimír Malec, PhD
MUDr. Tomáš Šálek
MUDr. Jozef Šufliarský
Doc. MUDr. Mária Wágnerová, CSc.

Revízná komisia:

Predseda: MUDr. Tibor Packáň
Členovia: MUDr. Richard Hrubý, PhD
MUDr. Dagmar Sorkovská.

V časopise Klinická onkológia plánujeme pravidelne uverejňovať informácie o činnosti výboru.

Jozef Mardiak

STUDIUM MUTACÍ A POLYMORFISMŮ DIHYDROPYRIMIDINDEHYDROGENÁZY (DPD) V PREDIKCI TOXICITY SPOJENÉ S PODÁNÍM FLUOROPYRIMIDINŮ

ANALYSIS OF MUTATIONS AND POLYMORPHISMS OF DIHYDROPYRIMIDINE DEHYDROGENASE (DPD) IN PREDICTION OF TOXICITY CAUSED BY FLOUROPYRIMIDINES

KLEIBLOVÁ P.^{1,2}, FIDLEROVÁ J.^{2,3}, BÍLEK M.⁴, SPRINGER D.⁵, NOVOTNÝ J.³, KLEIBL Z.²

¹ GYNEKOLOGICKO-PORODNICKÁ KLINIKA VFN A 1. LF UK,

² ÚSTAV BIOCHEMIE A EXPERIMENTÁLNÍ ONKOLOGIE 1. LF UK,

³ ONKOLOGICKÁ KLINIKA VFN A 1. LF UK,

⁴ ÚSTAV SOUDNÍHO LÉKAŘSTVÍ 1. LF UK,

⁵ ÚSTAV KLINICKÉ BIOCHEMIE A LABORATORNÍ DIAGNOSTIKY VFN A 1. LF UK

Souhrn

Východisko: Závažná toxicita po podání 5-fluorouracilu (5FU) a jeho derivátů je pravděpodobně způsobena poruchou enzymů katabolické cesty jejich metabolismu. Zásadní význam přináší dihydropyrimidindehydrogenáze (DPD), klíčovému enzymu určujícímu rychlost degradace 5FU. **Metody:** Provedli jsme mutační analýzu kódující sekvence genu pro DPD (*DPYD*) pomocí sekvenování cDNA u 31 pacientů s projevy závažné toxicity po aplikaci fluoropyrimidinů (Grade III-IV, NCIC CTC). Nalezené genetické varianty jsme vyšetřili ve vzorcích 21 nemocných s dobrou tolerancí léčby 5FU a jeho deriváty (Grade 0-I; NCIC CTC) a v panelu vzorků neselektované nenádorové populace pomocí DHPLC analýzy.

Výsledky: Celkem bylo charakterizováno 8 typů genetických alterací – jedna sestřihová mutace, 6 missense variant a jedna tichá mutace. S výjimkou mutace IVS14+1G>A (exon 14del) nalezené u 1/31 pacientů s toxicitou a nově charakterizované alterace c.187A>G (K63E) nebyl nalezen rozdíl v počtu a zastoupení jednotlivých mutací mezi skupinou pacientů s toxicitou a bez toxicity. Populační screening nalezených mutací a polymorfismů prokázal podobné zastoupení četnosti genetických alterací, jako u obou kohort léčených pacientů. **Závěry:** Přes vysoký počet nalezených genetických alterací v genu *DPYD* tyto nevysvětlují vznik toxicity po podání fluoropyrimidinů. Proto samotná mutační analýza *DPYD* zatím není vhodným klinicky použitelným testem pro predikci toxicity.

Klíčová slova: DPD, *DPYD*, 5-fluorouracil, toxicita.

Summary

Backgrounds: Development of serious toxicity during treatment with 5-fluorouracil (5FU) and its derivatives is probably caused by impaired metabolic activities of the fluoropyrimidines' catabolic enzymes. The crucial role in this pathway is played by rate-limiting enzyme dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD). **Methods:** We performed a mutation analysis in 31 patients with serious toxicity (Grade III-IV, NCIC CTC) following fluoropyrimidine treatment, based on sequencing of cDNA derived from DPD mRNA. The characterized genetic alterations were screened via DHPLC analysis in a cohort of 21 patients with good fluoropyrimidine treatment tolerance (Grade 0-I; NCIC CTC) and in a panel of unselected population controls. **Results:** We detected 8 different sequence variants – one splicing, 6 missense and one silent mutation. Except for the IVS14+1G>A (exon 14del) mutation found in 1/31 toxicity patients, and the newly characterized unclassified alteration c.187A>G (K63E), we have failed to find differences in frequency and type of mutations between fluoropyrimidine-treated patients with vs. without toxicity. **Conclusion:** Despite the high number of genetic alterations found in the *DPYD* gene we conclude that these could not explain the development of fluoropyrimidines toxicity in our population. Therefore, we think that currently the mutation analysis itself is not a predictive test for clinical assessment of patients at risk of 5FU toxicity development.

Keywords: DPD, *DPYD*, 5-fluorouracil, toxicity.

Úvod

Fluoropyrimidiny – např. 5-fluorouracil (5FU) a jeho derivát fluoropyrimidinkarbamat (kapecitabin) – patří mezi často používaná protinádorová léčiva. Ročně jsou jimi léčeny tisíce nemocných, obvykle s častými malignitami – karcinomy trávicího traktu, nádory v oblasti hlavy a krku nebo

karcinomem prsu. Přes nespornou terapeutickou účinnost fluoropyrimidinů se u přibližně 5-15% léčených pacientů setkáváme s projevy závažné lékové toxicity, a přibližně 1% pacientů umírá na komplikace spojené s léčbou těmito preparáty (1). Obzvláště tragická bývají úmrtí nemocných, kteří jsou léčeni v adjuvantních režimech v kompletní remi-

si bez projevů nádorového onemocnění. Vedlejší účinky léčby jsou závažným klinickým problémem. V USA tvoří čtvrtou nejčastější příčinu úmrtí, po kardiovaskulárních onemocněních, nádorových onemocněních a cerebrovaskulárních komplikacích (2).

Mechanismus působení fluoropyrimidinů je založen na jejich přeměně ve fluorované nukleotidy resp. deoxynukleotidy v cílových buňkách. Nejvýznamnější účinky jsou připisovány inhibici tymidylátsyntázy 5-fluorodeoxyuridin-5'-monofosfátem. Inhibice tohoto enzymu vede k depenci tymidin-5'-monofosfátu, což se projeví zástavou syntézy *de novo* vznikající DNA v dělicích se buňkách. Kromě tohoto účinku však fluoropyrimidinové nukleotidy interferují i přímo se syntézou DNA; jejich inkorporace do řetězce DNA způsobuje inhibici elongace s následnou fragmentací řetězce. Inkorporace 5-fluoruridin-5'-trifosfátu do RNA vede k závažným poškozením v syntéze RNA, negativně ovlivňuje její stabilitu a maturaci.

Za příčinu fatálních komplikací léčby fluoropyrimidiny se považuje vrozená porucha metabolismu 5FU nebo jeho derivátů. Za normálních okolností je 85% podaného 5FU degradováno v katabolické cestě a pouze 15% podstupuje přeměnu na biologicky (a terapeuticky) aktivní metabolity. Kritické místo katabolické cesty fluoropyrimidinů je iniciální hydrogenace enzymem dihydropyrimidindehydrogenázou (DPD resp. *DPYD*; EC 1.3.1.2). Vznikající fluoro-5,6-dihydrouracil je následně degradován dihydropyrimidinázou (*DPYS*; EC 3.5.2.2) na fluoro-β-ureidopropionát a vylučován ve formě fluoro-β-alaninu (3).

Snížení aktivity DPD, vlivem vrozené mutace genu či díky použití inhibitorů, vede ke zvýšení biologické dostupnosti farmakologicky aktivních metabolitů fluoropyrimidinů, působících nadprahovým efektem na řadu, především mitogenně aktivních, nenádorových tkání. Výsledkem tohoto působení je rozvoj toxických symptomů charakterizovaných především mukosítidou, průjmy a neutropenií (4). Vztah mezi inhibicí DPD a rozvojem toxických symptomů po podání fluoropyrimidinů vyplývá jak z farmakokinetických studií *in vitro* a na zvířecím modelu, tak z klinické zkušenosti z letálních komplikací, kdy pacientům léčeným 5FU bylo aplikováno virostatikum sorivudin - metabolizované na bromvinyluracil - potentní inhibitor DPD (5,6).

Gen pro *DPD* (označovaný jako *DPYD*, OMIM 274270) se nachází v oblasti 1q22, kde zabírá úsek 950 kbp. Kódující sekvence (3078 bp) je rozprostřena po celé délce genu v 23 exonech. *DPD* je cytosolový, ubikvitně exprimovaný enzym. Od konce 90. let je v zahraničí problematika *DPD* intenzivně studována. Doposud bylo nalezeno přes 40 alterací sekvence *DPYD* u pacientů se závažnou toxicitou po podání fluoropyrimidinů. Z toho 7 mutací (M166V, M182K, V335L, I560S, A777S, D949V a IVS 14+1G>A) je považováno za patogenní mutace, které se podílejí na rozvoji toxicity po podání 5FU (7).

V nedávné době byla charakterizována krystalografická struktura prasečího enzymu *DPD*, který vykazuje významnou homologii s lidským proteinem (8). V přirozené podobě se *DPD* vyskytuje jako homodimer s podjednotkami o 111kDa. Charakterizace 3D proteinové struktury *DPD* umožnila ozřejmení dopadů řady mutací a polymorfismů v *DPYD* (které obvykle mají charakter missense mutací) na změny ve struktuře proteinu (9,10).

Intenzivně je studována exprese genu *DPYD*. Řada studií

prokázala, že u pacientů s toxicitou 5FU se často setkáváme se sníženou expresí enzymu (11). Tento závěr však nelze přijmout zcela. Z více než 20 prací studujících význam exprese *DPD* na úrovni mRNA nebo proteinu vyplývají rozporuplné výsledky při studiu jednotlivých populací pacientů (12).

Epigenetická inaktivace *DPYD* na úrovni hypermetylací promotorových sekvencí genu byla doposud studována pouze ojediněle (13,14,15). Noguchi et al. prokázali negativní vliv hypermetylací promotorové sekvence na expresi *DPD in vitro* (14).

Studium enzymatické aktivity *DPD* je poměrně komplikované. Z jeho výsledků vyplývá, že heterozygotičtí nosiči nejčastější patogenní západoevropské alely způsobující výpadek exonu 14 (*DPYD**IVS 14+1G>A) mají 2,5x sníženou clearance 5FU. U homozygotů je clearance desetinásobně nižší ve srovnání s nosiči nemutované (wt) formy genu. Testy enzymatické aktivity mutantních forem v bakteriálních buňkách bohužel neodrážejí skutečnou aktivitu *DPD* v lidských tkáních (16). V současné době není dostupný vhodný a přesný test aktivity *DPD*, uplatnitelný v klinické praxi.

Mutační analýza genu pro *DPYS*, kódující další enzym katabolické cesty přeměny pyrimidinů, je prováděna pouze ojediněle (17). Expresní vzorec tohoto enzymu u pacientů s výskytem toxicity popsán nebyl.

Cíl studie

Cílem naší studie byla charakterizace mutací a polymorfismů v genu *DPYD* u populací pacientů s/bez závažné toxicity po podání fluoropyrimidinů a charakterizace neselektované populace z hlediska genotypu se zaměřením na nalezené varianty *DPYD*.

Metody

Na základě výskytu závažné toxicity byli ošetřujícím lékařem vybráni pacienti pro molekulárně genetické vyšetření. Pacienti vstupující do studie vyjádří svůj souhlas s vyšetřením na základě informovaného souhlasu schváleného etickou komisí. Údaje o pacientech (popis toxické reakce, schéma léčby, patologicko-anatomické a klinické údaje o onkologickém onemocnění) byly referovány pomocí elektronického rozhraní (<http://www.koc.cz/>) (18). Provedli jsme mutační analýzu kódující sekvence *DPYD* pomocí sekvenování cDNA u 31 pacientů s projevy závažné toxicity po aplikaci fluoropyrimidinů (Grade III-IV, NCIC CTC). Genetický materiál neselektované nenádorové populace a pacientů s dobrou tolerancí léčby 5FU (Grade 0-I, NCIC CTC) pochází z DNA banky pracoviště.

Izolace genetického materiálu (DNA a celkové RNA) z periferní krve byla provedena standardními postupy. Celková RNA, preservovaná pomocí PAXGene odběrových vakuových zkumavek (Qiagen) byla izolována dle protokolu výrobce. Komplementární cDNA byla z celkové DNA připravena pomocí Superscript III reverzní transkriptázy (Invitrogen) s použitím náhodných hexanukleotidů (Roche). Pro stanovení změn v kódující sekvenci *DPD* byla u pacientů s toxicitou cDNA amplifikována s primery v sedmi, vzájemně se překrývajících, fragmentech (**Tabulka 1**). Následně byly PCR amplikony sekvenovány pomocí automatického sekvenování (ABI310, Applied Biosystems) s využitím BigDye ver.3.1 (Applied Biosystems).

Nalezené mutace byly potvrzeny sekvenováním z genomové DNA. Pro zjištění frekvence nalezených alterací u pacientů léčených 5FU a jeho deriváty bez známek toxicity a v obecné nenádorové populaci byla provedena analýza PCR amplikonů exonů obsahujících mutace/polymorfismy pomocí denaturační vysokotlaké kapalinové chromatografie (DHPLC) systému WAVE (Transgenomic; **Tabulka 2**).

Tabulka č.1.: Primery a podmínky amplifikace z cDNA překrývajících se fragmentů kódující sekvence DPD. Stejně primery byly použity pro oboustranné sekvenování.

Primer	Sekvence	Amplikon (bp)	TA (°C)	MgCl ₂ (mM)
DPD1	5'-TTG AGG ACG CAA GGA GGG TTT G-3'	505	68	2,0
DPD2	5'-TAA TGG GTC CCT CTT CAG TGG C-3'			
DPD3	5'-ACC CAC TTG GTC TGA CTT GTG G-3'			
DPD4	5'-ACT GCC TTT GGC TAC AAG TGG C-3'	593	68	2,5
DPD5	5'-GAT GCC ATC TTC CAA GGC CTG A-3'			
DPD6	5'-CAC CAC CTG CAA ATA CCC ATG C-3'			
DPD7	5'-AAC AGA TGG GGT CTC CCA GAA G-3'	571	68	2,5
DPD8	5'-TCT TGG CAA GTT CCG TCC AGT C-3'			
DPD9	5'-ACG GCT GCA TAT TGG TGT CAA AG-3'			
DPD10	5'-TTC AGC AGA GTC AAT TCC ACC AG-3'	551	68	2,5
DPD11	5'-TGC TTT GAG AGC TGT GAC CTC C-3'			
DPD12	5'-GAA ACC CAC CTG CCC ACC ATA A-3'			
DPD13	5'-GCA ACG TAG AGC AAG TTG TGG C-3'	628	68	1,5
DPD14	5'-AAG ACA ACT GGC AGT GAA CATC C-3'			

Pozn: TA – anelační teplota primeru

Výsledky

Celkem bylo nalezeno 8 typů genetických alterací - jedna sestřihová mutace, 6 missense variant a jedna tichá mutace. Nalezené mutace/polymorfismy byly potvrzeny sekve-

nováním z genomové DNA. Genetické varianty DPD nalezené ve skupině nemocných s toxicitou jsme analyzovali pomocí DHPLC ve skupině 21 pacientů s velmi dobrou tolerancí léčby (Grade 0-I; NCIC CTC) a na panelu vzorků kontrolní nenádorové populace. Celkem jsme diagnostikovali 41 genetických alterací ovlivňujících aminokyselinovou sekvenci proteinu ve skupině 31 pacientů s projevy závažné toxicity a 29 ve skupině 21 pacientů bez toxicity. Ve skupině pacientů se závažnou toxicitou byly dvě změny nalezeny u 10 z 31 pacientů (32,3%), a tři změny u 4 z 31 (12,9%) pacientů. Ve skupině pacientů bez toxicity byla kombinace dvou změn charakterizována u 9 z 21 (42,9%) pacientů, a tři změn u 2 z 21 (9,5%) pacientů. Nově jsme rovněž popsali missense mutaci c.187A>G vedoucí k záměně K63E, která se vyskytla pouze u jednoho pacienta se závažnou toxicitou. Kromě zmiňovaných změn byla nalezena rovněž tichá mutace c.1896C>T.

Provedli jsme populační analýzu, abychom zjistili četnost nalezených genetických variant v neselektované populaci. Její výsledky jsou součástí **Tabulky 3**.

Diskuse

Zajímavým nálezem naší analýzy byla nejen vysoká četnost genetických změn u pacientů s toxicitou a jejich multiplicita, ale také nízký výskyt delece exonu 14, která je nejčastější patogenní změnou nacházenou v západoevropské populaci. Ještě překvapivějším nálezem je však skutečnost, že s výjimkou této patogenní mutace a námi nově popsané mutace K63E se četnosti ostatních alterací významně nelišily ve skupinách pacientů léčených 5FU a jeho deriváty s výskytem závažné toxicity a s dobrou tolerancí léčby. Navíc, provedená populační studie prokázala, že často nacházené genetické varianty ve skupinách nemocných léčených 5FU bez ohledu na rozvoj vedlejších příznaků jsou zároveň frekventní, a pravděpodobně popu-

Tabulka č.2. Podmínky PCR z genomové DNA pro analýzu vybraných exonů genu *DPYD* a chromatogramy DHPLC analýzy.

Exon	Primer	Sekvence	(bp)	T _A (°C)	MgCl ₂ (mM)	T _w (°C)	Chromatogramy ^a
2	DPYD01	5'-GGT ATG CAT ATT TTT CAT GAG TCC G-3'	161	58	2,5	59,2	
	DPYD02	5'-GTG GCA ATG AAC TCA TTT GTT C-3'					
3	DPYD03	5'-GGT ATG CAT ATT TTT CAT GAG TCC G-3'	293	61	1,5	57,0	
	DPYD04	5'-GTG GCA ATG AAC TCA TTT GTT C-3'					
6	DPYD05	5'-TTT AAC CAT GAC AAT TGA TTT CCC -3'	279	61	1,5	57,0	
	DPYD06	5'-GTT TTG CTC CAT CAT TTC TGA C-3'					
14	DPYD09	5'-CTT TGT CAA AAG GAG ACT CAA TAT C-3'	255	61	2,5	57,6	
	DPYD10	5'-TCA CCA ACT TAT GCC AAT TCT C-3'					
18	DPYD11*	5'-TGA ATG GGT TTT AAC TAT CGT GTC -3'	201	61	1,5	60,4	
	DPYD12*	5'-AAG TGG GCA ACA CCT ACC AG-3'					

Pozn: TA – anelační teplota primeru, Tw – teplota analýzy na DNasep koloně (DHPLC), a červeně (modře) – mutovaná sekvence; šedě – wt sekvence, * primery z publikace Fischer J. *et al.* (19)

Tabulka č.3.: Výsledky mutační analýzy ve skupině pacientů s výskytem závažné toxicity po fluoropyrimidinech, ve skupině pacientů bez toxicity a u nenádorových kontrol [počet pozitivit/celkový počet vyšetřených osob ve skupině (%)].

	Exon 2	Exon 3	Exon 6	Exon 13	Exon 13	Exon 14	Intron 14	Exon 18
Mutace v DPD	c.85T>C	c.187A>G	c.496A>G	c.1601G>A	c.1627A>G	c.1896T>C	IVS14+1G>A	c.2194G>A
Změna proteinové sekvence	C29R	K63E	M166V	S534N	I543V	-	e14 del	V732I
Charakter genetické změny	PM	M?	PM?	PM	PM	PM	M	PM
Pac. s toxicitou	12/31 (38,7)	1/31 (0,3)	14/31 (45,2)	1/31 (3,2)	9/31 (29,0)	4/31 (12,9)	1/31 (3,2)	3/28 (9,7)
Pac. bez toxicity	12/21 (57,1)	0/21 (0)	8/21 (38,1)	1/21 (4,8)	6/21 (28,6)	NS	0/21 (0)	2/21 (9,5)
Kontrolní populace	74/184 (40,2)	0/218 (0)	39/161 (24,2)	4/184 (2,2)	41/184 (22,3)	17/138 (12,3)	1/138 (0,7)	9/136 (6,7)

Vysvětlivky: PM – polymorfismus, M – mutace, NS – nebylo stanoveno

lačně specifické varianty genu *DPYD*. Jejich četnost významně snižuje pravděpodobnost, že by se mohlo jednat o patogenní genetické varianty vysvětlující toxicitu 5FU a jeho derivátů. To se zvláště týká mutace c.496A>G (M166V) v exonu 6, jejíž četnost se významně neliší u skupiny pacientů s toxicitou (45,2%) ve srovnání se skupinou pacientů bez známek toxicity (38,1%; test o shodě relativní četnosti $P=0,3864$). V naší populaci má tedy tato genetická změna rozhodně charakter polymorfismu. Z nalezených genetických variant je pak pravděpodobně jediná (a u nás nečastá) delece exonu 14 prokazatelně patogenní alterací. Námi nově popsána alterace K63E sice leží ve funkčně exponované části proteinu (lysin 63 se nachází v N-terminální oblasti s Fe-S doménami), avšak její přímý funkční význam není jasný.

Ačkoliv pro hlubší závěry je nezbytné provést vyšetření mutací v rozsáhlejší populaci, z dosavadních výsledků vyplývá, že mutace genu *DPYD* velmi pravděpodobně nejsou jediným faktorem podílejícím se na vzniku závažné toxicity po podání 5FU a jeho derivátů.

Závěr

Pro vypracování vhodného screeningového vyšetření predikujícího vznik závažné toxicity po podání 5FU a jeho derivátů je nezbytné charakterizovat nejen spektrum mutačních změn genu *DPYD* (významně se odlišující od genotypového profilu západoevropské populace) s určením jejich možného dopadu na strukturní charakteristiky proteinu DPD, ale rovněž četnost nalezených alterací u pacientů bez známek toxicity po podání 5FU a v obecné populaci. Na základě našich dosavadních výsledků (limitovaných počtem vyšetřených pacientů) se domníváme, že mutační analýza genu *DPYD* zatím neumožňuje sama o sobě selekci populace pacientů ohrožených vznikem závažných komplikací léčby 5FU.

Poděkování

Děkujeme všem našim kolegům z klinických pracovišť za poskytnutí biologického materiálu a klinických dat. Tato práce byla podpořena prostředky Běhu Terryho Foxe 2005 „Ligy proti rakovině Praha“ a grantem IGA MZ ČR 1A/8708-4.

Literatura

1. Meta-Analysis Group In Cancer: Toxicity of fluorouracil in patients with advanced colorectal cancer: effect of administration schedule and prognostic factors. *J Clin Oncol* 16, 1998, 3537-3541
2. Lazarou J., Pomeranz B.H., Corey P.N.: Incidence of adverse drug reactions in hospitalized patients: a meta-analysis of prospective studies. *JAMA* 279, 1998, 1200-1205
3. Omura K.: Clinical implications of dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) activity in 5-FU-based chemotherapy: mutations in the DPD gene, and DPD inhibitory fluoropyrimidines. *Int J Clin Oncol* 8, 2003, 132-138
4. van Kuilenburg A.B., Haasjes J., Richel D.J. et al.: Clinical implications of dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) deficiency in patients with severe 5-fluorouracil-associated toxicity: identification of new mutations in the DPD gene. *Clin Cancer Res* 6, 2000, 4705-4712
5. Okuda H., Ogura K., Kato A. et al.: A possible mechanism of eighteen patient deaths caused by interactions of sorivudine, a new antiviral drug, with oral 5-fluorouracil prodrugs. *J Pharmacol Exp Ther* 287, 1998, 791-799
6. Diasio R.B.: Sorivudine and 5-fluorouracil; a clinically significant drug-drug interaction due to inhibition of dihydropyrimidine dehydrogenase. *Br J Clin Pharmacol* 46, 1998, 1-4
7. van Kuilenburg A.B.: Dihydropyrimidine dehydrogenase and the efficacy and toxicity of 5-fluorouracil. *Eur J Cancer* 40, 2004, 939-950
8. Dobritzsch D., Schneider G., Schnackerz K.D. et al.: Crystal structure of dihydropyrimidine dehydrogenase, a major determinant of the pharmacokinetics of the anti-cancer drug 5-fluorouracil. *EMBO J* 20, 2001, 650-660

9. van Kuilenburg A.B., Dobritzsch D., Meisma R. et al.: Novel disease-causing mutations in the dihydropyrimidine dehydrogenase gene interpreted by analysis of the three-dimensional protein structure. *Biochem J* 364, 2002, 157-163
10. Gross E., Ullrich T., Seck K. et al.: Detailed analysis of five mutations in dihydropyrimidine dehydrogenase detected in cancer patients with 5-fluorouracil-related side effects. *Hum Mutat* 22, 2003, 498-508
11. Scherf U., Ross D.T., Waltham M. et al.: A gene expression database for the molecular pharmacology of cancer. *Nat Genet* 24, 2000, 236-244
12. Zimovjanova M., Sykora V., Novotny J. et al.: Comparative analysis of thymidylate synthase, thymidine phosphorylase and dihydropyrimidine dehydrogenase expression in colorectal cancer and surrounding normal tissue. *Neoplasma* 52, 2005, 208-210
13. Shestopal S.A., Johnson M.R., Diasio R.B.: Molecular cloning and characterization of the human dihydropyrimidine dehydrogenase promoter. *Biochim Biophys Acta* 1494, 2000, 162-169
14. Noguchi T., Tanimoto K., Shimokuni T. et al.: Aberrant methylation of DPYD promoter, DPYD expression, and cellular sensitivity to 5-fluorouracil in cancer cells. *Clin Cancer Res* 10, 2004, 7100-7107
15. Ezzeldin H.H., Lee A.M., Mattison L.K. et al.: Methylation of the DPYD promoter: an alternative mechanism for dihydropyrimidine

- dehydrogenase deficiency in cancer patients. Clin Cancer Res 11, 2005, 8699-8705
16. Vreken P., van Kuilenburg A.B., Meinsma R. et al.: Dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency. Identification of two novel mutations and expression of missense mutations in E. coli. Adv Exp Med Biol 431, 1998, 341-346
17. Hamajima N., Kouwaki M., Vreken P. et al.: Dihydropyrimidinase deficiency: structural organization, chromosomal localization, and

- mutation analysis of the human dihydropyrimidinase gene. Am J Hum Genet 63, 1998, 717-726
18. Novotny J., Kleibl Z., Sykora V. et al.: Projekt „DPD online“: možnost predikce toxicity 5-fluorouracilu a jeho derivátů. Klin Onkol 16, 2003, 276-278
19. Fischer J., Schwab M., Eichelbaum M. et al.: Mutational analysis of the human dihydropyrimidine dehydrogenase gene by denaturing high-performance liquid chromatography. Genet Test 7, 2003, 97-105

Došlo: 15. 2. 2006
Přijato: 10. 8. 2006

I n f o r m a c e

Onkologické oddělení
pod záštitou
**Společnosti radiační onkologie, biologie a fyziky
a České onkologické společnosti**
pořádají
XIV. Jihočeské onkologické dny

Český Krumlov - Zámecká jízdárna
11. 10. - 13. 10. 2007

Téma

DIAGNOSTIKA A LÉČBA MALIGNÍCH LYMFOMŮ

Odpovídá MUDr. Hana ŠIFFNEROVÁ, zástupkyně primáře onkologického oddělení
Českobudějovické nemocnice.

Jde o onemocnění imunitního systému, které patří mezi poměrně vzácné choroby, ale jejich incidence se postupně zvyšuje.

Na kongresu budou probírány léčebné modalitty a postupy, ale avšak také prevence a řešení nežádoucích účinků, které jsou často spojeny agresivní terapií.

Abstrakta přihlašovaných přednášek a posterů do programu XIV. JOD,
zašlete do 30. 6. 2006 na adresu Nemocnice České Budějovice, a. s.

Podrobné informace o poplatcích, ubytování, doprovodném programu a p.,
poskytuje: Informační odd.- Nemocnice Č. Budějovice a. s., PhDr. Marie Šotolová,
ul. B. Němcové č. 54, 370 87 České Budějovice, tel: 387 872 015, fax: 387 872 065,
mobil: 723 847 004, e-mail: pr@nemcb.cz

SÉROVÝ N-TERMINÁLNÍ PROPEPTID PROKOLAGENU TYPU I (P1NP) A KOSTNÍ METASTÁZY KARCINOMU PRSU

N-TERMINAL PROPEPTIDE OF TYPE I PROCOLLAGEN (P1NP) AND BREAST CANCER BONE METASTASES

ŠIMÍČKOVÁ M., NEKULOVÁ M., PETRÁKOVÁ K., PECEN L. *, STANÍČEK J. , FRGALA T., PILNÝ R.,
DUBSKÁ L., VALÍK D.

MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV BRNO, *ÚSTAV INFORMATIKY AV ČR, PRAHA

Souhrn

Východiska: Pro monitorování procesu osteoformace je doporučován N-terminální propeptid prokolagenu typu I (P1NP). **Soubor, metody.** V našem souboru nemocných s karcinomem prsu jsme vyšetřili 183 nemocných, u části z nich bylo možno srovnat výsledky scintigrafického vyšetření kostí se stanovením sérového P1NP (metoda Elecsys, Roche). **Výsledky.** Průměrná koncentrace P1NP ve skupině nemocných s prokázanými kostními metastázami (N=118) byla signifikantně vyšší ve srovnání se skupinami bez metastáz. Stanovení vykazuje klinickou senzitivitu 46 % při 90 % specifčnosti. **Závěr.** Sledování dynamiky změn hladin sérového P1NP může doplnit scintigrafické vyšetření kostí při monitorování specifického terapeutického procesu. Definitivní zhodnocení prediktivního významu vyšetření sérového P1NP bude provedeno po rozšíření studie o další nemocné.

Klíčová slova: sérový N-terminální propeptid prokolagenu typu I (P1NP), kostní metastázy, klinická validita, scintigrafie kostí.

Summary

Background: N-terminal propeptide of type I procollagen (P1NP) is recommended for monitoring of the bone formation process. **Subjects, Methods.** This study involved 183 breast carcinoma patients. In part of this group the bone scintigraphy was compared with serum P1NP levels (Elecsys method, Roche). **Results.** The average P1NP concentration in the group of patients with proved bone metastases (N=118) was significantly higher in comparison with patient groups without metastases. This P1NP method displays a 46% clinical sensitivity with 90 % specificity. **Conclusions.** Monitoring of P1NP concentration changes can supplement bone scintigraphy during monitoring of specific bisphosphonate treatment. A comprehensive assessment of the predictive value of serum P1NP measurement will be performed following increase of patient numbers in this study.

Key words: serum N-terminal propeptide of type I procollagen (P1NP), bone metastases, clinical validity, bone scintigraphy.

Úvod

Na **regulaci remodelace skeletu** se podílejí procesy spojené jak s odbouráváním kostní hmoty prostřednictvím osteoklastů, tak i s její tvorbou v osteoblastech. Rovnováha mezi oběma skupinami buněk je řízena různými regulačními vlivy.

Tvorba kostí je stimulována především působením fluoridu, parathormonu, transformujícího růstového faktoru beta (TGF beta), insulinu-podobného růstového faktoru I (IGF-I) a dalšími látkami. Na **zvýšeném odbourávání** se podílejí především parathormon, 1, 25-dihydroxyvitamin D, mnohé cytokiny a aktuálně intenzivně studovaný regulátor RANKL (ligand vázající se na receptor, který aktivuje nukleární faktor kappa B). Na **poklesu intenzity odbourávání** má naopak vliv kalcitonin, estrogeny, androgeny, dále pak osteoprotegerin a vybrané cytokiny (1).

Monitorování metabolismu kostí prostřednictvím vyšetřování uvedených regulátorů je však dosud méně časté než vyšetřování **kostních markerů vznikajících jako produkt metabolických procesů v kostní hmotě**. Osteoblasty indukovaná syntéza a osteoklasty indukovaná degradace kostí jsou těsně propojeny. Z mnoha studovaných osteomarkerů jsou aktuálně doporučeny **pro monitorování resorpce** (a sledování aktivity osteoklastů) především C-terminální telopeptid kolagenu I (ICTP), beta-Cross-

laps (beta-CTX, tj. oktapeptidový fragment C-terminálního telopeptidu kolagenu I), pyridinolin a deoxypyridinolin (pyridiniové příčné vazby v kolagenu) (2). Jako **markery kostní novotvorby** (a především osteoplastických metastáz) jsou užívány N-terminální propeptid prokolagenu typu I (P1NP) či jeho C-terminální propeptid (P1CP), dále osteokalcin (nekolagenní peptid typický pro osteoblasty, marker mineralizace kostí), nebo kostní forma alkalické fosfatázy (BALP) (doporučení National Committee for Clinical Laboratory Standards z roku 2004).

Cílem naší práce bylo vyhodnotit sérovou hladinu P1NP v souboru nemocných karcinomem prsu bez kostního rozsevu ve srovnání se souborem s kostními metastázami. Koncentrace P1NP byly korelovány s výsledky scintigrafie kostí, ev. dalších zobrazovacích vyšetření. Hladiny P1NP byly zhodnoceny ve vztahu ke klinickým údajům o typu terapie (radioterapie a chemoterapie). Speciální měření patřilo terapii bisfosfonáty, které se podílejí na inhibici maligní osteolýzy (1-3).

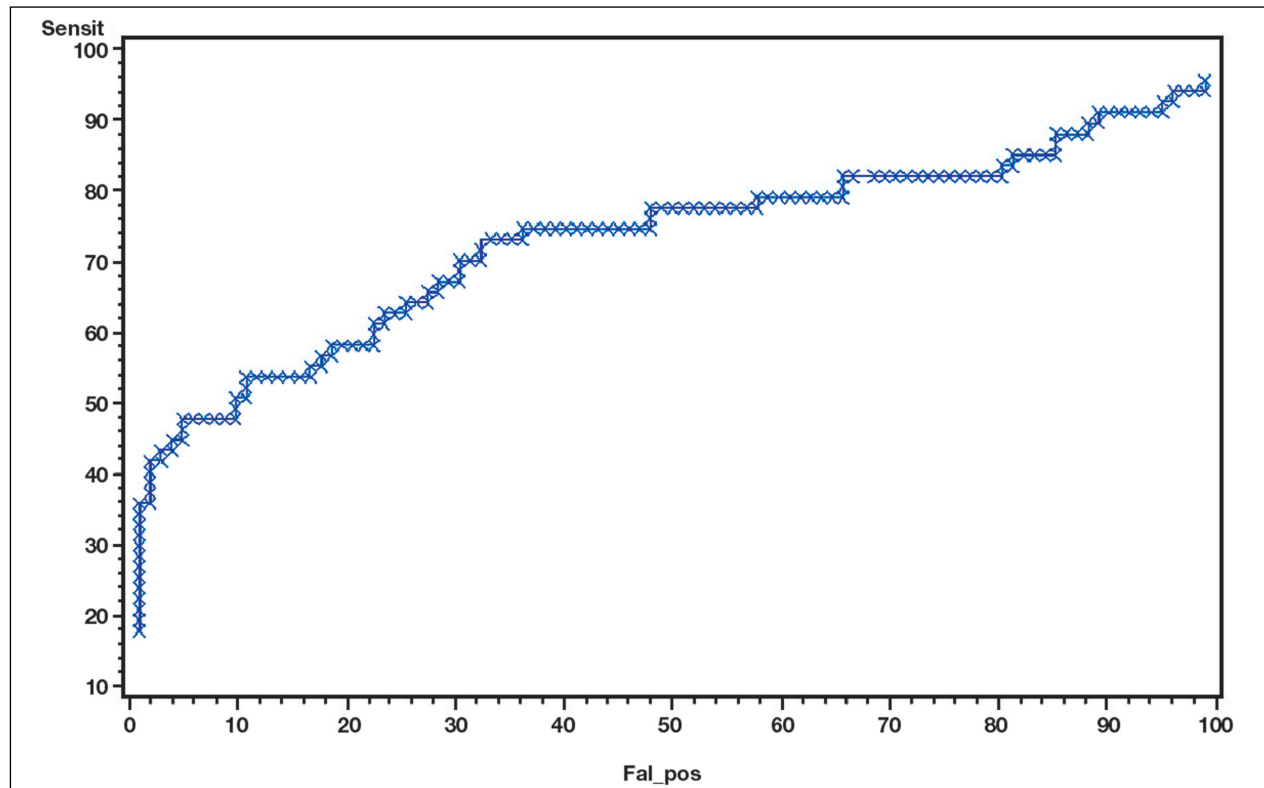
Pacienti a metody. Sérový P1NP byl stanoven v souboru vybraných 183 pacientek léčených pro karcinom prsu v MOÚ Brno (celkem 294 vzorků krve). Kostní rozsev byl prokázán kostní scintigrafií, ev. potvrzen dalšími zobrazovacími vyšetřovacími metodami (rentgenové vyšetření, počítačová tomografie) nebo

Tabulka 1.: Srovnání průměrných hladin sérového P1NP ve skupině vzorků nemocných s karcinomem prsu podle lokalizace metastáz.

		Nepřítomny	Metastázy		
			A. Kostní prokázané	B.Kostní prokázané (jen bez terapie) **	C. Kostní suspektní
Počet odběrů		103	167	70	24
PNP (ug/l)	medián	41,6	61,3	61,7	64,1
	průměr*	44,9	111,7	118,8	66,1
	SD	20,59	150,13	156,47	17,17

*: p<0,0001, **: soubor A, vybraný pouze nemocné aktuálně bez specifické terapie bisfosfonáty

Obrázek 1.: ROC křivka pro P1NP u kostních metastáz nemocných s karcinomem prsu (senz: senzitivita, Fal_pos: falešná pozitivita, tj. [1-specifi-cita] v procentech).



Tabulka 2.: Klinická validita vyšetření sérového P1NP v souboru nemocných s karcinomem prsu s kostními metastázami (vzhledem ke kontrolnímu souboru bez metastáz)

cut-off (ug/l)	specifičnost (%) (95% CI)	senzitivita (%) (95% CI)	PV+ (%) (95% CI)	PV- (%) (95% CI)	RR (95% CI)	AUC
73,3	90,4 (84,5-96,4)	46,4 (33,4-59,5)	74,3 (60,0-88,6)	73,9 (65,39-82,0)	2,85 (2,48-3,21)	0,7591

PV+, PV-: pozitivní a negativní prediktivní hodnota, RR: relativní riziko, AUC: plocha pod ROC křivkou

dalším klinickým vývojem. Všechna vyšetření byla provedena v intervalu do 1 měsíce od analýzy tohoto markeru v séru. Některé z nemocných s prokázaným kostním rozsevem (N=22) byly vyšetřovány opakovaně vzhledem ke sledování efektu terapie v intervalu přibližně 3 až 6 měsíců od zahájení terapie bisfosfonáty (Bonafos, Fosamax), případně po radioterapii a chemoterapii. P1NP bylo vyšetřováno metodou elektrochemiluminiscence (na imunoanalýzátoru Elecsys 2010, firma ROCHE). Na souboru zdravých žen (N=8) byla ověřena diskriminační hranice 74 ug/l. Analytická charakteristika metody odpovídala firemním údajům. Byly hodnoceny parametry klinické validity (senzitivita, speci-

fičnost, pozitivní a negativní prediktivní hodnota, relativní riziko a ROC křivka). Bylo provedeno určení optimální referenčního rozmezí. Bodové odhady parametrů validity byly doprovázeny výpočtem 95% konfidenčních intervalů. Ke statistickému hodnocení jednotlivých proměnných byl užít neparametrický Wilcoxonův test.

Výsledky

V našem souboru 183 vybraných pacientek s karcinomem prsu (294 odběrů) byly kostní metastázy prokázány u 118 z nich (167 odběrů), u dalších 24 byl suspektní nález na scintigrafii kostí. Čty-

ři z těchto nemocných, u kterých byl později kostní rozsev potvrzen, byly také zahrnuty do dalšího monitorování. Nemocné s kostními metastázami vykazovaly průměr i medián koncentrace sérového P1NP signifikantně vyšší než nemocné bez metastáz (tab.1, $p < 0,0001$). U nemocných s pouze suspektním nálezem na scintigrafii byly hodnoty P1NP lehce nad referenční hodnotou jen v asi polovině případů.

Při optimalizované referenční hodnotě P1NP určené pro náš soubor (73,3 ug/l) jsme při specifitě 90,4 % prokazovali přítomnost kostního rozsevu se senzitivitou 46,4 %. Plocha pod ROC křivkou (AUC) byla 0,7591 (tab.2, obr.1).

U 22 nemocných s kostními metastázami, které byly v terapii bisfosfonáty, bylo provedeno opakované vyšetření P1NP. U 10 z nich nedošlo po 6 měsících k efektu terapie, nález progredoval a u poloviny z nich došlo také ke zvýšení hodnoty P1NP i při terapii. U 12 nemocných naopak došlo ke stabilizaci či parciální remisi a hladina P1NP klesala. Soubor je průběžně rozšiřován.

Diskuse

Metastatická kostní choroba u karcinomu prsu je problém především ve vztahu k závažným komplikacím typu bolest, zlomeniny nebo komprese míšního kanálu, vedoucí ke zhoršení kvality života onkologického pacienta. Pro detekci kostních metastáz jsou k dispozici různé diagnostické techniky, především rentgenové zobrazení, počítačová tomografie, magnetická resonance či kostní scintigrafie. Nejrozšířenější z nich, kostní scintigrafie s Tc-99m značeným difosfonátem, je i nejcitlivější, má však jistá omezení (vedlejší účinky, finanční nákladnost, dostupnost). Proto je stále kladen důraz na to, nalézt pro monitorování kostních metastáz minimální invazivní metodu typu stanovení osteomarkeru v krvi (4).

Nádorový proces ovlivňuje kostní metabolismus mnoha dosud ne do detailu objasněnými mechanismy. **Tvorba osteolytických ložisek u mnohočetného myelomu** je stimulována především působením systému RANKL-osteoprotegerin. Myelomové buňky jsou schopny ovlivnit produkci zvýšeného množství RANKL (ligand) a naopak snížit množství osteoprotegerinu, který je schopen tento ligand blokovat. Tím je umožněna vazba RANKL na vlastní receptor - RANK. Aktivací receptoru RANK, který se nachází především na osteoklastech (i stromálních buňkách), dochází k vlastní osteolýze. Zkušenosti s ovlivněním rovnováhy osteoprotegerin - RANKL aplikací osteoprotegerinu jsou dosud na úrovni začátků klinického testování u nemocných s mnohočetným myelomem nebo karcinomem prsu (1).

Na mechanismu **vzniku osteoplastických metastáz solidních nádorů** (ca prostaty, méně často ca mammy) se podílejí především endotelin-1, dále pak FGF, PDGF a další látky. **Osteolytická ložiska metastáz solidních nádorů** ovlivňuje především produkce PTHrP (parathormone related peptide) nádorovými buňkami, stimulující produkci RANKL na stromálních buňkách. I tohoto procesu se účastní vybrané cytokiny, prostaglandiny a další látky.

Pro testování vlivu těchto regulátorů kostní remodelace v maligním onemocnění je však dosud rutinně užíváno především vyšetřování osteomarkerů uvolňovaných v důsledcích patologických procesů degradace i novotvorby kosti. Výsledky dosavadních studií vyšetřujících uvedené parametry prokazují, že i u osteoplastických metastáz (ca prostaty) či smíšených metastáz (ca prsu, ca plic) lze monitorovat osteolytické markery. Předpokládá se totiž, že k umožnění růstu osteoplastické metastázy musí v jejím okolí probíhat osteolýza (1). Z dosavadních výsledků rovněž vyplývá, že osteomarkery kostní degradace budou vhodnější pro monitorování účinku terapie bisfosfonáty, kdy dochází ke snížení počtu a aktivity osteoklastů.

P1NP je markerem vysoce specifickým pro tvorbu osteoplastických (a tedy i smíšených) metastáz, nevykazuje cirkadiánní

variaci, lze jej měřit i v séru a vykazuje poměrně nízkou intraindividuální variaci. Během tvorby kolagenu I je P1NP uvolňován do intracelulárního prostředí a následně do krevního oběhu. Metoda stanovení P1NP vykazuje dobrou reprodukovatelnost, nevykazuje výraznější závislost na dietě.

Dosavadní výsledky hodnocení validity P1NP pro detekci kostních metastáz prokazují ve většině studií použitelnost tohoto osteomarkeru. U žen léčených pro osteoporózu je očekáván při dobrém efektu terapie nejméně 40% pokles P1NP po 6 měsících léčení (3,5).

Onkologové potřebují více informací pro doporučení vhodného algoritmu vyšetřování v terapii žen s karcinomem prsu vzhledem k posouzení kostního metabolismu u těchto nemocných (6-8). U pacientek s karcinomem prsu se chovaly hodnoty P1NP v séru po operaci (6) i po chemoterapii (7) jako negativní prognostický parametrem vzhledem k přežívání. Také klasické nádorové markery bývají považovány za vhodné parametry u kostního rozsevu nádorového onemocnění (9).

Terapie bisfosfonáty, působící mechanismem indukce apoptózy osteoklastů, zvýšení tvorby osteoprotegerinu, snížení koncentrací vaskulárního endoteliálního růstového faktoru, a tím i angiogeneze apod., představuje pro tyto nemocné profit, i když se obvykle jedná jen o podpornou a život neprodlužující terapii. Při monitorování této terapie vykazují obvykle nejvyšší senzitivitu markery kostní degradace (10). Zhodnocení významu jednoho z nich, beta-CrossLaps, bude provedeno v našem souboru po dostatečném rozšíření souboru monitorovaných nemocných.

O možné falešné pozitivitě těchto osteomarkerů v cirkulaci není dosud mnoho informací, i když o vlivu radioterapie na jejich hladinu (zejména degradačního typu), by mohlo svědčit prokázané zvýšení jejich obsahu v ozářené tkáni (11).

Nárůst biochemických markerů kostního metabolismu v době progresu a pokles při úspěšné specifické terapii u pacientek s metastatickou formou rakoviny prsu prokazují ve své práci také další autoři (12-16). Výsledky Luftnera et al. potvrzují dostatečnou klinickou validitu P1NP (12,13), ostatní práce potvrzují význam markerů osteoresorpce (14-16). Výrazná korelace však nebyla nalezena pro P1NP a kostní scintigrafii pro 88 nemocných s různými typy nádorů (17), i když hodnocení senzitivity (24 %) bylo provedeno při příliš vysoké specifitě (až 96 %). Sérové koncentrace metabolitů kolagenu typu I korelovaly s metastatickým procesem u karcinomu prostaty (18).

Naše výsledky na dosud omezeném počtu nemocných potvrdily, že při optimalizaci cut-off má metoda senzitivitu 46 % (při 90 % specifitě) pro zachyt nemocných s karcinomem prsu s metastatickým postižením kostí. Podobné závěry byly publikovány ve studiích zahrnující 62 nemocných s karcinomem prsu (13). V tomto souboru (u 38 nemocných) byly potvrzeny kostní metastázy) vykazoval P1NP 50 % senzitivitu při cut-off 95 ug/l, plocha pod ROC křivkou byla 0,72.

V průběhu terapie bisfosfonáty jsme pozorovali nárůst sérové hladiny P1NP u poloviny z těch nemocných, kdy kostní proces progredoval. Naopak, pokles jsme zaznamenali u nemocných s pozitivním efektem terapie. Pro kvalitativní statistické vyhodnocení je však třeba soubor nemocných při terapii bisfosfonáty rozšířit.

Scintigrafie tedy zůstává stále hlavní metodou průkazu kostních metastáz, její limity (cena, možná frekvence vyšetření) však mohou být důvodem rozvoje relativně neinvazivního a ekonomicky méně náročného vyšetření P1NP v séru. Dynamika změn hladin sérového P1NP může mít navíc větší význam při monitorování terapeutického procesu. Probíhající prospektivní studie by měla potvrdit, že stanovení uvedeného osteomarkeru (spolu s markerem osteoresorpce beta-Crosslaps) bude mít vliv na optimalizaci a řízení terapie kostních metastáz a příznivý účinek na výsledný stav nemocného.

Práce byla podpořena VZ MZd č 00020980501-5.

Literatura:

1. Adam Z., Ševčík P., Vorlíček J., Mistrík M. a kol.: Kostní nádorová choroba. Grada, Avicenum 2005
2. www.ncls.org (Guideline Document C48-A, 2004)
3. Morris, G., Mitchell, E. P.: Bisphosphonate Therapy for Women with Breast Cancer and at High Risk for Osteoporosis. *J Nat Med Assoc* 2007, 99, 35-48.
4. Clamp A., Danson S., Nguyen H., Cole D., Clemone M.: Assessment of therapeutic response in patients with metastatic bone diseases. *The Lancet Oncology* 2004, 5, 607-616.
5. Delmas PD, Hardy P, Garnero P, Dain M. Monitoring individual response to hormone replacement therapy with bone markers. *Bone*, 2000, 26, 553-560. Comment in: *Bone*. 2000, 26, 5 51-552.
6. Jukkola A, Bloigu R, Holli K, Joensuu H, Valavaara R, Risteli J, Blanco G. Postoperative PINP in serum reflects metastatic potential and poor survival in node-positive breast cancer. *Cancer Res.* 2001, 21, 2873-2876.
7. Jensen BV, Johansen JS, Skovsgaard T, Brandt J, Teisner B. Extracellular matrix building marked by the N-terminal propeptide of procollagen type I reflect aggressiveness of recurrent breast cancer. *Int J Cancer.* 2002, 98,582-589.
8. Hillner BE, Ingle JN, Chlebowski RT, Gralow J, Yee GC, Janjan NA, Cauley JA, Blumenstein BA, Albain KS, Lipton A, Brown S; American Society of Clinical Oncology 2003 update on the role of bisphosphonates and bone health issues in women with breast cancer. *J Clin Oncol.* 2003, 21, 4042-4057. Erratum in: *J Clin Oncol.* 2004, 2, 1351.
9. Oremek GM, Weis A, Sapoutzis N, Sauer-Eppel H. Diagnostic value of bone and tumour markers in patients with malignant diseases. *Anticancer Res.* 2003; 23,987-990.
10. Delmas P.D., Eastell R., Garnero P., Seibel M.J., Stepan J.: The use of biochemical markers of bone turnover in osteoporosis. *Osteoporosis Int.* 2000, Supl.6, S2-17.
11. Sassi M, Jukkola A, Riekk R, Hoyhtya M, Risteli L, Oikarinen A, Risteli J. Type I collagen turnover and cross-linking are increased in irradiated skin of breast cancer patients. *Radiother Oncol.* 2001, 58, 317-23.
12. Luftner D, Richter A, Geppert R, Wernecke KD, Possinger K.: Normalization of biochemical markers of bone formation correlates with clinical benefit from therapy in metastatic cancer. *Anticancer Res.* 2003, 23, 1017-1026.
13. Luftner D, Jozereau D., Schildhauer S., Geppert R., Muller C., Fiolka G., Wernecke K.D., Possinger K.: PINP as serum marker of metastatic spread to bone in breast cancer patients. *Anticancer Res.* 2005, 25, 1017-26.
14. Lipton A, Costa L, Ali S, Demers L Use of markers of bone turnover for monitoring bone metastases and the response to therapy. *Semin Oncol.* 2001, 28, 54-59.
15. Wada N., Fujisaki M., Ishii S., Ikeda T., Kitajima M.: Evaluation of bone metabolic markers in breast cancer with bone metastasis. *Breast Cancer* 2001, 8, b131-137.
16. Koizumi M., Takahasi S., Ogata E.: Comparison of serum bone resorption markers in the diagnosis of skeletal metastasis. *Anticancer Res.* 2003, 23, 4095-4099.
17. Schoenberg J., Rozenboom S., Wirthgen-Beyer E., Eilles C h.: Evaluation of the clinical value of bone metabolic parameters for the screening of osseous metastases compared to bone scintigraphy. *BMC Nuclear Medicine* 2004, .
18. Yoshida K., Sumi S., Arai K., Koga F., Umwega H., Hosoya Y., Honda M., Yano M., Moriguchi H., Kitahara S.: Serum concentration of type I collagen metabolism as a quantitative marker of bone metastases in patients with prostate cancer. *Cancer* 1997, 80, 1760-1767.

Došlo: 6. 6. 2006
Přijato: 15. 9. 2006

ANALÝZA MUTACE C.1100DEL C GENU CHEK2 V POPULACI PACIENTŮ SE SPORADICKÝM KARCINOMEM KOLOREKTA A FAMILIÁRNÍ ADENOMATÓZNÍ POLYPÓZOU

ANALYSIS OF THE C.1100DEL C MUTATION OF THE CHEK2 GENE IN SPORADIC COLORECTAL CARCINOMA AND FAMILIAL ADENOMATOUS POLYPOSIS PATIENT POPULATION

KLEIBL Z.¹, HAVRÁNEK O.¹, NOVOTNÝ J.², KOHOUTOVÁ M.³, ŠTEKROVÁ J.³, MATOUŠ B.¹

¹ ÚSTAV BIOCHEMIE A EXPERIMENTÁLNÍ ONKOLOGIE 1. LF UK,

² ONKOLOGICKÁ KLINIKA VFN A 1. LF UK,

³ ÚSTAV BIOLOGIE A LÉKAŘSKÉ GENETIKY 1. LF UK A VFN

Souhrn

Východisko: Česká republika patří mezi státy s nejvyšší incidencí kolorektálního karcinomu. Přestože je většina kolorektálních karcinomů sporadického původu, významnou část pacientů, především z hlediska prediktivní onkologie, tvoří nemocní s výskytem here-ditárních nádorů. Do současné doby byla charakterizována řada genů, jejichž mutace zvyšují riziko vzniku kolorektálního karcinomu (*APC*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *SMAD4*, *BMPRI1a*) a způsobují vznik hereditárních nádorových syndromů, jako je například familiární adenomatózní polypóza (FAP). Intenzivní pozornost je věnována rovněž genetické modifikaci nádorového rizika na základě mutací v tzv. „genech s nízkou penetrancí“. Mezi tyto geny patří i gen *CHEK2*, u kterého byla popsána patogenní mutace 1100delC podílející se na vzniku syndromu hereditárního výskytu kolorektálního karcinomu a karcinomu prsu (HBC). **Metody:** Provedli jsme detekci patogenní mutace *CHEK2* c.1100delC u 433 pacientů s kolorektálním karcinodem a 113 pacientů s FAP a její atenuovanou formou (AFAP). Mutace byly analyzovány pomocí denaturační vysokoúčinné kapalinové chromatografie (DHPLC) produktu PCR zahrnujícího exon 10 genu *CHEK2*. Nalezené mutace byly ověřeny sekvenováním. **Výsledky:** V souboru 433 pacientů jsme identifikovali celkem 3 nosiče sledované mutace (0,7%); v souboru pacientů s diagnózou FAP nebyla mutace nalezena. **Závěry:** Výskyt alely *CHEK2**1100delC je v České republice nízký. Ačkoliv četnost nálezu mutace v populaci pacientů s kolorektálním karcinodem je vyšší než v nenádorové populaci, je pravděpodobné, že nosiči mutace představují méně než 1% všech nemocných.

Klíčová slova: karcinom kolorekta, familiární střevní polypóza, *CHEK2*, dědičná dispozice, zárodečná mutace

Summary

Backgrounds: Czech republic belongs to the countries with the highest incidence of colorectal cancer in both male and female population. The vast majority of colorectal cancer diagnoses arise in a form of sporadic disease. The hereditary predisposition for colorectal cancer development could be found in about 5%. Along with mutations in the major predisposing genes (*APC*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *SMAD4*, *BMPRI1a*), the role of mutations in low penetrance genes is intensively studied. Recently it has been found that the frame-shifting *CHEK2* c.1100delC mutation contributes to the development of hereditary breast and colorectal cancer syndrome (HBC). **Methods:** We have performed mutation analysis of pathogenic *CHEK2* allele c.1100delC in 546 patients including 433 colorectal cancer patients and 113 patients with familial adenomatous polyposis (FAP). Mutation analysis was based on DHPLC prescreening, mutations were confirmed by sequencing. **Results:** We have characterized 3 mutation carriers, all in the colorectal cancer patients' cohort (0.7%). **Conclusion:** Based on our data we can speculate that Czech Republic belongs to countries with low occurrence of *CHEK2* c.1100delC allele, which therefore rarely contributes to the development of colorectal cancer and plays an insignificant role in cancer development in patients with FAP/AFAP.

Key words: colorectal cancer, *CHEK2*, familial adenomatous polyposis, hereditary disposition, germline mutation

Úvod

Česká republika patří mezi přední země s ohledem na výskyt karcinomu kolorekta (1). Incidence jeví trvale rostoucí charakter a v roce 2001 dosáhla u mužů 61,8/100 000, u žen pak 46,1/100 000 (UZIS ČR, NOR ČR 2001). Okolnosti vzniku kolorektálního karcinomu ovlivňuje řada faktorů, mezi které počítáme vlivy prostředí, dietní návyky i dědičné vloh. Doposud charakterizované genetické rizikové faktory (především zárodečné mutace v genu *APC* a genech

MMR systému) dávající vzniknout syndromům familiární adenomatózní polypózy (FAP), hereditárního nepolypózního kolorektálního karcinomu (HNPCC - Lynchův syndrom) a Lynchova syndromu. Základní charakteristikou FAP je výskyt mnohočetných polypů, které s téměř 100% pravděpodobností progredují ke vzniku kolorektálního karcinomu v průběhu pacientova života. Kromě syndromu FAP se vyskytují i pacienti s atenuovanou formou FAP (AFAP), u kterých je nacházen nižší počet polypů a pozdější nástup

onemocnění. Hereditární formy kolorektálního karcinomu způsobují necelých 5% karcinomů kolorekta. Prevalence FAP se v ČR pohybuje kolem 1 na 5000-7000 obyvatel (2). Vznik kolorektálního karcinomu je kromě mutací v hlavních predispozičních genech ovlivněn i alteracemi v řadě dalších genů. Jedním z možných kandidátních genů je *CHEK2* (checkpoint kinase 2, OMIM 604373) - proteinkináza modulující odpověď na genotoxická poškození. Sběžná role proteinu *CHEK2* spočívá v aktivaci (fosforylaci) proteinu p53. Delece cytosinu v pozici 1100 (*CHEK2* c.1100delC) způsobuje inaktivaci proteinu *CHEK2*. Díky posunu čtecího rámce dochází k předčasné terminaci translace se zkrácením proteinového produktu v místě kinázové domény. *CHEK2* c.1100delC je nejstudovanější mutací s prokázaným vztahem k řadě karcinomů (3). Na základě rozsáhlých populačních studií v různých zemích je tato mutace uváděna v souvislosti se zvýšeným rizikem vzniku karcinomu prsu (RR = 2) a výskytem HBCC syndromu - rodinného výskytu karcinomu prsu a kolorekta (4,5). V genu *CHEK2* bylo doposud popsáno několik dalších inaktivujících mutací v souvislosti se vznikem jak sporadických maligních nádorů (karcinom prsu, kolorekta, prostaty, štítné žlázy, osteosarkom) tak i hereditárních nádorových syndromů (Li-Fraumeni syndrom). Například mutace c.470T>C [I157T] se vyskytuje signifikantně častěji u pacientek s karcinomem prsu a u pacientů s karcinomem prostaty (6,7).

Cíl studie

Provedli jsme vyšetření četnosti alely *CHEK2**1100delC u neselektované populace pacientů s karcinomem kolorekta a v populaci pacientů s FAP a AFAP s cílem zhodnocení vlivu této alely na vznik hereditární a sporadické formy karcinomu kolorekta.

Tabulka 1.: Klinické a histopatologické charakteristiky pacientů s karcinomem kolorekta a mutací *CHEK2* c.1100delC. Ve všech třech případech se jednalo o pacienty mužského pohlaví.

Pacient	Věk při dg.	Charakteristiky nádoru		Sekundární malignita	Kouření	Maligní onemocnění v rodině (věk dg)
		Histologie nádoru	Stádium			
R72	57	středně diferencovaný adenokarcinom	Dukes D	0	Ano	?
No340	60	Tubulární uspořádaný ložiskově povrchně ulcerovaný adenokarcinom	Dukes B	0	Ano	0
No366	52	Tubulární adenokarcinom	Dukes C	0	Ano	Matka: karcinom prsu (45)

Diskuse

Od roku 2002 bylo provedeno testování několika rozsáhlých souborů pacientů s hereditárními i sporadickými karcinomy prsu na přítomnost mutace *CHEK2* c.1100delC u nás i v zahraničí. Z výsledků těchto šetření vyplývá, že gen *CHEK2* patří mezi geny s nízkou penetrancí a specificky delece cytosinu v pozici 1100 kódující sekvence může modifikovat riziko vzniku nádorů prsu, kolorekta, nebo prostaty. Výsledky rovněž naznačují, že výskyt nosičů této mutace se v evropském regionu snižuje směrem od severu ke středomoří. Menší počet prací, ve srovnání s pracemi věnovanými karcinomu prsu, je věnován výskytu mutace

Metody

Pacientkám zařazeným do studie bylo odebráno 5 ml nesrážlivé žilní krve po podpisu informovaného souhlasu schváleného etickou komisí. Genomová DNA byla izolována pomocí JetStar 96 blood kitu (Genomed, Löhne, BRD) dle protokolu výrobce. Z důvodů homologních sekvencí v lidském genomu byla oblast, zahrnující exon 10 genu *CHEK2* amplifikována dvoukrokově pomocí nested PCR na základě publikovaných postupů (8,9). Výsledný PCR produkt byl analyzován pomocí denaturační vysokoúčinné kapalinové chromatografie (DHPLC) systému WAVE (Transgenomic, Omaha, NE) na DNASep koloně při teplotě 55°C v gradientu acetonitrilu 50,4-59,4% (Buffer B, Transgenomic). Vzorky s aberantním elučním profilem na DHPLC byly charakterizovány sekvenováním (BigDye Terminator ver. 3.1, Applied Biosystems, Foster City, CA) na sekvenátoru ABI310 (Applied Biosystems).

Výsledky

Celkem bylo analyzováno 433 vzorků od pacientů s kolorektálním karcinomem a 113 vzorků od pacientů s FAP/AFAP. Mutační analýza v tomto souboru odhalila přítomnost tří nosičů patogenní alely 1100delC v souboru 433 nemocných s kolorektálním karcinomem (0,69%). Klinicko-patologické charakteristiky nosičů nalezené mutace jsou uvedeny v **tabulce č.1**. Pouze u jedné ze tří pozitivně testovaných osob ve skupině karcinomu kolorekta byl zaznamenán rodinný výskyt karcinomu prsu (u matky vyšetřované osoby).

Ve skupině 113 nemocných s FAP/AFAP nebyla studovaná mutace *CHEK2* c.1100delC nalezena.

Frekvence výskytu mutace *CHEK2* c.1100delC v neselektované obecné populaci (2/720; 0,27%) byla stanovena v předchozí studii (10).

c.1100delC u pacientů s karcinomem kolorekta a pacientů s HNPCC (11,12,13). I výsledky těchto analýz ukazují na podobný trend daný geografickým rozložením četnosti výskytu alely *CHEK2**1100delC, jako je tomu v případě karcinomu prsu. Zatímco studie pacientů s kolorektálním karcinomem v Nizozemí prokázala zvýšení relativního rizika vzniku kolorektálního karcinomu u nemocných s kolorektálním karcinomem (RR=1,5-2,0), podobná práce ve Španělsku nenalezla žádného nosiče mutace c.1100delC u 182 pacientů s HNPCC/HNPCC-like/HBCC. Četnost mutace c.1100delC u pacientů s kolorektálním karcinomem v naší populaci dosahuje 0,69%. Třebaže je tato hodnota

vyšší, než četnost v populaci pacientek s karcinomem prsu (4 ze 1046 pacientek s hereditárním a sporadickým karcinomem prsu; 0,38%), i vyšší než u nenádorových kontrol (0,27%), k potvrzení nálezu by bylo nezbytné vyšetřit velmi rozsáhlou populaci nemocných (10).

Závěr

Výskyt alely CHEK2*1100delC je v České republice nízký. Ačkoliv četnost nálezu mutace v populaci pacientů s kolorektálním karcinomem je vyšší, je pravděpodobné, že nosiči mutace představují méně než 1% všech nemocných. Ze zahraničních údajů vyplývá, že zvýšení rizika vzniku onemocnění je mírné (RR = 1,5-2,0). To spolu s nízkou penetrancí alely omezuje klinickou použitelnost jako predispozičního faktoru pro vznik kolorektálního karcinomu. Na druhé straně, vzhledem k rychlosti stanovení je možné uvažovat o zařazení tohoto vyšetření do bloku genetické analýzy predispozičních genů u osob se zvýšeným rizikem

vzniku onemocnění, kde je prováděno genetické testování. Získání dalších výsledků by umožnilo relevantní statistické zpracování četnosti výskytu i stanovení rizika v české populaci.

Seznam zkratk

AFAP - attenuated familial adenomatous polyposis (OMIM 175100), HBCC - hereditary breast and colorectal cancer syndrome; FAP - familial adenomatous polyposis (OMIM 175100), FHA - fork head associated; HNPCC - hereditary nonpolyposis colorectal cancer (OMIM 120435), CHEK2 - checkpoint kinase 2 (OMIM 604373); p53 (OMIM 191170); PCR - polymerase chain reaction; DHPLC - denaturant high performance liquid chromatography

Poděkování

Projekt byl podpořen finančními prostředky z nadace Běhu Terryho Foxe v roce 2005.

Literatura

1. Vorlíček J.: Lesk a bída onkologie. Vnitř Lék 50 Suppl 1, 2004, S9-22
2. Vandrovčova J., Stekrova J., Kebrdlova V. et al.: Molecular analysis of the APC and MYH genes in Czech families affected by FAP or multiple adenomas: 13 novel mutations. Hum Mutat 23, 2004, 397-397
3. Schutte M., Seal S., Barfoot R. et al.: Variants in CHEK2 other than 1100delC do not make a major contribution to breast cancer susceptibility. Am J Hum Genet 72, 2003, 1023-1028
4. Cybulski C., Huzarski T., Gorski B. et al.: A novel founder CHEK2 mutation is associated with increased prostate cancer risk. Cancer Res 64, 2004, 2677-2679
5. Meijers-Heijboer H., Wijnen J., Vasen H. et al.: The CHEK2 1100delC mutation identifies families with a hereditary breast and colorectal cancer phenotype. Am J Hum Genet 72, 2003, 1308-1314
6. Kilpivaara O., Vahteristo P., Falck J. et al.: CHEK2 variant I157T may be associated with increased breast cancer risk. Int J Cancer 111, 2004, 543-547
7. Dong X., Wang L., Taniguchi K. et al.: Mutations in CHEK2 associated with prostate cancer risk. Am J Hum Genet 72, 2003, 270-280
8. Sodha N., Houlston R.S., Williams R. et al.: A robust method for detecting CHK2/RAD53 mutations in genomic DNA. Hum Mutat 19, 2002, 173-177
9. Offit K., Pierce H., Kirchhoff T. et al.: Frequency of CHEK2*1100delC in New York breast cancer cases and controls. BMC Med Genet 4, 2003, 1-4
10. Kleibl Z., Novotný J., Malík R. et al.: Výskyt a význam mutace CHEK2*1100delC u pacientek s karcinomem prsu a v kontrolní skupině zdravých žen v České republice. Klin Onkol 18, 2005, 98-101
11. van Puijenbroek M., van Asperen C.J., van Mil A. et al.: Homozygosity for a CHEK2*1100delC mutation identified in familial colorectal cancer does not lead to a severe clinical phenotype. J Pathol 206, 2005, 198-204
12. Sanchez de Abajo A., de la Hoya M., Godino J. et al.: The CHEK2 1100delC allele is not relevant for risk assessment in HNPCC and HBCC Spanish families. Fam Cancer 4, 2005, 183-186
13. de Jong M.M., Nolte I.M., Te Meerman G.J. et al.: Colorectal cancer and the CHEK2 1100delC mutation. Genes Chromosomes Cancer 43, 2005, 377-382

Došlo: 15. 2. 2006

Přijato: 10. 8. 2006

ÚVAHY O ÚSKALIACH KOMBINOVANEJ LIEČBY NÁDOROV GLIE

REFLECTIONS ON THE PITFALLS OF COMBINED THERAPY IN GLIAL TUMORS

JURGA E. MALÝ M.¹

ONKOLOGICKÁ KLINIKA FN A TRNAVSKEJ UNIVERZITY V TRNAVE

VYSOKÁ ŠKOLA ZDRAVOTNÍCTVA A SOCIÁLNÝCH VIED SV. ALŽBETY V BRATISLAVE

¹ SLOVENSKÁ ZDRAVOTNÍCKA UNIVERZITA V BRATISLAVE

Napriek pokrokom techník neurochirurgie, plánovania a vpravenia dávky rádioterapie 3D konformálna rádioterapia, intensity modulated radiotherapy - IMRT), novším postupom v chemoterapii, prognóza chorých s primárnymi malígnymi gliómami ostáva zlá. Za posledné 2 dekády sa zaznamenal rast mediánu prežívania len 20 %.

Klinický manažment väčšiny gliových nádorov zahŕňa kontrolu peritumorového edému kortikoidami, kontrolu epileptických záchvatov a pohotovosti k nim antikonvulzívmi a maximálnu bezpečnosť chirurgického debulkingu, po ktorom väčšina autorov podporuje použitie frakcionovanej externej RT nielen na target volume, ale na treatment portal volume kvôli invazívnemu a infiltratívne charakteru rastu nádorov glie. Štúdia PIII (EORTC a NCI of Canada) na základe jej výsledkov odporúča konkurentnú rádiokemoterapiu (1). Napriek štatisticky významnému zlepšeniu mediánu prežívania (14,6 vs 12,1 mesiacov) a 2-ročného prežívania (26 vs 10%), je zrejme, že je potrebné ďalej hľadať efektívnejšie postupy.

Liečba mozgových nádorov podnecuje viacero unikátnych výziev. Hemoencefalická bariéra je funkčne variabilná s heterogénnosťou zreteľnou napr. pri zobrazení nukleárno-magnetickou rezonanciou (NMRI); po podaní gadolína, vidno regionálne narušenie blood-brain (B-B), alebo blood-tumor (B-T) barrier.(2).

Väčšinou sa žiaľ, na MRI zaznamenaná nádorová infiltrácia siahajúca za hranice zosilnenia. Naviac, je ťažké odlišiť nekrózu tkaniva a aktívny reziduálny nádor; obidve lézie vykazujú zosilnenie po podaní kontrastu.(3).

Preto, použitie tradičných kritérií hodnotenia nádorovej odpovede je problematické.

Tiež, súčasná medikácia, zvlášť podávanie antikonvulzív (phenytoin, carbamazepine, phenobarbital) môžu vážne alterovať farmakokinetiku viacerých cytostatík; tieto totiž indukujú hepatálne cytochrómové P450 enzýmy, ktoré významne menia metabolizmus a clearance cytostatík. Viaceré štúdie PI fázy ukázali, že maximálne tolerovaná dávka irinotekanu po antikonvulzívach indukujúcich hepatálne enzýmy je až 3-krát vyššia (4,5).

Napokon, až 80% tumorov s nízkym G-kódom má sklon k vyššej malignite; t.j. vývoj astrocytóm > anaplastický astrocytóm > glioblastóm (2, 7).

Aká je úloha nových techník v diagnostike nádorov CNS, v hodnotení terapeuticko-odpovede a identifikácii komplikácií kombinovanej liečby

Medzi novšie prístupy zobrazenia mozgových nádorov a hodnotenia liečebnej odpovede patrí protónová magneticko-rezonančná spektroskopia, difúzne zobrazenie a perfúzne zobrazenie. Pomocou magneticko-rezonančnej spektroskopie možno kvantifikovať metabolické zmeny vnútri nádorového tkaniva poskytujúc tak komplementárne informácie k rutinnému anatomickému zobrazeniu. Potenciálne použitie magneticko-rezonančnej spektroskopie teda prispieva k predchirurgickému plánovaniu, monitorovaniu odpovede na liečbu a k odlišeniu progresie ochorenia, kompletnej/parciálnej remisie a nálezu bez zmeny (CR/PR, NC=SD). Medzi hlavné zmeny v spektre high-grade mozgových nádorov patrí elevácia choline/creatine ratio, strata N-acetylaspartátu (NAA) a objavenie sa laktátu(3). Najpresnejšie určenie zmien v pomere cholin/kreatín by sa dosiahlo ak by sa cholin normalizoval voči kreatínu smerom od ipsilaterálneho/normálneho príľahlého mozgu. Limitácie magnetickej-rezonančnej spektroskopie spočívajú v neschopnosti merať špecifické metabolity záujmu, v slabej priestorovej rozlišovacej schopnosti

a v technických problémoch spočívajúcich v získaní adekvátneho spektra. Kľúčová je obozretná voľba miesta umiestnenia voxelu, pretože množstvo artefaktov môže degradovať signál a spektrá z centrálnej nekrotickej časti malígnych gliómov sú obvykle neinformatívne. Nedávne štúdie naznačovali, že MR spektrá obdržané z mozgového tkaniva príľahlého k tumoru môžu byť užitočné v odlišení primárnych a metastatických nádorov. V primárnych infiltrujúcich nádoroch mozgu v oblasti príľahlej k gadolíniovému zosilneniu je zvýšený pomer cholin/kreatín. Typické je, že v metastatických nádoroch s diskretnou hranicou medzi tumorom a mozgovým tkanivom zvýšený cholin v oblasti mozgu príľahlej k nádoru nevidno. Difúzna tenzorová analýza ukázala, že v primárnych nádoroch je znížená difúzia v oblasti hyperintenzívneho T2 signálu príľahlého ku kontrastom posilnenej masy, azda v dôsledku infiltratívne rastúceho nádoru, v porovnaní s difúziou vo vazogénnom edéme obklopujúcom mozgové metastázy. Kľúčovú nádorovú vaskularizáciu možno merať dynamic-kou MRI technikou. Nádorová vaskularizácia je charakteristická zvýšením počtu a permeability kapilár. Vyšší počet ciev v tumore vedie v porovnaní s normálnym mozgom, k zvýšeniu relatívneho cerebrálneho krvného objemu (rela-

tive cerebral blood volume-rCBV), ktorý možno merať dynamickou MRI technikou. Permeabilitu možno stanoviť mierou a stupňom enhancementu po podaní kontrastného agens pre zobrazovanie. rCVB koreluje s G-kódom a prežívaním pacientov (3,7). Tieto techniky naznačujú nástup novej éry neurozobrazovania.

Problémy s hodnotením liečebnej odpovede pri štandardnej liečbe a molekulárne - targetovanej terapii malígnych gliómov

Gliómy cerebrálnych hemisfér dospelých sú na rozdiel od iných nádorových ochorení zaujímavé tým, že tu možno pozorovať unikátnu koreláciu medzi histopatologickými charakteristikami, zobrazovacími rysmi a klinickým chovaním. Pri difúznom fibrilárnom astrocytóme je prítomná mierna expanzia postihnutej časti mozgu bez abnormálneho zosilnenia gadolíniom, alebo významného okolitého vazogénneho edému. Histologické vyšetrenie ukáže mierny vzostup celularity bez významnej angiogenézy.

Pri anaplastickom astrocytóme je dokaz nodulárneho zosilnenia gadolíniom odrážajúc prítomnosť novotvorených krvných ciev s abnormálnou B-B bariérou. Prítomná je stredná expanzia postihnutej oblasti mozgu s/bez dôkazu signifikantného okolitého vazogénneho edému.

Pri glioblastóme možno pozorovať výrazný mass effect a heterogénne zosilnenie s centrálne nezosilnenou oblasťou korelujúcou s miestom nekrózy. Extenzívna okolitá hyperintenzita relaxačnej doby T2 ukazuje na prítomnosť vazogénneho edému a infiltrujúceho nádoru.

Dôležité je, že difúzny astrocytóm je diseminovaný v mozgu už v čase stanovenia diagnózy; v tomto prípade nie vždy je prítomná dobrá korelácia s výsledkami zobrazovacích metód. Z toho vyplýva nutnosť neodkladného nasadenia intenzívnej liečby, ktorá odďaľuje čas k lokálnej recidíve/progresii a súčasne zlepšuje celkové prežívanie.

Low-grade gliómy cerebrálnych hemisfér rastú pomaly behom niekoľkých rokov. Pri oligodendroglióme nízkej malignity rastie diameter o 4 mm/rok (8). Odhaduje sa, že a low-grade gliómov dlhodobo postupne zväčšuje svoju veľkosť >objavujú sa ložiská abnormálneho zosilnenia gadolíniom; >svedčí to o rýchlom raste nádoru — > vznik sekundárnych glioblastómov. Približne 1/5 glioblastómov pochádza z low-grade lézií kde došlo k inaktivácii supresorového génu p53, pričom býva prítomná expresia receptora epidermálneho rastového faktoru (EGFR).

Ostatných 4/5 chorých nemá dlhú neurologickú anamnézu, tzn., že ide o primárne de novo glioblastómy. Genetické štúdie ukazujú, že tieto dve cesty formácie glioblastómov sú unikátne. Sekundárny glioblastóm má inaktiváciu p53 a normálny status EGFR, kým primárne glioblastómy nevykazujú abnormalitu p53, majú však overexpresiu EGFR.

Pre hodnotenie odpovede gliómov na RT a/alebo CT, osobitne v klinických triáloch, je potrebné použiť metódy rozhodovacích postupov (validita zobrazenia). V PI fáze ako end-point sa sleduje toxicita, v PII fáze rádiograficky overená response rate ako end-point, v PIII fáze ako end-point sa bude hodnotiť celkové prežívanie chorých. Štandardné kritéria definovania odovede CR, PR, NC=SD, PD sú zriedkavo použiteľné; CR a PR sú totiž vzácne. Z toho vyplýva, že ostáva hodnotiť progression-free survival (PFS) v 6-12 mesačných intervaloch ako primárny endpoint v triáloch fázy PII.

Súčasná liečba pestrého glioblastómu, anaplastického astrocytómu a oligodendrogliómu

Gliómy cerebrálnych hemisfér dospelých sú na rozdiel od iných nádorových ochorení zaujímavé tým, že tu možno pozorovať unikátnu koreláciu medzi histopatologickými charakteristikami, zobrazovacími rysmi a klinickým chovaním.

Pestry glioblastóm je najčastejší z nádorov glie, žiaľ za posledných 30 rokov sa celkové prežívanie chorých zmenilo málo. Ťažiskovou lečbou je chirurgická exeréza a RT, i keď vzhľadom k spôsobu rastu je chirurgicky inkurabilný. Chirurgická liečba však napriek tomu znamená pre pacienta benefit, pretože dochádza k ústupu intrakraniálnej hypertenzie, následne k redukcii potreby kortikoidov a vďaka debulkingu k zmenšeniu nádorového bremena a k odstráneniu hypoxického centra (core) nádora, ktorý je vzhľadom k jeho hypoxii rezistentný na RT a neodstupný pre cytostatiká. Pri zobrazovacích metódach (CT, MRI) sa zobrazí centrálna nekrotická oblasť obkolesená hrubým okrajom kontrastného enhancementu, rozsiahlym edémom a mass efektom. Bežne sa aplikuje 50 - 60 Gy na celý mozog, resp. 45 Gy na celý mozog + boost 15 Gy. K určitému zlepšeniu výsledkov RT prispieva alterovaná frakcionácia a podávanie rádiosenzibilizátorov.

Blood - brain barrier obmedzuje vstup neliposolubilných cytostatík do mozgu, navyiac sa prejavuje efekt hepatálneho cytochrómu P450 enzýmu indukovaného antikonvulzivami, čo môže významne ovplyvniť farmakokinetiku a farmakodynamiku cytostatík.

Anaplastický astrocytóm tvorí 8,2% všetkých gliómov a je charakterizovaný veľkou nádorovou heterogenitou. Určitý liečebný zisk predstavuje chirurgická exeréza a RT, ev. chemoterapia (CT) založená na derivátoch nitrózurey, resp. monochemoterapia temozolomidom.

Oligodendrogliómy sú charakterizované typickým genetickým profilom spočívajúcim v strate krátkeho ramienka chromozómu 1(1p) a dlhého ramienka 19 (19q); ide o klinickú entitu charakterizovanú dobrou odpoveďou chemoterapiu a lepšou prognózou. Prediktívna hodnota týchto genetických zmien je vyššia než hodnota charakteristického histopatologického vyšetrenia (nález okrúhlych až oválnych buniek s okrúhlym jadrom a „bland“ chromatinom dávajúci obraz „fried eggs“ s perinukleárnym „halo“). Ťažiskovou lečbou je extenzívna chirurgická exeréza a RT (low grade 50 - 55 Gy, high grade 60 - 65 Gy) pri dennej frakcii 1,8 Gy.

V I. línii chemoterapie sa uplatňuje režim PCV (prokarbazín+CCNU+vinkristín), v II. línii opäť temozolomid.

Miesto molekulárno - targetovanej liečby v rámci multimodálneho prístupu k manažmentu nádorov glie

Kladné výsledky liečby chronickej lymfatickej leukémie a gastrointestinálneho strómálneho nádoru imatinibom viedli k nereálnemu entuziazmu pri pokusoch s jeho aplikáciou u viacerých zhubných nádorov, včítane neoplaziem glie. Oprávnenosť selektívneho pôsobenia na špecifické molekulárne ciele a na cesty prenosu signálu podporovala skutočnosť, že prostriedky molekulárno-targetovanej liečby majú nízku molekulovú hmotnosť, teda prechádzajú cez hemoencefalickú membránu (9). Väčšina štúdií ukázala overexpresiu receptora epidermálneho rastového faktora

(EGFR, často s jeho vIII mutáciou) u viac než 40% glioblastómov (10). Je tu tiež vysoká miera mutácie, alebo inaktívacie PTEN génu, čo vedie k nekontrolovanej aktivite AKT pathway. Prominentnú úlohu angiogenézy v biológii gliových nádorov dokumentuje vysoká aktivita VEGF pathway (11).

Nedávny objav prediktívnej hodnoty molekulárnych zmien u anaplastického oligodendrogliómu (strata allely 1p a 19q) viedol rozšíreniu tradičnej definície molekulárne targetovanej liečby o stanovovanie špecifických molekulových profilov (genetických polymorfizmov) dovoľujúcich poskytovať prognostické informácie a predpovedať pravdepodobnosť nádorovej odpovede a toxicity protinádorovej terapie u individuálneho chorého (12). Nedávne štúdie naznačujú, že stav exprese alebo metylácie oblasti promótorového DNA reparačného génu (MGMT) môžu predpovedať mieru odpovede glioblastómu na určité cytostatiká. Pacienti s nádorom s nízkou aktivitou 06 - alkyl guanín DNA alkyltransferázy (proteínový produkt MGMT génu) vykazovali lepšiu odpoveď na deriváty nitrózourey (13). Podobné výsledky sa pozorovali pri derivátoch karbamidu a pri temozolomide, keď metylácia promótorovej oblasti MGMT génu sa javila ako determinant génovej exprese. (14). Abnormality predisponujú k génovej nestabilite a tým k rádio- a chemorezistencii. Z dobre známych aberantne aktivovaných cell signaling pathways u malígneho gliómu ide o mitogen - activated protein kinase (MAPK) a fosfatidylinositol 3-kinase pathways. Aktivácia týchto ciest môže byť spustená cestou mnohopočetných GFR-tyrosine kináz abnormálne aktivovaných autokrinnými a parakrinnými faktormi. Prvá generácia triálov s molekulárne - targetovanou liečbou sa realizovala cestou monoterapie; išlo o inhibitory EGFR (erlotinib, gefetinib), PDGFR (imatinib, PTK 787), molekulárny cieľ rapamycínu (tenosirolimus, sirolimus), farnesytransferázy (tipifarnib), VEGFR (PTK7 787). Možno konštatovať, že ich tolerancia bola dobrá, avšak účinnosť bola minimálna. Preto dnes sme svedkami o kombinovaný prístup s použitím viacerých molekulárne - targetovaných agens a cytostatík (11,15).

I v prípade molekulárne - targetovanej liečby malígnych gliómov sa potvrdilo, že povaha väčšiny nádorov je príliš zložitá, aby mohli byť liečené jedinou „zbraňou“/prostriedkom. Molekulové abnormality prispievajúce k fenotypu malígnych gliómov sú početné a komplexné. Abnormality TP53 predisponujú bunky k vystupňovanej genetickej nestabilite a tým k rádio-chemorezistencii. Abnormality pRB pathway a p15 INK4B uvoľňujú brzdy bunkovej proliferácie a dochádza k dysregulovanému bunkovému rastu. Významná je rezistencia k apoptóze, sprevádzaná vystupňovanou invazivitou a proliferujúcou angiogenézou; ide o dôležité fenotypické charakteristiky nádoru (16).

U malígnych gliómov sú známe a dobre preštudované aberantne aktivované cell signaling pathways (mitogen - activated protein kinase - MAPK + fosfatidyl inositol 3 - kinase - PI3K). K aktivácii týchto ciest dochádza prostredníctvom početných rastových faktorov s ich receptormi (GFR-tyrosine kinases - EGFR, IGF-1, VEGFR, FGFR, PDGFR); sú abnormálne aktivované autokrinnými a parakrinnými faktormi (16,17).

Ako definujeme úspech?

Po RT ako ťažiskovej liečebnej modalite pri malígnych gliómoch sa pri histopatologickom vyšetrení ukázalo, že enhancing mass je prevažne nekrotické tkanivo ako výsledok odpovede na liečbu. Použitie klasických kritérií odpovede diktované tradičnými end-pointami (RECIST - Response Evaluation Criteria in Solid Tumors) môže byť problematické. Užitočným kritériom bezprostrednej liečebnej odpovede pri mozgových nádoroch je absencia progresie. Klasické miery účinnosti sa sústreďujú na klinický benefit (response rate, predĺženie prežívania). V prípade modulátorov prenosu signálu je dôležité odlišovať klinickú s biologickú účinnosť. Sériové zobrazovacie metódy často nekorelujú s benefitom v prežívaní chorých a preto sa v týchto prípadoch musíme vrátiť ku konvenčným kritériám hodnotenia redukcie nádoru (najdlhší diameter x diameter kolmý naň). Často sme potom odkázaní na použitie alternatívnych end-pointov (6-mesačný progression-free survival).

Novou výzvou je hodnotenie účinnosti molekulárne - targetovanej liečby, ktorá ako monoterapia zlyhala. Na rozhraní fázy II a III. sú klinické triály s použitím viacerých molekulárne targetovaných agens v kombinácii s tradičnými cytostatikami. Problémom klinických triálov pri nádoroch glie je ich nízka incidencia, nízka miera zaradenia do triálov kvôli nespĺneniu kritérií vhodnosti; je tu teda značná časová náročnosť.

Nevyhnutná je preto inovácia designu klinických triálov pri malígnych gliómoch (factorial design/adaptive allocation strategy/Bayesian approach). Tieto postupy vystačia s ďaleko menšími súbormi než sekvenčné štúdie fázy II.

Záver

Napriek pokrokom v neurochirurgii, rádioterapii, novším postupom v chemoterapii a zavedeniu molekulárne - targetovanej liečby ostáva prognóza nádorov glie zlá. V zobrazovacej diagnostike nádorov glie, predovšetkým však pri hodnotení liečebnej odpovede sa študujú novšie postupy (protónová magneticko - rezonančná spektroskopia, dynamická MRI technika, relative cerebral blood volume - rCBV); tieto metódy predstavujú novú éru neurozobrazovania.

Histopatologická diagnostika neadekvátne predpovedá odpoveď na liečbu. rozvíja sa preto úsilie stratifikovať chorých na základe stanovenia špecifických molekulových profilov, molekulových alterácii. Detekcia týchto genetických polymorfizmov dovoľuje predikciu liečebnej odpovede, toxicity terapie a odhad prognózy.

Vzhľadom k nízkej incidencii nádorov glie je žiadúci novší design klinických štúdií (factorial design, Bayesian probability, adaptive allocation strategy).

Liečba malígnych gliómov konvenčnou chemoterapiou je sklamaním. To isté platí pre monoterapiu pomocou molekulárne - targetovaných agens. Perspektíva je kombinácia viacerých molekulárne - targetovaných agens a konvenčnej cytostatickej liečby.

Targetované agens však žiaľ nespĺnili očakávané prísluby. Domnievam sa, že výsledky boli zvrhľované príliš skoro, pretože ich klinický benefit je nateraz malý, kým finančné bremeno je značné.

Literatúra

1. Stupp R., Mason WP, van den Bent et al: Concomitant and adjuvant temozolomide (TMZ) and radiotherapy for newly diagnosed glioblastoma multiforme (GBM). Conclusive results of randomised phase III trial by the EORTC Brain and RT groups and NCIC Clinical Trial Group. *Proc. Amer. Soc. Clin. Oncol.* 23:1,2004 (abstr.2)
2. Lesniak MS, Langer R, Brem H: Drug delivery to tumors of the central nervous system. *Curr.Neurol.Neurosci. Rep.*1:21 0-216,2000.
3. Forsyth PA, PetrovE , Mahallati H et al: Prospective study of postoperative magnetic resonance imaging in patients with malignant glioma. *J. Clin. Oncol.* 15:2076-2081, 1997
4. Gilbert MR: Molecularly targeted therapy for malignant gliomas: An introduction. s.155-160 In: Perry MC: 2005 American Society of Clinical Oncology. Educational Book, Alexandria VA, 975 s. 41st Annual Meeting , May 13-17, 2005, Orlando, FL
5. Gilbert MR, Supko JG, Batchelor T. et al: Phase I clinical trial and pharmacokinetic study of irinotecan in adults with recurrent malignant glioma. *Clin. Cancer Res.* 9:2940-2949, 2203
6. Prados MD, Scott CB, Rotman M et al: Influence of bromdoexyuridine radiosensitization on malignant glioma patient survival: A retrospective comparison of survival data from the Northern California Oncology Group_NCOG and Radiation Therapy Oncology Group Trials (RTOG) for glioblastoma multiforme and anaplastic astrocytoma. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* , 40:653-659, 2004
7. Vertosick FT, Selker,RG, Arena VC, : Survival of patients with well differentiated astrocytomas diagnosed in the era of computed tomography. *Neurosurgery* 28:496-501,1991
8. Mandonnet E., Delattre JY, Tanguy ML et al: Continuous growth of mean tumor diameter in a subset of grade II gliomas. *Ann. Neurol.* 53:524-528,2003
9. Tremont-Lukats IW, Gilbert MR: Advances in molecular therapies in patients with brain tumor. *Cancer Control* 10: 125-137, 2003.
10. Chakravarti A, Dicker A, Mehta,M.: The contribution of epidermal growth factor receptor (EGFR) signaling pathway to radioresistance in human gliomas: A review of preclinical and correlative clinical data. *Int. J. Radiat. Oncol.,Biol. Phys.*58:927-931, 2004
11. Mischel PS, Nelson SF, Cloughesy TF: Molecular analysis of glioblastoma: pathway profiling and its implications for patient therapy. *Cancer Biol. Ther.* 2:242-247,2003
12. Bauman GS, Ino Y, Ueki K et al: Allelic loss of chromosome 1p and radiotherapy plus chemotherapy in patients with oligodendrogliomas. *Int. J. Radiat. Oncol., Biol., Phys.* 48:825-830,2002
13. Jaeckle KA, Eyre H, Townsend JJ et al: Correlation of tumor 06 methylquanine -DNA methyltransferase levels with survival of malignant astrocytoma patients treated with bischloroethylnitrosourea: a Southwest Oncology Group study. *J. Clin. Oncol.*, 16: 3310-3315,1998
14. Hegi M, Discrens, AC, Godard S, et al: Clinical trial substantiates the predictive value of 0-6-methylquanine-DNA methyltransferase promoter methylation in glioblastoma patients treated with temozolomide. *Clin. Cancer Res.*10:1871-1874,2004
15. Rich JN, Reardon DA, Perry T, et al: Phase II trial of gefitinib in recurrent glioblastoma. *J.Clin. Oncol.*22:133-142,2004
16. Rich JN, Brigner, DD: Development of novel targeted therapies in the treatment of malignant glioma. *Nature Rev. Drug Disc.* :430-446,2004
17. Druker BJ: Perspectives on the development of a molecularly targeted agent. *Cancer Cell* 1: 31-36,2002

Došlo: 17. 7. 2006
Přijato: 25. 9. 2006

VÝSLEDKY LÉČBY KARCINOMU REKTA A REKTOSIGMOIDEA V KUVAJTU - RETROSPEKTIVNÍ ANALÝZA

TREATMENT OUTCOME OF RECTAL AND RECTOSIGMOID CANCER IN KUWAIT - A RETROSPECTIVE ANALYSIS

MOHAMMAD MOTAWY, MD¹. SADEQ ABUZALLOUF, FRCPC¹. OMAR EL-HATTAB².
GEORGE THOMAS, MD¹. SALAH FAYAZ, MD¹. AYMAN MURRAY, MSC.³

¹ DEPARTMENT OF RADIATION ONCOLOGY

² DEPARTMENT OF EPIDEMIOLOGY AND KUWAIT CANCER REGISTRY,

³ TUMOR BIOLOGY LABORATORY

ABSTRACT

Aim: Incidence of rectal and rectosigmoid cancer has wide geographical variation. Disease pattern in developing countries is different from developed countries. This analysis was undertaken to describe patient profile and to review the outcome of adjuvant therapy for rectal and rectosigmoid cancer at Kuwait Cancer Control Center. **Patients and Methods:** We retrospectively evaluated rectal and rectosigmoid cancer patients diagnosed between 1998 - 2004. One hundred and ninety three patients with rectal and rectosigmoid cancer were included. Only 11% of the patients were diagnosed with stage I disease, 28% with stage II, 53% were stage III, and 7.9% were stage VI. About 76.6% underwent anterior resection while 23.3% underwent abdomino-perineal resection or Hartman procedure. Only 63.2% of the patients received radiotherapy, and of those only 36 patients had preoperative radiotherapy. Only 35.2% of patients received adjuvant chemotherapy. **Results:** The male to female ratio was 1.4 and the median age of the patients was 52.11 years. Cancer of the rectum constituted 64.2% while rectosigmoid cancer constituted 35.8% of the cases. About 17.7% had tumor located within 5 cm from anal verge. Locally advanced or metastatic disease were found in 67.6%. Tumor involving more than 1/3 of the lumen circumference was found in 49.1% of cases. Liver was the most frequent site (14.5%) of metastasis followed by lung (4.1%). Well, moderately and poorly differentiated adenocarcinoma constituted 16.8%, 68.8% and 14.5% of the cases, respectively. The disease free survival was influenced significantly by the lymph nodes status and chemotherapy. Among the whole group, the local recurrence was 18.7%, while the disease free survival and overall survival were 42.7 and 90.04%, respectively. **Conclusions:** Rectal cancer in Kuwait differs from western countries with a high propensity for locally advanced tumors because of delayed referral and misdiagnosis.

Key Words: rectal cancer, Adjuvant treatment, Radio-chemotherapy.

Introduction:

In Kuwait rectal and rectosigmoid cancer (RRC) is the sixth most common cancer in Kuwaiti males and the ninth in Kuwaiti females (3).

In the year 2003, the age standardized incidence rate (ASIR world) for RRC among Kuwaiti males was 2.8 while it was 4.0 among Kuwaiti females. On the other hand, non-Kuwaiti males and females showed ASIR of 2.0 and 3.3 respectively. Mortality rate from RRC was 2.6 /100,000 among Kuwaitis (3). On the other hand, ASIR world of cancer of the rectum in USA was 8.36 in males and 4.87 in females. England showed 11.59 for males and 5.63 for females. Algeria showed a much lower rate 0.52 and 0.51 among males and females respectively, while in Oman the incidence among males were 1.92 and 0.76 among females.

Although surgery is the main stay of treatment of RRC, radiotherapy (XRT) and chemotherapy play a vital role. There have been significant improvements in its management over the past two decades leading to improved local control and overall survival. These include total mesorectal excision, pre-operative XRT and 5-Fluorouracil (5-FU).

Aim of Study:

The aim of this study was to evaluate the results of 'standard' surgery followed by adjuvant XRT or radio-chemotherapy for RRC treated at Kuwait Cancer Control Center (KCCC) from 1998 to 2004.

Patients and Methods

The medical files of 193 patients seen at the KCCC between 1998 and 2004 were retrospectively reviewed. The staging system was modified according to the AJCC system 2002. All of the patients were treated for RRC. Out of 154 patients underwent surgery, anterior resection (AR resection) was performed in 76.6% of cases while only 17.5%, and 5.8% had abdomino-perineal resection (A-P resection) and Hartman procedure respectively. The distribution of patients who underwent AR resection according to stage was 13.8%, 30.3%, 53.2% and 2.8% for AJCC stage I, II, III and VI respectively. On the other hand, 11.1%, 25.9% and 63% of patients with AJCC stage I, II and III respectively, underwent A-P resection.

Radiotherapy was given 6-8 weeks following surgery and consisted of a 6/18 MV photon beam using 3-field isocen-

tric technique. In 1995, three-dimensional CT-planning system was introduced (Helax TMS system). Target volume included the presacral space and the internal iliac and common iliac lymph nodes as well as the dorsal wall of the urogenital organs. After A-P resection, the perineal scar was included in the target volume. With five fractions per week and a daily dose of 1.8 Gray (Gy), a mid-tumor dose (MTD) of 50.4 Gy was delivered. 5-FU as a radio-sensitizer was given in the first (450mg/m²) and last 3 days (300mg/m²) of the radiotherapy. Only 86 patients had postoperative XRT and of those, 63 patients had undergone AR resection.

Pre-operative XRT was started at KCCC in 2001. The pre-operative XRT dose is 45Gy/25 fractions with the same 5-FU radiosensitizer dose as for postoperative XRT. In addition, the target volume remained the same except for the perineal scar, which is included in the postoperative XRT following A-P resection. Only 36 patients received pre-operative XRT. Following pre-operative XRT, AR resection, A-P resection and Hartman procedure was performed on 18, 3 and one patients respectively. The remaining 14 patients were operated on outside KCCC.

As for adjuvant chemotherapy, sixty-eight patients received additional chemotherapy with six courses of 5-FU and Leucovorin. Each course consisted of five daily bolus intravenous injections of 5-FU 500 mg/m²/day and Leucovorin 20 mg/m²/day (Mayo clinic regime).

Post-treatment follow-up was carried out every 3 months for the first 2 years, then every 6 months for the next 3 years then annually. History and physical exam was performed on every visit. Blood tests (including CBC, serum electrolytes, liver and renal function tests and tumor markers CEA and CA19.9) and abdominal ultrasound or CT scan were done every 6 months. Colonoscopy and chest x-ray were done annually. The median length of follow-up was 37 months (range: 13 to 151 months). End points studied included overall survival and disease-free survival.

Statistical analysis

Statistical Analysis was used to determine prognostic factors with significant impact on overall survival and Disease free survival, including age, primary tumor stage, primary tumor location (above vs. below peritoneal reflection), presence of lymphatic vessel invasion, surgical method (A-P Vs AR resection) and XRT dose. Survival rates were calculated and compared using the Kaplan Meier method. Log rank test was used for comparison of survival curves. A significance level of 0.05 was set for this study.

Results

One hundred and ninety three files (59.1 % males, 41.9 % females) were identified, reviewed, and abstracted on a computer ready form.

Median age of patients was 51 years (range: 25 to 96). Kuwaitis represented 98 cases (50.8%) Vs. 95 Non-Kuwaitis. Only 9.3 % had family history of cancer. Moreover, about 21.2% had diabetes and 17.6 had hypertension. The frequency of presenting symptoms was as follow: rectal bleeding (74.1%), pain (33.2%), weight loss (24.9%), constipation (18.1%), diarrhea (14%), and others (less than 10%). Carcino-embryonic antigen (CEA) level was taken pre-operatively for 136 patients (70.5%). One hundred and sixty four patients (85%) had pre-operative colonoscopy or sigmoidoscopy. (Table 1)

Table 1.: Patient and Tumor Characteristics

		No.	%
Age	20-30	9	4.7
	30-40	32	16.6
	40-50	44	22.8
	50-60	44	22.8
	60-70	43	22.3
	70+	21	10.9
	Median Age	51.0	
Sex	Range	25-96	
	M	114	59.1
Nationality	F	79	41.9
	K	98	50.8
Positive Family History of malignancy	NK	95	49.2
		18	13.4
Presenting Symptoms:			
	Rectal bleeding.	143	74.1
	Pain	64	33.2
	Weight loss	48	24.9
	Constipation	35	18.1
	Diarrhea	27	14.0
	Other	38	19.7
Distance from Anus:			
	< 2 cm	1	0.6
	2 – 5 cm	33	17.1
	> 5 cm	121	62.7
Circumference of tumor:	1/4	6	3.9
	1/2	22	14.2
	3/4	37	23.9
	Full	39	25.2
Type:	Ulcerative	85	44.0
	Proliferative	52	26.9
	Infiltrative	9	4.7
	Ultero-proliferative	35	18.1
Investigation:			
	Proctoscopy	5	2.6
	Sigmoidoscopy	13	6.7
	Colonoscopy	151	78.2
Tumor Markers:			
CEA:	≤3	36	18.7
	>3	100	51.8
CA 19.9:	≤30	44	22.8
	>30	88	45.6
Stage:	I	18	11.0
	II	46	28
	III	87	53
	IV	13	7.9
Site:			
	Rectum	124	64.2
	Recto-Sigmoid	69	35.8
Pathology:			
Grading:	Adenocarcinoma	172	89.1
	I		
	II	29	16.8
	III	119	68.8
Lymph Nodes:			
		25	14.5
	0-		
	2-	82	58.2
	4-	25	17.7
	6+	16	11.3
		17	12.1

Cancer of the rectum constituted 64.2% while rectosigmoid cancer constituted 35.8% of the cases. About 17.7% had tumor located within 5 cm from anal verge. Locally advanced or metastatic diseases were found in 67.6%. Tumor involving more than $\frac{1}{2}$ of the lumen circumference was found in 49.1% of cases. Liver was the most frequent site (14.5%) of metastasis followed by lung (4.1%). Well, moderately and poorly differentiated adenocarcinoma constituted 16.8%, 68.8% and 14.5% of the cases respectively.

Loco-regional Control

Among our cases, 19.7% had recurrent disease distributed as follow: 18.7% local, 5.7% loco-regional nodes, 8.8% liver metastases, 6.7% lung metastases, 4.7% bone metastases and 1% brain metastases.

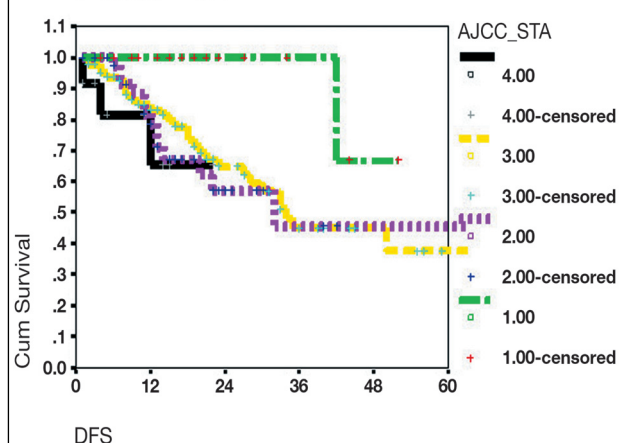
The loco-regional control rate was 88.9% in stage I, 69.6% in stage II, 75.9% in stage III. ($P=0.14$).

Survival

The calculated 5-year overall survival was 90.04% and $SE=3.5$. While disease free survival (DFS) was 42.7 and $SE=7.4$. Disease free survival did not show significant statistical difference in relation to sex ($P=0.9$) nor nationality ($P=0.56$). DFS was 66.7%, 45.5% and 65.2% for patients with stage I, II and III respectively ($P=0.1$) (Figure 1). Moreover DFS did not show significant statistical difference in relation to type of surgery (P value = 0.47, or tumor site ($P=0.17$). On the other hand, lymph node involvement showed statistical significant effect on DFS (P value = 0.036). Also, the use of Adjuvant Chemotherapy ($P=0.029$) had a statistically significant effect on DFS after 5 years. Comparing pre-operative and postoperative XRT effect on DFS did not show significant statistical effect ($P=0.3$) (Figure 2). (Figure 1),.

Fig. (1) : DFS in relation to AJCC Stage

P value = 0.1

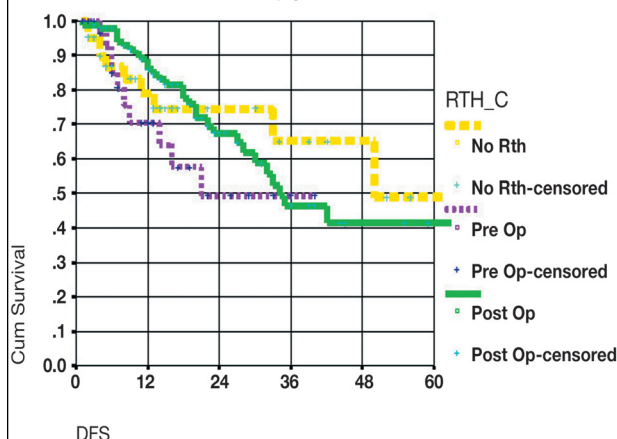


Toxicity

The major acute toxicities of treatment were gastrointestinal (21.2%), dermatological (17.6%) and genitourinary (10.9%). Chronic side effects were very rare (4.7%) and as follow: fibrosis (1%), chronic diarrhea (1%), intestinal obstruction (0.5%), impotence (0.5%), and chronic pain (0.5%)

Fig. (2) : DFS in relation to

Radiation Therapy P value = 0.3



Discussion

Rectal cancer is one of the most frequently diagnosed malignancies of the gastro-intestinal tract in the western world (5). In the United States, cancer of the large bowel is the second most common cause of cancer death after cancer of the lung. (14) The incidence of rectal cancer in USA is less than in Kuwait (3-4).

Our patients were younger at presentation. For instance, the median age of all patients was 51 years compared to the west (1). Also age did not have any significant influence on local control or survival as suggested by some studies. (9). It was surprising to find that there were not more patients, who claimed a family history of rectal cancer in view of high incidence of consanguineous marriage in Kuwait as only 13.4% of positive family history reported among the whole group. Almost 20% of the patients reported were found to have circumferential tumors by colonoscopy and this has not been found to be associated with prognosis.

The duration of symptoms was more than 2 months in 57.8% of patients, suggesting delayed presentation and referral to specialized centers. About 59.1% of patients had locally advanced growths signifying the lack of screening programs as well as delayed diagnosis. Pre-treatment tumor marker (CEA) was not found to be a prognostic factor for survival. The rate of sphincter preservation in this study (61.1%) was comparable to that reported in literature (40-70%) (4) reflecting that most of the tumors (67.8%) were located in the upper part of the rectum (>5 cm from anal verge). Several randomized studies have found lower rates of local failure with pre-operative XRT than with surgery alone. However, only the Swedish Rectal Cancer Trial, which evaluated a short course of pre-operative XRT (25 Gy delivered in five fractions), found an advantage in overall survival (11). The authors of a subsequent meta-analysis also concluded that the combination of pre-operative XRT and surgery, as compared with surgery alone, significantly improves local control and overall survival (2). The Dutch Colorectal Cancer Group reported that the additional of short courses pre-operative radiotherapy to optimal surgery with total mesorectal excision reduced the rate of local recurrence, but did not improve two-year survival (7). The German Rectal Cancer Group randomly assigned 823 patients with clinically

staged T3/T4 or node-positive rectal cancer to the same chemo-radiotherapy regimen administered either pre-operatively or postoperatively: 50.4 Gy in 28 daily fractions to the tumor and pelvic lymph nodes concurrent with infusional 5-FU (1000 mg/m² daily for five days during the first and fifth weeks of XRT). They concluded that pre-operative chemo-radiotherapy, as compared with postoperative chemo-radiotherapy, improved local control and were associated with reduced toxicity but did not improve overall survival (10). Because of such results, pre-operative XRT was started in our center over the past three years.

The disease-free survival (42.6%) for patients treated with radio chemotherapy in our series is slightly lower than that reported from randomized trials recently (8,12-13). Also, pre-operative XRT was not superior in terms of local control in comparison with postoperative XRT. Patients treated with radio-chemotherapy in our series experienced more local recurrence (18.7%) than that reported in the Norwegian trial (12%), the Gastrointestinal Intergroup trial (10%) and the Intergroup 0114 trial (11%) (8, 12-13). This can be

partly attributed to the possible bias effect from such retrospective analyses and to the non-standardized criteria for adjuvant treatment. Since more than 60% of our patients had locally advanced or metastatic diseases as well as late referral to tertiary care centers have contributed significantly to our results.

Conclusions

Rectal and rectosigmoid cancer in Kuwait is different from western countries with a high propensity for locally advanced tumors because of delayed referral and misdiagnosis. Improved local control and survival can be achieved by careful patient selection and judicious use of adjunctive therapy and surgery. Analysis of results is also more meaningful based on clinically staged categories of patients as is routinely done for most other tumors.

Acknowledgement

Thanks to R. Mohamed Thahir for his secretarial cooperation.

References

1. Bear, H.D., MacIntyre, J., Burns, H., J., G., Jarrett, F., Wilson, R.E. Colon and rectal carcinoma in the west of Scotland. *Am J Surg* 1984; 147: 441-446.
2. Camma, C., Giunta, M., Fiorica, F., Pagliaro, L., Craxi, A., Cottone, M. Pre-operative radiotherapy for resectable rectal cancer: a meta-analysis, *JUMA*, 284, 1008-1015, 2000.
3. El Hattab, O and Al Asfour, A: The Annual Report of The Kuwait Cancer Registry, 2002, MOH, Kuwait, 2005
4. Globocan, International Agency of Research on Cancer (IARC), 2002
5. Greenlee, R.T., Hill-Harmon, B.M., Murray, T., Thun, M., Cancer statistics, *CA Cancer J Clin*, 51, 15-36, 2001.
6. Isbister, W.H., Fraser, J., Survival following resection for colorectal cancer: A New Zealand national study, *Dis Colon Rectum*, 28, 725-727, 1985.
7. Kapiteijn, E., Marijnen, C., A.M., Nagtegaal, I.D., Putter H, Steup, W., H., Wiggers, T., Rutten, H.J., Pahlman, L., Glimelius, B., Van Krieken, J.H., Leer, J.W., Van De Velde, C.J., Dutch Colorectal Cancer Group; Pre-operative radiotherapy combined with total meso-rectal excision for resectable rectal cancer, *N. Engl. J. Med*, 345, 638-646, 2001.
8. O'Connell, M.J., Martenson, J.A., Wieand, H.S., Krook, J.E., Macdonald, J.S., Haller, D.G., Mayer, R.J., Gunderson, L.L., Rich, T.A., Improving adjuvant therapy for rectal cancer by combining protracted-infusion fluorouracil with radiation therapy after curative surgery, *N Engl J Med*, 331, 502-507, 1994.
9. Phillips, RKS., Hittinger, R., Blesovsky, L., Fry, JS., Fielding, LP. Local recurrence following curative surgery for the large bowel cancer; The overall picture. *Br J Surg* 1984; 71: 12-16.
10. Sauer, R., Becker, H., Hohenberger, W., Rodel, C., Wittekind, C., Fietkau, R., Martus, P., Tschmelitsch, J., Hager, E., Hess, CF., Karstens, JH., Liersch, T., Schmidberger, H., Raab, R., German Rectal Cancer Study Group. Preoperative versus postoperative chemoradiotherapy for rectal cancer. *N Engl J Med*, 351, 1731-40, 2004.
11. Swedish Rectal Cancer Trial. Improved survival with pre-operative radiotherapy in resectable rectal cancer, *N. Engl. J. Med.*, 336, 980-987, 1997 (Erratum, *N. Engl. J. Med.*, 336:1539,1997.).
12. Tepper, J.E., O'Connell, M.J., Petroni, G.R., Hollis, D., Cooke, E., Benson, A.B., Cummings, B., Gunderson, L.L., Macdonald, J.S., Martenson, J.A., Adjuvant postoperative Fluorouracil-modulated chemotherapy combined with pelvic radiation therapy for rectal cancer: initial results of Intergroup 0114, *J Clin Oncol*, 15, 2030-2039, 1997.
13. Tveit, K.M., Guldvog, I., Hagen, S., Trondsen, E., Harbitz, T., Nygaard, K., Nilsen, J.B., Wist, E., Hannisdal, E., Randomized controlled trial of postoperative radiotherapy and short-term time-scheduled 5-Fluorouracil against surgery alone in the treatment of Duke's B and C rectal cancer, *Br J Surg*, 84, 1130-1135, 1997.
14. Wingo, P.A., Tong, T., Bolden, S., Cancer Statistics, *CA*, 45, 8-30, 1995.

Došlo: 20. 5. 2006
Přijato: 30. 1. 2007

POKROKY V ČIPOVÝCH TECHNOLOGIÍCH ZNAMENAJÍ POKROKY V BIOMEDICÍNSKÉM VÝZKUMU I KLINICKÉ DIAGNOSTICE

ZPRÁVA Z KONFERENCE ADVANCES
IN MICROARRAY TECHNOLOGY 2006,
AMSTERDAM, 30.10. - 2.11.2006

REPORT FROM CONFERENCE ADVANCES IN MIC-
ROARRAY TECHNOLOGY 2006, AMSTERDAM,
30.10. - 2.11.2006

SLABÝ O.
MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV, BRNO

Na přelomu října a listopadu 2006 uspořádala společnost Select Biosciences v amsterdamském hotelu Hilton mezinárodní konferenci **Advances in Microarray Technology 2006** zaměřenou na pokroky, kterých bylo v minulém roce dosaženo napříč celým spektrem čipových technologií a jejich aplikací především v oblasti biomedicíny. Moje účast na konferenci byla spojena s prezentací posteru zařazeného do sekce Clinical diagnostics - „**Usage of low-density oligonucleotide microarrays for prognosis prediction of colorectal cancer patients**“ autorského kolektivu Slabý O., Garajová I., Svoboda M., Fabian P., Šmerdová T., Vyzula R. z Masarykova onkologického ústavu v Brně.

Program konference byl rozdělen do několika tematických bloků zaměřených na bioinformatiku, vývoj čipových technologií, DNA čipy pro detekci genových polymorfizmů, DNA čipy ke stanovení genové exprese, proteinové čipy a čipy sloužící ke studiu proteinových interakcí. Ve všech sekcích bylo možné vyslechnout přední odborníky na dané problematiku. Z kapacitních důvodů zmiňuji podrobněji pouze tři vybrané referáty.

První přednáškový blok zaměřený na bioinformatiku zahájil dr. Alvis Brazma vedoucí týmu vyvíjejícího internetový databázový systém pro ukládání, analýzy a výměnu expresních dat ArrayExpress (<http://www.ebi.ac.uk/array-express>) z Evropského Bioinformatického Institutu (EBI). Jeho tým se rovněž podílí na vytváření standardů, výměnných formátů (MIAME - **Minimum Information About a Microarray Experiment** a MAGE - **MicroArray and Gene Expression**) a protokolů pro ukládání a výměnu dat získaných z čipových studií. Přednáška velice přehledně shrnovala současné možnosti a trendy ve výměně dat z čipových analýz a workflow v případě multicentrických biomedicínských studií za využití aplikací vytvořených týmem na EBI. Poněvadž akceptování publikace ve většině odborných periodik s impakt faktorem vyšším než tři je dnes podmíněno poskytnutím hrubých dat z čipových analýz v nějakém z výše uvedených výměnných formátů, je pro odborné pracovníky využívající některou z čipových technologií orientace v pojmech jako je MIAME a MAGE nutností. Podrobnosti o projektech spojených z čipovými technologiemi probíhajícími na EBI naleznete na internetových stránkách (<http://www.ebi.ac.uk/microarray>).

V bloku zaměřeném na bioinformatiku zazněla rovněž přednáška prof. Domanyho z Weizmannova institutu v Izraeli zaměřená na problematiku identifikace unikátní sady genů sloužící k predikci prognózy u pacientek

s mamárním karcinomem v souvislosti s **první mezinárodní klinickou prospektivní studií založenou na čipových analýzách MINDACT** (Microarray In Node negative Disease may Avoid ChemoTherapy, EORTC Protocol 10041 - BIG 3-04 - <http://www.eortc.be/services/unit/mindact>) pořádanou sítí výzkumných pracovišť **TRANSBIG** (40 institucí v 21 zemích) s celkovým rozpočtem přibližně 20 milionů eur a s plánovaným ukončením v roce 2010. V prvních třech letech se očekává zařazení přibližně 5000 pacientek. Studie **MINDACT** je založena na výsledcích studie dr. van't Veerové publikované v Nature v roce 2002, ve které identifikovala sadu 70 genů schopnou predikovat metastatický potenciál nádorů u pacientek s mamárním karcinomem v časných stádiích. Vzhledem k tomu, že pouze jedna třetina adjuvantně léčených pacientek má z terapie užitek, umožňovalo by genomové profilování racionální indikaci adjuvantní chemoterapie na základě individuálních vlastností daného nádoru a její redukci až o 70%, což by mělo význam nejen v zamezení zatěžování pacienta náročnou a pro něj neúčinnou léčbou, ale také z hlediska farmakoekonomického. Riziko metastatického postižení a následně indikace adjuvantní terapie je ve studii **MINDACT** hodnocena paralelně pomocí veřejně přístupné webové aplikace Adjuvant! na základě běžně používaných diagnostických kritérií a pomocí exprese sady 70 genů získané z bioptického vzorku primárního karcinomu pomocí DNA čipu **MammaPrint** vyrobeného společností Agendia na základě genové sady identifikované dr. van't Veerovou. Studie se dělí do tří ramen. První rameno je tvořeno pacienty s vysokým rizikem metastazování dle obou metodik a je spojenou s indikací adjuvantní chemoterapie, druhé rameno tvoří pacienti s nízkým rizikem metastazování dle obou metodik a tedy bez adjuvantní chemoterapie, třetí rameno, pacienti s rozdílným výsledkem u každé z metodik, jsou náhodně rozdělováni do předchozích dvou ramen. Studie v současnosti dospěla ke konci své počáteční „validační fáze“, která má retrospektivní charakter a měla sloužit pouze k potvrzení dobrých analytických vlastností genové sady také na jiných populacích než testovací. Při nezávislých validacích sice bylo dosaženo statistické významnosti, ale o více než polovinu nižší, než které bylo dosaženo při validaci dr. van't Veerovou. Nenaplněná očekávání „validační fáze“ byla interpretována různými způsoby, uvažovalo se o změně designu studie i o jejím případném pozastavení. Možnou interpretaci této diskrepance se mimo jiné zabýval právě biostatistický tým prof. Domanyho a příčinu nespokojivé reprodukovatelnosti výsledků nalezl v nedokonalém statistickém zpracování získaných expresních dat v původní práci dr. van't Veerové, která na souboru 96 pacientek identifikovala 5852 genů signifikantně rozdílných v expresi mezi skupinami s různou prognózou a 70 z nich s prognózou nejvíce korelujících použila pro konstrukci Kaplan-Meyerových křivek celkového přežití. (proč vybrala právě počet 70 genů není v práci diskutováno). Tato sada genů byla následně převzata do studie **MINDACT**. Prof. Domany zopakoval dříve provedenou analýzu dat a v různých krocích do ní zasahoval. Například vyloučení jednoho ze vzorků ze zkoumané skupiny pacientů znamenalo v rámci 5852 signifikantních genů úplné přeskládání jejich pozic z hlediska významnosti korelace s prognózou a 70 statisticky nejvýznamnějších tvoří

ly z 80% jiné geny. Prof. Domany vybíral napříč souborem 5852 signifikantních genu různé sady po 70 genech a vždy dospěl k podobně významným rozdílům v Kaplan-Meyerových křivkách celkového přežití. Tyto jevy lze vysvětlit například velkým množstvím vstupních dat nesouvisejících ze zkoumaným v našem případě metastatickým fenotypem. Prof. Domany vytvořil matematickou metodu schopnou určit počet vzorků potřebných do čipové studie, aby při její nezávislé validaci došlo alespoň k 50% průniku nalezených genových sad. Na základě této metody by u studie dr. van't Veerové bylo potřeba přibližně 2300 místo zařazených 96 pacientek. Je zřejmé, že validace nepřesně identifikované sady 70 genů na tisících pacientek takto ztrácí relevanci. Tato zjištění by v důsledku mohla a snad i zásadním způsobem ovlivnit design studie **MINDACT**. Její pokračování bez zohlednění výše uvedených skutečností by mohlo zásadním způsobem snížit význam předpokládaných výstupů z této vysoce nákladné a významné klinické studie.

Přednáškový blok věnovaný proteinovým čipům zahajoval dr. Pawlak, vedoucí skupiny proteinového profilování na Institutu přírodních a medicínských věd (NMI) pod Univerzitou v Tübingenu, přednáškou zaměřenou na **reverzně-fázové proteinové čipy**. Princip této technologie je založen na spotování vzorků (nikoli protilátek), a to ve čtyřech ředěních a duplikátech. Běžné je uspořádání pro 40 vzorků tzn. celkem 320 signálů z jednoho čipu. Pro představení, tato technologie umožní denně získat výsledky odpovídající přibližně deseti tisícům linií na Western-blotech s dvacetinásobně menší spotřebou materiálu při srovnatelných analytických vlastnostech. Reverzně-fázové proteinové čipy naleznou využití především v rozsáhlých studiích zaměřených například na validaci biomarkerů apod. NMI momentálně spolupracuje převážně s farmaceutickými společnostmi při screeningu působení léčiv na různé intracelulární signální dráhy speciálně různé druhy kináz. Přínos této technologie spočívá především v usnadnění a zpřesnění práce v rutinních laboratorních provozech zaměřených na kvantifikaci proteinů v biologických vzorcích.

Konference byla velkým přínosem k získání přehledu o vývoji dané technologie a jejím možném využití v našich podmínkách. Je logické, že po deseti letech vývoje čipových technologií jako takových a po dosažení správnosti a dobré reprodukovatelnosti měření, směřuje v současnosti jejich vývoj především k rutinním aplikacím v biomedicínském výzkumu a klinické diagnostice.

Zahraniční cesta byla podpořena grantem IGA MZ ČR NR/9076 - 4.

XLIII. DNY NUKLEÁRNÍ MEDICÍNY 2006 XLIII. DAYS OF NUCLEAR MEDICINE ZPRÁVA ZE SLUŽEBNÍ CESTY

ŘEHÁK Z.

MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV BRNO,
ODDĚLENÍ NUKLEÁRNÍ MEDICÍNY

Ve dnech 1. až 3. listopadu 2006 proběhly XLIII. Dny nukleární medicíny s mezinárodní účastí v Českých Budějovicích. Dny nukleární medicíny bývají každoročně klíčovým sympoziem pro nukleárněmedicínskou lékařskou odbornost. Nukleární medicína a onkologie nabývají stále těsnější spojení. Jedním z možných vysvětlení bude narůstající uplatnění pozitronové emisní tomografie (PET) a nověji i PET/CT diagnostiky v onkologické praxi.

Pozitronové emisní tomografii byla věnována celá 1 pracovní sekce. V úvodním sdělení byl shrnut vývoj PET diagnostiky i další vize. První PET kamera ještě s detektory BGO je v provozu od srpna 1999, v roce 2003 byla instalace další PET kamery již s detektory LSO a hybridní PET/CT kamery. Trendem je jednoznačně spojení s plnohodnotným CT do hybridního systému PET/CT. V době konání sympozia (listopad 2006) byly v České republice v provozu již 2 PET kamery a 3 hybridní PET/CT kamery ve 4 specializovaných PET centrech v Praze, Brně, Plzni a Olomouci a je tak vytvořen prostor pro dobrou dostupnost PET vyšetření v ČR. (Bělohávek, O. Rozvoj PET diagnostiky v ČR za posledních 7 let). Na vlastním souboru nemocných byla hod-

nocena role PET/CT vyšetření u nemocných s karcinomem neznámého původu (Fencel, P. *Diagnostická správnost a prognostická hodnota ¹⁸FDG- PET/CT vyšetření u nemocných s karcinomem neznámého původu. Analýza 190 nemocných*). Rovněž v případě detekce karcinomu pankreatu PET a zejména PET/CT umožňuje komplexněji charakterizovat případnou patologii i vyjádřit se k resektabilitě (Votrubová, J. *Význam PET a PET/CT v detekci karcinomu pankreatu*). Na druhou stranu ale PET v případě reziduálních retroperitoneálních infiltrátů u nemocných s germinativním tumorem varlat po chemoterapii nerozliší bezpečně teratom od nekroticko-fibrotického rezidua a je otázkou, zda tyto nemocné k PET vyšetření indikovat. (Řehák, Z. *¹⁸F-FDG PET jako prediktor viability reziduálního retroperitoneálního infiltrátu po chemoterapii u nemocných s germinativním tumorem varlat*). Ukazuje se, že kombinace hodnocení nativního CT a PET může prospět diferenciální diagnostice expanzí nadledvin (Nižňanská, V. *Význam FDG-PET/CT v diferenciální diagnostice tumorózně zvětšených nadobliček u onkologických pacientů*).

Druhá pracovní sekce byla věnována ostatním metodám nukleární medicíny v onkologii. Za zmínku stojí shrnutí zkušeností s ¹¹¹In oktreotidem v diagnostice karcinoidů a gastro-entero-pankreatických tumorů, kdy tento typ zobrazení má u těchto tumorů stále zcela nezpochybnitelnou pozici (Bernátek, J. *10 let zkušeností s preparátem ¹¹¹In-OctreoScan v diagnostice karcinoidů*) je možné. Upřesnění lokalizace neuroendokrinních tumorů za použití fúze SPECT/CT při vyšetření ¹¹¹In oktreotidem a ¹²³I-MIBG (Makaiová, I. *Prognostický význam multimodálního*

zobrazenia neuroendokrinných nádorov metódami nukleárnej medicíny). Mapování lymfatických uzlin u řady tumorů je stále předmětem mnoha studií např. u kolorektálního karcinomu (*Libus, P. Mapování lymfatických uzlin u ca kolorekta*), karcinomu prsu a celé řady dalších onkologických diagnóz. V případě karcinomu prsu je odborná diskuze vedena zejména o způsobu aplikace nanokoloidů - subdermální versus peritumorózní. Obě varianty jsou možné, ale mohou vést k zobrazení různých lymfatických cest. (*Koranda, P. Detekce sentinelových lymfatických uzlin u karcinomu prsu - peritumorózní nebo subdermální injekce?*). Rozdílný je i přístup k lymfoscintigrafii a vlastní operaci na různých pracovištích. Jednodenní protokol (lymfoscintigrafie i operace v 1 den) nabízí vyšší senzitivitu u nádorů T2 i u pozitivních uzlin, dvoudenním protokol se zdá být naopak senzitivnější u menších tumorů. (*Chromý, M. Sentinelová biopsie u karcinomu prsu - komparace aplikačních protokolů*). Možnost fúze SPECT/CT může upřesnit dnes již klasickou scintigrafii skeletu a přesně lokalizovat místo akumulace radiofarmaka (*Jarišková, M. Uplatnění metody off-line fúze SPECT skeletu s nativním low dose CT v diagnostice bolesti v dolní části zad*). Pro diagnostiku kostních metastáz se PET i scintigrafie skele-

tu považují za doplňující vyšetření pro vyšší senzitivitu PET k detekci osteolytických metastáz a naopak vyšší senzitivitu scintigrafie skeletu k osteoplastickým metastázám (*Makaiová I. Racionálne zaradenie ¹⁸FDG-PET do algoritmu vyšetřovacích metod nukleárnej medicíny v diagnostike kostných metastáz*). Rovněž trend k multimodálnímu zobrazování za použití fúze různých zobrazovacích metod SPECT/CT, PET/CT a PET/MRI je již zřejmý (*Bolčák, K. Multimodality imaging*) a je proveditelný za určitých podmínek i na pracovištích okresního typu (*Šimánek, M. Fúze obrazů SPECT a CT vyšetření v podmínkách okresní nemocnice*). S rozvojem off-line fúzí je třeba věnovat ale velkou pozornost formátu zdrojových dat zobrazovacích metod (*Bartl, J. Dicom modality worklist for PET system Siemens Ecat Accel, Bartl, J. Jak na chyby ve formátu DICOM u zdrojových modalit*). Řada dalších přednášek i posterů se pak ještě volně dotýkala onkologie. Další sekce sympozia se věnovaly neurologii, kardiologii, nefrologii, lékařské technice a fyzice i radiační hygieně. Přehled všech přednášek i posterů je uveden ve sborníku abstrakt. Lze předpokládat, že i nadále onkologická problematika bude důležitou součástí příštích Dnů nukleární medicíny.

ZÁPIS ZE SCHŮZE VÝBORU ČESKÉ ONKOLOGICKÉ SPOLEČNOSTI ČLS JEP, KONANÉHO VE FN BRNĚ - BOHUNICÍCH DNE 23. 1. 2007.

Přítomni: Vorlíček, Abrahámová, Vyzula, Fínek, Jelínková, Konopásek, Petera, Petruželka, Příbylová, Stankušová
Omluveni: Aschermannová, Cwierka, Eckschlager, Rob, Stáhalová.

Přítomni jako hosté byli náměstci ředitele FN Brno prim. MUDr. Ivo Burget a MUDr. Jaroslav Pepřla
Hostitelem byl MUDr. Igor Kiss, Ph.D. primář Oddělení klinické onkologie.

1. Prof. Vorlíček zahájil schůzi a uvítal všechny přítomné.
2. Primář MUDr. Kiss seznámil členy výboru se skladbou a činnostmi KOC FN Brno. Přítomné krátce pozdravili náměstci ředitele FN Brno prim. MUDr. Burget a MUDr. Pepřla.
3. Provedena kontrola zápisu z minulé schůze. Vše bylo splněno. Zůstávají však problémy s dětskou onkologií a s předepisováním protinádorových látek „off label“. Vše se stále řeší na Ministerstvu zdravotnictví.
4. Výbor se věnoval organizaci nadcházejících voleb do nového výboru ČOS. Byli navrženi členové volební komise: Dr. Šmakal - OLÚ Pleš, Dr. Příbylová - VFN, Dr. Jelínková - nemocnice Most, Dr. Bartoš - nemocnice Liberec, Dr. Kolářová - nemocnice Pardubice, Dr. Foldyna - FTN, Dr. Barkmanová - VFN, Dr. Petráková - MOÚ, Dr. Svoboda - FN Plzeň, Dr. Hessová - FN Bulovka.
Předsedkyní komise bude Dr. Příbylová, zástupkyní Dr. Jelínková.

Na Linkos by se měl vystavit kompletní seznam členů ČOS s udáním pracoviště. První kolo dvoukolových voleb bude v dubnu. Všem členům ČOS bude zaslán instruktážní dopis s upozorněním, kde najdou kompletní seznam členů ČOS, ze kterého mohou volit. Z těchto členů může každý hlasující navrhnout 15 jmen, které by rád viděl ve výboru ČOS. Dále každý hlasující navrhne 5 dalších jmen, které by rád viděl ve funkci členů revizní komise. Svůj návrh zašle na předtištěném orazítkovaném formuláři, který vloží do předtištěné zasláné obálky a zašle poštou na předtištěnou adresu, a to do určeného termínu. Rozhodující bude poštovní razítko na odeslané obálce. Komise vytvoří pořadník 20 navrhovaných s největším počtem hlasů, kteří budou kandidovat na členy výboru a dalších 5 na členy revizní komise. Z těchto, kteří postupují do druhého kola, budou voliči právě ve druhém kole volit jednak členy výboru a dále členy revizní komise. Konečný počet členů výboru bude 11 a konečný počet členů revizní komise bude 3. I ve druhém kole bude určen časový termín. Rozhodující bude opět razítko na obálce. V obou kolech bude voličům zaslán instruktážní dopis a seznam současných členů výboru i revizní komise. Druhé kolo voleb proběhne v květnu 2007.

Navržení členové volební komise předloží do příští schůze výboru přesný organizační plán voleb. Předsedkyně a místopředsdkyně volební komise bude kontaktovat

navržené členy volební komise a dotáže se na jejich souhlas.

5. Firma GlaxoSmithKline vyhlašuje grant pro mladé onkology na dvoutýdenní odbornou stáž v zahraničí podle svého výběru. Podporováno bude cca 5 onkologů. Návrhy nutno poslat do konce příštího týdne k rukám prof. Vorlíčka.
6. Pro časopis Remedia bude připraveno několik článků. Lékový profil léčiv Sunitinib a Sorafenib připraví doc. Petruželka, léčiva Lapatinib prof. Abrahámová a léčiva Dasatinib dr. Doubek.
7. Na 14. kongresu internistické společnosti vystoupí doc. Petruželka, doc. Fínek a dr. Šafanda s přednáškou s onkologickou tematikou.
8. Liga proti rakovině přistoupila k maximální podpoře Pařížské charty. Výbor ČOS se jednohlasně k této iniciativě připojuje.
9. Lékařská komora se dotazuje na čekací doby na různé výkony v onkologii. Čekací doby jsou indikátorem kvality péče. Čekací doby na ozařování zjistí SROBF. V rámci KOC/KOS jsme schopni sledovat čekací doby na radiodiagnostická vyšetření. Toto však náleží do ranku Radiologické společnosti. Čekání na hospic a na následnou symptomatickou léčbu by měla vyšetřit Společnost pro studium a léčbu bolesti. Sledování čekacích dob na operační chirurgický výkon náleží Chirurgické společnosti. Zjišťování čekacích dob na medikamentosní protinádorovou léčbu náleží ČOS, ale výbor konstatuje, že tyto doby jsou v rozsahu několika dnů a takoveto čekání nemůže onkologického pacienta v žádném případě poškodit. Zjišťování těchto čísel je nový a velmi náročný úkol, který není možno splnit bez jasných pravidel.
10. Výbor ČOS vítá velmi aktivní práci karcinoidové skupiny a přijímá nad touto skupinou odbornou garanci. Personální složení karcinoidové skupiny sdělí doc. Petruželka a náplň jejich činnosti bude uveřejněn na stránkách „linkosu“.
11. Dne 8.1. zemřel ve věku 94 let MUDr. RNDr. Archimiro Caha, CSc., který byl dlouholetým primářem nynějšího MOÚ. Čest jeho památce.
12. Dosud ustavená a příslušnou vyhláškou pojmenovaná KOC/KOS byla garantována ČOS a prošla jejím výběrovým řízením. Je třeba zveřejnit kritéria, podle kterých byla centra ustavována tak, aby mohlo být uznáno výběrové řízení na jejich vznik nebo podle těchto kritérií mohla proběhnout nová výběrová řízení na půdě Ministerstva zdravotnictví a tak byla stávající KOC/KOS zcela oficiálně potvrzena.
13. Výbor ČOS nominoval MUDr. R. Demlovou z MOÚ Brno a MUDr. P. Tesařovou, CSc. z Onkologické kliniky VFN Praha jako členky týmu pro onkologické přípravy na půdě SÚKL.
14. Dr. Příbylová informovala, že se zúčastnila jednání na Ministerstvu práce a soc. věcí. Šlo o konsultační jednání s ministrem o dopadu pokroku lékařské vědy na posuzování invalidity pro účely důchodového pojištění. Onkologické diagnózy jsou posuzovány většinou v souladu s nastavenými kritérii.
15. Byli přijati noví členové ČOS: Gombošová Jana - MOÚ, Matějů Martin - VFN, Ettler Karel - FN Hradec Králové, Pizinger - FN Plzeň.

16. Pacientská část našeho portálu Linkos se velmi rozrostla. Navržen propagační leták a malé vizitky určené pro pacienty na onkologických ambulancích. Tyto materiály upozorňují pacienty na informace Linkosu, které jsou právě jim určené. Členové výboru kvitují tento počín s uspokojením.
17. Výbor ČOS jednal o nové úhradové vyhlášce VZP, proti které má zásadní výhrady a bude usilovat o brzkou nápravu. Materiál k jednání je ve stádiu příprav.
18. Prof. Abrahámová informovala o stavu hlásivosti NOR za rok 2005. Uvedený rok nemůže být uzavřen

pro nedostatky v počtech hlášenek. Dohodnuto, že stav hlásivosti bude pravidelně publikován na portálu Linkos.

19. Výbor ČOS převzal záštitu nad kurzem akupunktury, pořádané v srpnu 2007 zaměřené na léčbu bolesti.

Příští schůze výboru ČOS bude 20.2. 2007 v Praze Motole v pavilonu dětské onkologie (bílá budova proti nemocnici na Homolce).

**Zapsala: prof. MUDr. Jitka Abrahámová, DrSc.
V Brně dne 23. 1. 2007**

ZÁPIS ZE SCHŮZE VÝBORU ČESKÉ ONKOLOGICKÉ SPOLEČNOSTI KONANÉ DNE 20. 2. 2007 V PRAZE VE FN MOTOL

Hostitelem byl prof. MUDr. T. Eckschlager, CSc.

Přítomni: Vorlíček, Abrahámová, Vyzula, Aschermannová, Jelínková, Eckschlager, Stáhalová, Konopásek, Petruželka, Petera, Příbylová, Stankušová, Cwierka
Omluveni: Fínek, Rob.

1. Schůzi zahájil Prof. Vorlíček přivítáním přítomných a kontrolou zápisu z minulé schůze.
Odezva na stipendium pro mladé onkology vypsáné firmou Glaxo SmithKline byla velká. Přihlášky odeslal Prof. Vorlíček sponzorovi.
2. Velká pozornost byla věnována nadcházejícím volbám do výboru ČOS. Předsdkyně volební komise Dr. Příbylová kontaktovala všechny navržené členy volební komise, všichni s členstvím a prací v této komisi souhlasili. Dr. Foldyna, původně navržený za člena komise, nebyl v době jmenování dosud členem ČOS, proto byl nahrazen Dr. Švebišovou z Olomouce.
Volební lístek prvního kola bude opatřen hlavičkou ČOS a barevným razítkem. Všem členům společnosti bude poslán tento první volební lístek sekretářkou ČOS paní Caskovou, a to nejpozději do 26.3.07. Revizní komise bude zvolena v počtu 3, výbor v počtu 11.
I druhé volební kolo bude provedeno papírovou formou.
Doprovodný dopis k prvnímu i druhému volebnímu kolu bude zveřejněn na portálu Linkos, kde je uveden i seznam všech členů ČOS.
3. Nadchází doba hodnocení činnosti odstupujícího výboru ČOS.
Každý člen výboru zašle Prof. Vorlíčkovi během 2 týdnů informace o tom, co si myslí o činnosti výboru a o tom, co se vše podle jeho názoru během volebního období udělalo. Tato zpráva musí být odeslána nejpozději do 2.3.07.
4. Každý člen výboru může na portál Linkos napsat o svém vlastním přínosu pro činnost výboru ČOS, o splnění či nesplnění svých představ a cílů během funkčního období, eventuálně popsat své budoucí cíle v případě, že bude opět zvolen.

5. Diskutován dopis Dr. Horákovi, řediteli VZP, který zkoncipoval prof. Vorlíček a všem členům výboru předposlal. Text dopisu byl schválen. Tento dopis se týká financování péče o onkologické pacienty v Komplexních onkologických centrech a skupinách a reaguje na návrh zvláštních smluv, které nedávno obdržela zdravotnická zařízení. V dopise je uvedeno, které body smlouvy požaduje ČOS změnit.

Dopis byl po schválení ihned odeslán. K tématům obsaženým v dopise budou zástupci ČOS diskutovat s Dr. Horákem na schůzce, která byla svolána na 26.2. v 9.30 v Brně. Za výbor ČOS se zúčastní prof. Vorlíček, prof. Vyzula a prof. Abrahámová.

Dohodnuto, že text zmíněného dopisu bude zaslán i všem vedoucím KOC/KOS.

Členové výboru-radioterapeuti připomínají, že při jednání je třeba zmínit i uchování bodových hodnot pro radioterapii. Velmi vehementně se bude o tento problém zajímat výbor SROBF. Předseda SROBF Dr. Petera přislíbil napsat Dr. Horákovi vlastní dopis.

6. Publikace Zásady cytostatické léčby, kde jsou obsaženy naše léčebné „guidelines“, bude vydávána pravidelně každý rok. Jako zvláštní kapitola budou zařazena i pravidla pro podávání růstových faktorů a další kapitoly budou zásady antiemetické léčby. V těchto zásadách se budeme držet evropských norem. Evropské normy pro užití antiemetik obstará prof. Vorlíček, normy pro růstové faktory doc. Petruželka.
Pojednání o užití antibiotik v onkologii bude zařazeno až do příštího vydání, neboť příprava bude velmi pracná a zodpovědná. Uvedené změny při vydávání pojednané publikace byly schváleny všemi členy výboru.
7. Mgr. Šíroky, redaktor zdravotnických novin, vyzval výbor k napsání odborných článků do přílohy ZN Lékařských listů. Tento návrh vítáme. Některé KOC/KOS chtějí tento prostor využít k vlastní prezentaci. K účasti na publikacích se již přihlásily KOC České Budějovice a KOC Brno, nemocnice U sv. Anny. Organizačně si bere tento problém na starost doc. Konopásek. Článek je třeba napsat do konce března.
8. Prof. Vorlíček informoval o dopise Klubu skeptiků Sysifos, kteří žádají o posouzení praktik alternativní medicíny a dále požadují omezení propagace i praktikování nebezpečných metod alternativní medicíny. Dopis předán k vyřízení revizní komisi.

9. Diskutován edukační program EUNI. Výbor se rozhodl, že tento program bude podporován na stránkách Linkos.
10. Česká společnost pro sexuální medicínu žádá o spolupráci na projektu v rámci Evropské společnosti téhož zaměření. Vzato na vědomí.
11. Mezi některými onkology jsou snahy o založení Společnosti pro výzkum zhoubných nádorů. Výbor konstatuje, že je již založena Sekce prediktivní a diagnostické onkologie. Pokud by tato společnost vznikla, pak ČOS má zájem o úzkou spolupráci.
Dopis Doc. Hajdúcha, týkající se založení výše uvedené společnosti, bere výbor na vědomí.
12. Byli přijati tito noví členové ČOS: Dr. Foldyna, FTN, Dr. Novák, MÚ, Dr. Sirák, Hr. Králové, Dr. Hajduk, Prostějov.
13. Dne 1.3.07 bude výborem ČOS svolána tisková konference. Zveřejněna a diskutována budou tato témata: 1) výsledky jednání ČOS s VZP, 2) zřízení internetových stránek pro pacienty, které jsou umístěny na portálu Linkos, 3) činnost a význam KOC/KOS a jejich úzká spolupráce s periferními onkology a onkologickými ordinacemi.
Na tiskovou konferenci budou pozváni vedoucí KOC/KOS. Před konferencí bude vydána tisková zpráva, která bude odeslána všem zainteresovaným v úterý 27. 2. 07.
14. Prof. Abrahámová informovala o schůzi Rady NOR, z jejíhož zasedání dostali všichni zápis.

Je logické, že se rozvolňuje původní struktura NOR a vydělují se NOR z velkých celků tak, aby velké nemocnice měly vlastní NOR. Jedině tak budou moci kontrolovat činnost příslušných NOR. Takto se osamostatnil NOR Pardubice, NOR Zlín a NOR Vysočina.. Zatím se nepodařilo osamostatnění NOR ve FN Bulovka a jeho uvolnění ze svazku regionálního NOR pro Hl. m. Prahu. Všichni členové výboru ČOS osamostatnění NOR ve FN Bulovka podporují. Prof. Abrahámová zkoncipuje dopis pro náměstkyni Hellerovou se žádostí o toto osamostatnění.

15. Prim MUDr. Stáhalová informovala o rizikových příplatcích vyplácených v prostředí s chemickými kancerogeny, kterými jsou také cytostatika. FNB si vyžádala nezávislý právní posudek, ze kterého vyplývá, že novým zákoníkem práce ani novým nařízením vlády nedošlo v tomto k žádné změně. Cytostatika jsou nadále považována za chemické kancerogeny, a tudíž nárok na přiznání statutu rizikového pracoviště, a tím i příplatku, trvá. Ministerstvo zdravotnictví si vyžádalo rovněž právní stanovisko a konečný názor bude po zítřejším zasedání na MZ sdělen všem zdravotnickým zařízením.

Příští schůze výboru ČOS bude 3.4. 2007 v Brně na MOÚ.
Zapsala prof. MUDr. Jitka Abrahámová, DrSc.
V Praze dne 20.2.2007

výzva redakce

Časopis Klinická onkologie je nepřetržitě vydáván již od roku 1988. Přináší originální práce, epidemiologické studie, přehledové práce, kasuistiky a různá sdělení od českých a slovenských autorů z oblasti onkologie. Cílem redakční rady je zvýšit citovanost časopisu, a proto si Vás dovoluujeme upozornit na existenci stále se rozšiřujícího archivu časopisu, který naleznete na internetových stránkách České onkologické společnosti v sekci „Celoživotní vzdělání“ (www.linkos.cz/vzdelavani/klin_onko.php). **Chceme Vás požádat, abyste při psaní Vašich publikací do českých a zejména zahraničních odborných časopisů mysleli na bohatý informační zdroj, za který časopis Klinická onkologie v našich podmínkách považujeme.**

Za spolupráci děkují členové Redakční rady a redaktori Klinické onkologie.