

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 (print)
ISSN 1802-5307 (online)

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	
Coufal O.	
Biopsie sentinelové uzliny u multifokálních a multicentrických karcinomů prsu	283
Nováková V., Keprtová P.	
Význam biopsie sentinelové lymfatické uzliny u dlaždicobuněčných karcinomů v oblasti hlavy a krku	287
Původní práce	
Janoutová G., Kollárová H., Horáková D., Čížek L., Reif R., Starczewski J., Janout V.,	
Rizikové faktory výživy u karcinomu ledvin	294
Michálek J., Matějková E., Smejkalová J., Vidláková P., Stejskalová A., Kocák I., Fait V.	
Využití tumor infiltrujících lymfocytů u pacientů s metastazujícím melanomem	298
Vášová I., Boudová L., Trněný M., Pirnos J., Belada D., Jankovská M., Minaříková D., Fakan F., Fabián P.,	
Hes O., Černá K., Čuřík R., Campr V., Homouzová M.	
Primární testikulární lymfom, klinickopatologická multicentrická retrospektivní studie a data registru	
Kooperativní lymfomové skupiny (KLS)	302
Kazuistika	
Jurga L., Švábová V., Cingelová S., Vereš P., Plomba J.	
Metastatický ekkrinný porokarcinóm	307
Sdělení	
Frgala T., Dubská L., Reynolds C.P.	
Retinoidy v léčbě neuroblastomu	311
Zprávy	
Němec J.	
7. Mezinárodní kongres jednodenní chirurgie	314
Informace	
- Bratislavské onkologické dni	315
- XIII. brněnský den paliativní medicíny	319
- Jubilant	320
Onkologické společnosti	316

CONTENTS

4 / 2007

Review	
Coufal O.	
Sentinel node biopsy in multifocal and multicentric breast cancer	283
Nováková V., Keprtová P.	
The implications of sentinel lymph node biopsy in head and neck squamous cell carcinoma	287
Original publication	
Janoutová G., Kollárová H., Horáková D., Čížek L., Reif R., Starczewski J., Janout V.,	
Nutritional risk factors for kidney cancer	294
Michálek J., Matějková E., Smejkalová J., Vidláková P., Stejskalová A., Kocák I., Fait V.	
Tumor infiltrating lymphocytes in patients with metastatic melanoma	298
Vášová I., Boudová L., Trněný M., Pirnos J., Belada D., Jankovská M., Minaříková D., Fakan F., Fabián P.,	
Hes O., Černá K., Čuřík R., Campr V., Homouzová M.	
Primary testicular lymphoma: a clinicopathologic multicentric study and data from registry	
of the Czech Lymphoma Study Group (CLSG)	302
Case Report	
Jurga L., Švábová V., Cingelová S., Vereš P., Plomba J.	
Metastatic eccrine porocarcinoma	307
Communication	
Frgala T., Dubská L., Reynolds C.P.	
Retinoids in therapy of neuroblastoma	311
Report	
Němec J.	
7th International Congress on Ambulatory Surgery	314
Information	
- Bratislava Oncology Days	315
- 13th Annual Palliative Medicine Day in Brno	319
- Honoree	320
Oncological Associations	316

BIOPSIE SENTINELOVÉ UZLINY U MULTIFOKÁLNÍCH A MULTICENTRICKÝCH KARCINOMŮ PRSU

SENTINEL NODE BIOPSY IN MULTIFOCAL AND MULTICENTRIC BREAST CANCER

COUFAL O.

MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV, ODDĚLENÍ CHIRURGICKÉ ONKOLOGIE

Souhrn

Biopsie sentinelové uzliny je již řadu let standardním chirurgickým postupem u unicentrických karcinomů prsu. Metoda byla do praxe zavedena na základě výsledků validačních studií publikovaných v minulé dekádě. Hlavní kritérium, falešná negativita, se v nich pohybovala pod 10 %. Sentinelová biopsie má své kontraindikace, mezi nimiž bývala uváděna i multifokalita či multicentricita primárního nádoru. Zdůvodnění vycházelo z domněnky, že různé oblasti prsu jsou drenovány do různých lymfatických uzlin. Zobrazovací studie však prokazují, že ve více než 90 % případů tvoří prs jedno lymfatické povodí s jedinou sentinelovou uzlinou, případně skupinou několika stejných sentinelových uzlin. Tomuto faktu odpovídají výsledky novějších klinických studií, v nichž falešná negativita sentinelové uzliny u multifokálních a multicentrických karcinomů není vyšší než u nádorů unicentrických. Biopsie sentinelové uzliny tak může být považována za chirurgicky adekvátní zákrok na regionálních mízních uzlinách i u multifokálních a multicentrických mamárních karcinomů.

Klíčová slova: karcinom prsu + staging – biopsie sentinelové uzliny, multifokalita, multicentricita.

Summary

The sentinel lymph node biopsy has been the standard procedure in unicentric breast cancer for several years. The method was adopted following validation studies performed in the last decade. In these studies the false negativity rate reached up to 10%. Initially, multifocality or multicentricity of the primary tumor had been considered a contraindication of the sentinel node biopsy. The reasoning was based on the assumption of different lymphatic drainage (with different sentinel lymph nodes) for different areas of the breast. However, lymphoscintigraphic studies showed that the whole breast represents a singular lymphatic unit with one (or a group of several) sentinel lymph node(s) in more than 90% of cases. This corresponds with results of recent studies in multifocal and/or multicentric cancer in which the false negativity rate is not higher than in unicentric cancers. Sentinel lymph node biopsy can be regarded as a standard surgical procedure in regional lymph nodes in multifocal and multicentric breast cancer.

Key words: breast cancer, staging, – sentinel lymph node biopsy, multifocal, multicentric.

Klasické pojetí sentinelové biopsie

Biopsie sentinelové uzliny (SNB) je již řadu let považována za standardní chirurgický postup u unicentrických karcinomů prsu, tj. pokud se v prsu nachází pouze jedno nádorové ložisko. Metoda vychází z předpokladu postupného lymfatického šíření nádorových buněk ve směru fyziologického odtoku lymfy. Lymfatické metastázy vznikají nejprve v uzlině (uzlinách), do nichž bezprostředně ústí lymfatické cévy drenující oblast primárního nádoru. Je-li první (sentinelová) uzlina negativní, je pravděpodobnost nádorového postižení ostatních uzlin v axile minimální. Pacientky s negativní sentinelovou uzlinou (SN) tak mohou být ušetřeny axilární disekce a s ní spojené morbidita. Další výhodou je možnost cíleného podrobnějšího histopatologického vyšetření sentinelové uzliny, které může zpřesnit stagingové vyšetření. U některých nádorů prsu však sentinelová biopsie není vhodná a doporučuje se primární disekce axily.

Tradičně uváděné kontraindikace biopsie sentinelové uzliny zahrnují:

- klinické nebo paraklinické známky axilární nádorové lymfadenopatie,
- objemný primární nádor (podle různých autorů nádory větší než 3, resp. 5 cm),
- předchozí chirurgický zákrok v oblasti prsu nebo axilárních lymfatických uzlin,
- předchozí aplikaci neoadjuvantní terapie,
- multifokalitu (MF) či multicentricitu (MC) primárního nádoru.

Multifokalita a multicentricita byla považována za kontraindikaci sentinelové biopsie od samého počátku zavádění metody SNB do praxe. V roce 1997 publikoval Veronesi výsledky dosažené na souboru 163 žen, kdy ve 4 případech byla sentinelová uzlina falešně negativní. Dvakrát se přitom jednalo o multifokální nádor. Podle tehdejších závěrů mohla být falešná negativita sentinelové

uzliny snížena, pokud budou vyloučeny multifokální karcinomy [1].

S postupem času se objevují práce, jejichž výsledky posouvají tu či onu dříve absolutní kontraindikaci do, přinejmenším, relativní podoby. Cílem našeho sdělení je podat přehled o literárních poznatcích které ukazují, že multifokalita nebo multicentricita primárního nádoru kontraindikaci biopsie sentinelové uzliny u karcinomu prsu nepředstavuje.

Multifokalita (MF) a multicentricita (MC) karcinomu prsu

Multifokalita podle běžné definice představuje 2 nebo více nádorových ložisek lokalizovaných v tomtéž kvadrantu prsu. Multicentrické nádory jsou ty, kde nádorová ložiska jsou umístěna v různých kvadrantech. Nutno vzít v úvahu, že pojem „kvadrant“ je spíše diagnosticko-popisný a neodpovídá anatomické stavbě prsní žlázy. Mezi kvadranty nejsou, jak známo, přítomny žádné anatomické bariérové struktury. Proto některé definice berou v úvahu spíše maximální vzdálenost mezi ložisky, kdy hranice mezi multifokalitou a multicentricitou bývá udávána mezi 2 a 5 cm. Ani takové vymezení však nemá anatomický korelát. Je tedy možné zjednodušit, že u multifokálních nádorů jsou nádorová ložiska umístěna blízko sebe, zatímco u multicentrických jsou od sebe daleko. Podíl žen s primárně diagnostikovaným multifokálním či multicentrickým karcinomem prsu závisí na cílové populaci a kvalitě diagnostických vyšetření a pohybuje se mezi 13 – 65 % [2].

Dříve zdůrazňovaným důvodem kontraindikace sentinelové biopsie u MF/MC nádorů je obava, že lymfa odtéká z různých oblastí prsu odlišnými lymfatickými cestami. Se vzrůstající vzájemnou vzdáleností primárních ložisek by pak narůstala pravděpodobnost, že sentinelová uzlina pro jedno ložisko nebude totožná se sentinelovou uzlinou pro druhé ložisko, což zvýší riziko falešné negativity SN. Zatímco multifokalita (kdy jsou nádory u sebe blízko) byla považována pouze za relativní kontraindikaci SNB, multicentricita byla často prohlašována za kontraindikaci absolutní.

V roce 2002 však autoři z Memorial Sloan-Kettering Cancer Center (MSKCC) publikovali několik kazuistik podporujících fungující koncept sentinelové uzliny u multicentrických karcinomů [3]. Důležitá je otázka, jakými cestami a přes které uzliny lymfa z prsu skutečně odtéká. V oblasti funkční anatomie lymfatického systému přetrvávají i dnes některé nejasnosti, praktický rozvoj sentinelové biopsie v posledních letech však vedl k urychlení vývoje poznání.

Mama jako jedno lymfatické plovodí

Lokalizace sentinelové uzliny se v praxi určuje lymfoscintigrafií pomocí radioaktivně značeného koloidu, případně aplikací modrého barviva (patentní modř). Výhodná je současná kombinace obou metod, která úspěšnost záchytu sentinelové uzliny zvyšuje [4, 5].

Podle dřívějších názorů měl být indikátor (radiokoloid nebo barvivo) aplikován co nejbližší k primárnímu nádoru, aby přesně ukázal směr odtoku, resp. sentinelovou uzlinou pro danou oblast prsu. Injekce se tedy dávala intraparenchymatózně, tj. do prsní žlázy k nádoru, případně intradermálně do místa projekce nádoru na kůži [6, 7].

V roce 2006 publikovali italští autoři práci o sentinelových biopsiích u multifokálních a multicentrických karcinomů. U jedné skupiny pacientů aplikovali radiokoloid intradermálně do dvou míst odpovídajících projekci dvou největších nádorových ložisek a lymfoscintigraficky sledovali směr lymfatického odtoku. Byť byly nádory umístěny v různých kvadrantech prsu, v naprosté většině případů odtékala lymfa z obou ložisek do zevního horního kvadrantu. Tam došlo ke spojení duktů a lymfa dále proudila společně do jedné nebo více sentinelových uzlin. Dvě rozdílné cesty odtoku s rozdílnými sentinelovými uzlinami byly nalezeny pouze v jednom případě (6,7 %) [8].

Rada autorů již dříve prokázala, že indikátor je možno aplikovat subareolárně, do místa bohaté sítě lymfatických cév (Sappeyho plexus). Taková aplikace vede v naprosté většině případů (>90 %) k identifikaci sentinelové uzliny shodné se sentinelovou uzlinou pro nádory umístěné v různých místech prsu [9 - 11]. Subareolární aplikace je výhodná i z toho důvodu, že zpravidla vykazuje vyšší úspěšnost záchytu sentinelové uzliny než injekce subdermální mimo areolu, nebo dokonce injekce intraparenchymatózní [10]. Celý prs tak představuje u většiny žen jedno lymfatické plovodí, tzn. lymfa z celého prsu odtéká do stejné lymfatické uzliny, eventuálně do několika stejných lymfatických uzlin [12 - 14]. Tato lymfatická uzlina (uzliny) je pak reprezentativní sentinelovou uzlinou pro nádor umístěný v jakémkoli místě prsu a tedy i pro několik nádorů, bez ohledu na jejich lokalizaci.

Klinické studie u MF a MC karcinomů

Pokud by skutečně prs představoval jedno lymfatické plovodí s jedinou sentinelovou uzlinou, případně skupinou několika lymfatických uzlin, pak by metoda sentinelové biopsie byla klinicky adekvátní u multifokálních i multicentrických karcinomů. Nejvýhodnějším místem aplikace indikátoru by byla subareolární oblast, protože – jak bylo uvedeno – při této aplikaci je nejvyšší úspěšnost identifikace sentinelové uzliny. Spíše než teoretické úvahy je však důležité, zda metoda SNB u multicentrických karcinomů funguje i v praxi. Klinickým kritériem použitelnosti metody je především přesnost a falešná negativita.

- *Přesnost (accuracy)* je procentuální podíl případů, kdy stav sentinelové uzliny (pozitivní / negativní) odráží celkový stav všech odstraněných regionálních uzlin. Ve validačních studiích se disekce axily provádí u všech pacientek bez ohledu na stav sentinelové uzliny.
- *Falešná negativita (false negative rate)* – je procentuální podíl případů s nalezenými metastázami v uzlinách z disekce, kdy však sentinelová uzlina byla negativní. Odhlédneme-li od možného kurativního významu disekce axily [15, 16], důsledkem falešné negativity SN v praxi je nesprávné zařazení onemocnění do nižšího stádia (understaging) s rizikem nepodání adekvátní adjuvantní terapie.

Sentinelová biopsie byla všeobecně přijata jako standardní metoda na základě řady validačních klinických studií publikovaných v devadesátých letech minulého století. Falešná negativita závisela na způsobu identifikace sentinelové uzliny (použitý indikátor a místo aplikace) a pohybovala se mezi 6,4 % (dermální nebo subdermální aplikace radiokoloidu) a 9,3 % (použití pouze modrého barviva) [1, 17 - 26]. Jak bylo již výše uvedeno, zpočátku byly studie o sentinelových biopsiích zaměřeny spíše na menší a unicentrické karcinomy.

Od roku 1999 začali různí autoři publikovat výsledky SNB u karcinomů multifokálních a multicentrických. Pilotní práce sice dosahovaly nulové falešné negativity, nicméně soubory pacientů byly příliš malé pro závazné závěry (do 20 pacientů) [27, 28]. Výsledky jedné prospektivní studie z roku 2002 vyzněly pro změnu poněkud skepticky, protože falešná negativita SN u multifokálních karcinomů v ní dosáhla celých 33 % [29]. Tento vysoký podíl však můžeme připsat metodě identifikace, kdy autoři používali pouze modré barvivo aplikované intraparenchymatózně.

V návaznosti na dříve zveřejněné kazuistiky publikovala skupina autorů z MSKCC roku 2003 výsledky cílené systematické retrospektivní studie. Studie byla provedena již na větším souboru pacientů a renomovanost pracoviště dává předpoklad důvěryhodnosti výsledků. Podle protokolu v MSKCC je SN identifikována pomocí kombinace modrého barviva a radiokoloidu. Vzhledem k vývoji metodiky během studie nebyla místa aplikace jednotná, u většiny pacientek však aplikovali radiokoloid intradermálně do místa projekce největšího z nádorů a modré barvivo intraparenchymatózně supero-laterálně od největšího ložiska. Při několika nádorech stejné velikosti byl indikátor aplikován k ložisku nejbližší axily. Do studie bylo zahrnuto 70 pacientů (26 multifokálních nádorů, 44 multicentrických nádorů), u nichž na biopsii sentinelové uzliny navazovala „validační“ disekce axily s celkovým minimálním počtem 10 odstraněných a vyšetřených regionálních uzlin.

Celková incidence axilárních metastáz byla 54 % (38 pacientek ze 70). Přesnost metody byla 96 %, tj. v 67 ze 70 případů odrážel stav sentinelové uzliny (pozitivní / negativní) stav axily jako celku. Falešná negativita byla 8 % (3 z 38). Statistickým hodnocením nebyl zjištěn významný rozdíl mezi skupinou multifokálních a skupinou multicentrických karcinomů. 3 falešně negativní případy zahrnovaly 2 nádory větší než 5 cm, kdy jedna z pacientek měla peroperačně hmatné suspektní uzliny v axile. Ve třetím případě šlo o extenzivní špatně diferencovaný nádor postihující oba zevní kvadranty prsu, jehož největší rozměr bylo obtížné stanovit.

Hodnoty přesnosti ani falešné negativy se statisticky významně nelišily od výsledků dříve provedených validačních studií u unicentrických karcinomů! Autoři uzavírají, že metoda sentinelové biopsie je adekvátní u MF i MC nádorů, pokud budou vyloučeny pacientky s primárními tumory většími než 5 cm (T3), nebo s peroperačně hmatnými klinicky suspektními uzlinami v axile. K rutinnímu zavedení do praxe autoři doporučili vyčkat výsledků dalších klinických studií. [30]

Od zmíněné doby jsou k dispozici výsledky nejméně dvou multicentrických studií, které příznivé výsledky potvrzují a udávají falešnou negativitu podobnou validačním studiím na unicentrických karcinomech. V publikaci autorů Goyal et al. z roku 2004 (75 pacientů) je falešná negativita u multifokálních nádorů 8,8 % [31], v publikaci autorů Knauer et al. z roku 2006 (142 pacientů) je falešná negativita u multicentrických karcinomů 4 % [32]. Posledně jmenovaná práce byla koncipována jako multiinstitucionální validační studie a její závěry pro nový standard vyznívají jednoznačně pro přijetí metody sentinelové biopsie jako standardu i u multicentrických a multifokálních karcinomů prsu.

Diskuse, závěr

Navzdory narůstajícímu poznání o charakteru lymfatického šíření karcinomů prsu není kapitola biopsie sentinelových uzlin ani dnes uzavřena. Je zřejmé, že z opatrných začátků v devadesátých letech zatížených řadou absolutních či relativních kontraindikací, jsme se posunuli o kus dále. To však neznamená, že sentinelovou uzlinu může provádět každý, jakkoli a u všech mamárních karcinomů. Předpokladem zůstává specializované pracoviště a chirurgové s dostatkem erudice v dané oblasti (learning-curve). Nezbytné je zázemí v podobě kvalitní diagnostiky včetně možnosti kombinace modrého barviva s lyfoscintigrafií. Zatím je věcí názoru, které místo aplikace volit. Zdá se, že pouhá intraparenchymatózní (peritumorální) aplikace indikátoru není dostatečná. Přesnost metody patrně limituje vzrůstající velikost primárního nádoru a peroperačně je na místě pečlivá palpce ostatních non-sentinelových axilárních uzlin s jejich eventuální exstirpací. Samozřejmostí je kvalitní histopatologické vyšetření včetně imunohistochemických metod.

Kontroverzní oblasti sentinelových biopsií dnes zahrnují problematiku klinického významu mikrometastáz a izolovaných nádorových buněk [33, 34], parasternálních lymfatických uzlin v povodí a. thoracica interna (internal mammary artery, IMA) [35, 36], použití metody u lokálně rekurentních karcinomů [37] po dříve provedeném chirurgickém zákroku na prsu či axilárních uzlinách [38], nebo po předchozí aplikaci neoadjuvantní terapie [39]. Řada dnešních otázek bude nepochybně v příštích letech zodpovězena, ale nově se zase objeví.

V tuto chvíli můžeme konstatovat, že sentinelová biopsie je klinicky adekvátním zákrokem na regionálních mizních uzlinách nejen u unicentrických, ale rovněž u multifokálních či multicentrických mamárních karcinomů.

Literatura

- Veronesi U., Paganelli G., Galimberti V. et al.: Sentinel-node biopsy to avoid axillary dissection in breast cancer with clinically negative lymph nodes. *Lancet* 1997, 3349: 1864-1867.
- Vlastos G, Rubio IT, Mirza NQ, et al. Impact of multicentricity on clinical outcome in patients with T1-2, N0-1, M0 breast cancer. *Ann Surg Oncol* 2000;7:581-587.
- Kim JH, Heerdt AS, Cody HS et al: Sentinel lymph node drainage in multicentric breast cancer. *Breast J* 2002, 8:356-361.

- Cody HS 3rd, Fey J, Akhurst T, et al. Complementarity of blue dye and isotope in sentinel node localization for breast cancer: univariate and multivariate analysis of 966 procedures. *Ann Surg Oncol*. 2001;8(1):13–9.
- Radovanovic Z, Golubovic A, Plzak A, et al. Blue dye versus combined blue dye-radioactive tracer technique in detection of sentinel lymph node in breast cancer. *Eur J Surg Oncol* 2004, 30(9), 913-7.
- Borgstein PJ, Meijer S, Pijpers R. Intradermal blue dye to identify the sentinel lymph node in breast cancer. *Lancet* 1997, 349:1668-1669.
- McMasters KM, Wong LS, Martin RC 2nd et al: Dermal Injection of

- radioactive colloid is superior to peritumoral injection for breast cancer sentinel lymph node biopsy: results of a multiinstitutional study. *Ann Surg* 2001; 233:676-687.
8. Ferrari A, Dionigi P, Rovera F. Multifocality and multicentricity are not contraindications for sentinel lymph node biopsy in breast cancer surgery. *World Journal of Surgical Oncology* 2006; 4:79
 9. Klimberg VS, Rubio IT, Henry R, et al. Subareolar versus peritumoral injection for location of sentinel lymph node. *Ann Surg* 1999; 229:860-864.
 10. Tuttle TM, Colbert M, Christensen R, et al. Subareolar injection of 99mTc facilitates sentinel lymph node identification. *Ann Surg Oncol* 2002; 9:77-81.
 11. Bauer TW, Spitz FR, Callans LS et al. Subareolar and peritumoral injection identify similar sentinel nodes for breast cancer. *Ann Surg Oncol* 2002; 9:169-176.
 12. Borgstein P, Meijer S, Pijpers R, et al. Functional Lymphatic anatomy for sentinel node biopsy in breast cancer. Echoes from the past and the periareolar blue method. *Ann Surg* 2000; 232:81-89.
 13. Chao C, Wong SL, Woo C, et al. Reliable lymphatic drainage to axillary sentinel lymph nodes regardless of tumor location within the breast. *Am J Surg*, 2001;182:307-311.
 14. Zavagno G, Rubello D, Franchini Z, et al. Axillary sentinel lymph nodes in breast cancer: a single lymphatic pathway drains the entire mammary gland. *Eur J Surg Oncol* 2005; 31: 479-484.
 15. Orr RK. The impact of prophylactic axillary node dissection on breast cancer survival: a Bayesian meta-analysis. *Ann Surg Oncol* 1999; 6: 109 – 116.
 16. Sosa JA, Diener-West M, Gusey Y, et al. Association between extent of axillary lymph node dissection and survival in patients with stage I breast cancer. *Ann Surg Oncol* 1998; 5: 140 – 149.
 17. Roumen RMH, Valkenburg JGM, Geuskens LM. Lymphoscintigraphy and feasibility of sentinel node biopsy in 83 patients with primary breast cancer. *Eur J Surg Oncol* 1997; 23: 495 – 502.
 18. Giuliano AE, Jones RC, Brennan MB, et al. Sentinel lymphadenectomy in breast cancer. *J Clin Oncol* 1997; 15: 2345 – 2350.
 19. Flett MM, Going JJ, Stanton PD, et al. Sentinel node localization in patients with breast cancer. *Br J Surg* 1998; 85: 991 – 992.
 20. Krag D, Weaver D, Ashikaga T, et al. The sentinel lymph node in breast cancer: a multicenter validation study. *N Engl J Med* 1998;339:941 – 946.
 21. O_Hea BJ, Hill ADK, El-Shirbiny AM, et al. Sentinel lymph node biopsy in breast cancer: initial experience at Memorial Sloan-Kettering Cancer Center. *J Am Coll Surg* 1998; 186:423 – 427.
 22. Borgstein PJ, Pijpers R, comans EF, et al. Sentinel lymph node biopsy in breast cancer. Guidelines and pitfalls of lymphoscintigraphy and gamma probe detection. *J Am Coll Surg* 1998; 186: 275 – 283.
 23. Veronesi U, Paganelli G, Viale G, et al. Sentinel lymph node biopsy and axillary dissection in breast cancer: results in a large series. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91: 368 – 373.
 24. Morrow M, Rademaker AW, Bethke KP, et al. Learning sentinel node biopsy: results of a prospective randomized trial of two techniques. *Surgery* 1999; 126: 714 – 722.
 25. McMasters KM, Wong SL, Martin RC 2nd et al. University of Louisville Breast Cancer Study Group. Dermal injection of radioactive colloid is superior to peritumoral injection for breast cancer sentinel lymph node biopsy: results of a multiinstitutional study. *Ann Surg* 2001;233: 676 – 687.
 26. Tafta L, Lannin DR, Swanson MS, et al. Multicenter trial of sentinel node biopsy for breast cancer using both technetium sulfur colloid and isosulfan blue dye. *Ann Surg* 2001; 233: 51 – 59.
 27. Mertz L, Mathelin C, Marin C, et al. Subareolar Injection of 99m-Tc sulfur colloid for sentinel nodes identification in multifocal invasive breast cancer. *Bull Cancer* 1999, 86:939-945.
 28. Schrenk P, Wayand W: Sentinel-node biopsy in axillary lymph-node staging for patients with multicentric breast cancer. *Lancet* 2001, 357:122.
 29. Ozmen V, Muslumanoglu M, Cabioglu N, et al. Increased false negative rates in sentinel lymph node biopsies in patients with multi-focal breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2002. 76:237-244.
 30. Tousimis E, Van Zee K, Fey JV, et al. The Accuracy of Sentinel Lymph Node Biopsy in Multicentric and Multifocal Invasive Breast Cancers. *J Am Coll Surg*, Vol. 197, no. 4, October 2003.
 31. Goyal A, Newcombe RG, Mansel RE: Sentinel lymph node biopsy in patients with multifocal breast cancer. *Eur J Surg oncol* 2004. 30_475-479.
 32. Knauser M, Konstantiniuk P, Haid A, et al. Multicentric breast cancer: a new indication for sentinel node biopsy – a multi-institutional validation study. *J Clin Oncol* 2006, Jul 20; 24(21): 3374-80.
 33. Fournier K, Schiller A, Perry RR, Laronga C. Micrometastasis in the sentinel lymph node of breast cancer does not mandate completion axillary dissection. *Ann Surg* 2004, 239(6): 859 – 63.
 34. Krauth JS, Charitansky H, Isaac S, Bobin JY. Clinical implications of axillary sentinel lymph node „micrometastases“ in breast cancer. *Eur J Surg Oncol*. 2006, 32(4): 400 – 4.
 35. Bevilacqua JLB, Gucciardo G, Cody HS 3rd, et al. A selection algorithm for internal mammary sentinel lymph node biopsy in breast cancer. *EJSO* 2002; 28: 603 – 614.
 36. Carcoforo P, Sortini D, Feggi L, et al. Clinical and therapeutic importance of sentinel node biopsy of the internal mammary chain in patients with breast cancer: a single-center study with long-term follow-up.
 37. Roumen RM, Kuijt GP, Liem IH. Lymphatic mapping and sentinel node harvesting in patients with recurrent breast cancer. *Eur J Surg Oncol*. 2006; 32(10): 1076 – 81.
 38. Intra M, Veronesi P, Gentilini OD, et al. Sentinel Lymph Node Biopsy Is Feasible Even After Total Mastectomy. *J Surg Oncol* 2007; 95: 175 – 179.
 39. Fait V, Chrenko V, Gatěk J. Sentinelová biopsie u karcinomu prsu a neoadjuvantní chemoterapie. *Klinická onkologie*, 2005, č. 3, 77 – 79.

Korespondenční adresa:

MUDr. Coufal O.

Masarykův onkologický ústav,
Oddělení chirurgické onkologie

Žlutý kopec 7

65653 BRNO

e-mail: oldrich.coufal@gmail.com, tel: 603 996 470

Došlo: 28. 4. 2007

Přijato: 17. 5. 2007

VÝZNAM BIOPSIE SENTINELOVÉ LYMFATICKÉ UZLINY U DLAŽDICOBUNĚČNÝCH KARCINOMŮ V OBLASTI HLAVY A KRKU

THE IMPLICATIONS OF SENTINEL LYMPH NODE BIOPSY IN HEAD AND NECK SQUAMOUS CELL CARCINOMA

NOVÁKOVÁ V.¹, KEPRTOVÁ P.²

¹STOMATOLOGICKÁ KLINIKA LF UK A FN HRADEC KRÁLOVÉ

²ODDĚLENÍ NUKLEÁRNÍ MEDICÍNY FN HRADEC KRÁLOVÉ

Souhrn

Dlouhodobé přežití jedinců s dlaždicobuněčným karcinomem v oblasti hlavy a krku je výrazně nižší při současném nebo pozdějším nádorovém šíření do regionálních mízních uzlin, jejichž subklinické postižení (cN0) se vyskytuje u 6 - 57 % pacientů s nově diagnostikovaným onemocněním. Biopsie sentinelové uzliny, prováděná dnes rutinně pro staging maligního melanomu a karcinomu prsu, je na řadě pracovišť zaváděna i do diagnostiky dlaždicobuněčných karcinomů v oblasti hlavy a krku včetně dutiny ústní. K zobrazení sentinelové uzliny se v této oblasti užívá častěji radiokoloidu značeného techneciem ⁹⁹Tc než barviv (patentní nebo izosulfanové modři). Označenou mízní uzlinu je nutné extirpovat do 24 hodin od aplikace lymfotropní látky. Extirpovaná uzlina je pro histologické vyšetření zpracována postupem doporučeným pro sentinelovou uzlinu (sériové prokrájení, imunohistochemie). V práci je též podán výčet indikací a kontraindikací pro lymfoscintigrafii dlaždicobuněčného karcinomu v oblasti hlavy a krku. Současné poznatky ukazují, že metoda je přínosná i v této oblasti klinické onkologie, chybí však dosud rozsáhlejší a dlouhodobější studie.

Klíčová slova: Biopsie sentinelové mízní uzliny, lymfoscintigrafie, mikrometastáza, krční disekce, karcinom ústní sliznice.

Abstract

Long-term survival of individuals with head and neck squamous-cell carcinoma is significantly lower if concurrent or subsequent metastatic spread into regional lymph nodes occurs. Subclinical affliction of the lymphatic system (cN0) is present in 6 - 57 % of newly-diagnosed patients. Sentinel lymph node biopsy, routinely used in malignant melanoma and breast cancer staging, is currently being implemented in head and neck cancer cases in many centers worldwide. The ⁹⁹Tc radiocolloid, preferably, or the blue dye (less frequently used in this area), are employed to detect the sentinel node. The marked sentinel node has to be extirpated within 24 hours of application of the lymphotropic substance. The extirpated node is worked up according to the sentinel-node guidelines (step-serial sectioning, immunohistochemical staining). This review mentions the indications and contraindications for lymphoscintigraphy in squamous-cell carcinoma of the head and neck. Current findings suggest the method is beneficial for the head and neck area; however, long-term studies on larger cohorts of patients are needed.

Key words: Sentinel lymph node biopsy, scintiphography, lymphatic metastasis, neck dissection, oral cancer.

Úvod do problematiky

Nejčastějším maligním nádorem v dutině ústní je dlaždicobuněčný karcinom (DK) vycházející z epitelu ústní sliznice. Epidemiologická šetření uvádějí, že tato klinická jednotka tvoří přes 95 % zhoubných nádorů v oblasti dutiny ústní a orofaryngu. Podle Johnsona (1) se jedná celosvětově o 6. nejčastější nádorové onemocnění (za karcinomem plic, žaludku, prsu, tlustého střeva a krčku děložního). V incidenci DK existují značné geografické rozdíly - v zemích Evropské unie je DK v oblasti hlavy a krku na 6. místě četnosti zhoubných nádorových onemocnění, ale v rozvojových zemích již na 3. místě u mužů a na 4. místě u žen. Prognóza je špatná - i v ekonomicky vyspělých zemích včetně USA zemře na tuto chorobu téměř každý třetí pacient. Incidence roste s věkem, v ekonomicky vyspělých zemích je 98 % pacientů starších 40 let, ale v oblas-

tech s vysokou prevalencí tohoto onemocnění nejsou výjimeční pacienti mladší 35 let.

Jako etiologické faktory se mohou uplatňovat různé formy chronického dráždění ústní sliznice, zejména chemické dráždění zplodinami uvolňujícími se z tabákových výrobků (polycyklické aromatické uhlovodíky, tabákové specifické N-nitrosaminy) za spoluúčasti vysokoprocenního alkoholu, který sám o sobě nemá karcinogenní potenciál, ale zvyšuje permeabilitu sliznice pro karcinogeny z tabákového kouře a je zároveň zdrojem acetaldehydu v dutině ústní (2). Tato kombinace zvyšuje pravděpodobnost vzniku karcinomu až 30krát.

Dlaždicobuněčné karcinomy dutiny ústní mohou růst exofyticky nebo endofyticky, postupem času se vředovitě rozpadají (3). Metastatické šíření DK probíhá zejména lymfogenní cestou. Odhaduje se, že při metastatickém nádorovém

postižení lymfatického systému se šance na přežití snižuje o 50 %. Dlouhodobá prognóza nemocných není příznivá zejména kvůli pozdnímu záchytu nádoru, danému dlouhodobě asymptomatickým průběhem, a často i relativně typickou sociální anamnézou postiženého jedince (alkoholismus). Přestože byly učiněny značné pokroky v léčbě včetně kombinované multimodální terapie, v posledních 30 letech nebyl zaznamenán odpovídající pokles úmrtnosti. Dlouhodobé, tj. 5leté přežití většinou nepřesahuje 35 - 50 % sledovaných jedinců v závislosti na lokalizaci primárního nádoru. Většina pacientů již má v době diagnózy postižené krční uzliny (prokazatelné palpačně, pomocí ultrazvuku či počítačové tomografie, magnetické rezonance nebo aspirační biopsie tenkou jehlou). V takovém případě po odstranění primárního ložiska přistupujeme k terapeutické krční disekci. Tento zákrok byl popsán Crilem už v roce 1906 a v 50. letech 20. století byl široce zpopularizován Martinem. Další léčebnou modalitou je radioterapie. Chemoterapie není v současné době šířeji uplatňována.

Existuje určité procento pacientů, u kterých v době stanovení diagnózy zhoubného onemocnění klinicky nezjišťujeme metastatické postižení krčního lymfatického systému (dle TNM klasifikace se jedná o stav T+ cN0 M0). Léčba těchto pacientů je kontroverzní. U většiny z nich lymfatický systém není zasažen a krční disekce, spojená se zvýšenou morbiditou, je zbytečně zatěžující. Avšak u určitého procenta pacientů je při důkladném histopatologickém vyšetření možno detekovat okultní metastázy, tj. metastázy, které nenalezneme při klinickém vyšetření (cN0), nebo mikrometastázy (metastázy v uzlinách o velikosti 0,2 - 2,0 mm) (4, 5). Na to, jak v případech těchto tzv. subklinických metastáz postupovat, zda provést krční disekci, nebo zvolit vyčkávání a observaci pacienta, existuje mezi odborníky více názorů. První, podporovaný i standardy americké National Comprehensive Center Network (NCCN), doporučuje profylaktickou krční disekci, případně radioterapii (rozdíl v úspěšnosti se v literatuře udává 5 %) (6). Elektivní krční disekce je dnes považována za jedinou spolehlivou metodu pro určení stagingu tohoto nádorového onemocnění. Proti tomu stojí metoda ostražitého vyčkávání („watchful waiting“, „wait-and-see“), jejíž zastánci konstatují, že pro 60 - 80 % těchto pacientů představuje výše zmíněný profylaktický přístup zbytečný zákrok, poškozující zcela funkční lymfatický systém, který by mohl působit jako ochranná bariéra proti rakovinným buňkám, a zatěžující pacienta větší morbiditou spojenou s krční disekcí (pokles ramene a nemožnost abdukce paže nad horizontálu v důsledku poškození inervace musculi trapezius a sternocleidomastoideus, lymfedém, kožní teleangiektázie (1), infekce a dehiscence operační rány, vznik slinných píštělí, nekróza laloku použitého pro rekonstrukci, ruptura a. carotis). Riziko úmrtí spojené s krční disekcí se odhaduje na 0,5 - 1 %.

Pooperační radioterapie je indikována při mnohonásobném postižení krčních lymfatických uzlin metastatickým procesem, při nálezů extrakapsulárního šíření a dalších nepříznivých histopatologických rysů (1).

Konzervativní přístup je posledních letech opouštěn zejména v Severní Americe. Řada retrospektivních studií totiž naznačuje, že pacienti, kteří podstoupí elektivní chirurgickou terapii (nebo radioterapii), mají mnohem větší šance na přežití než pacienti, kteří byli sledováni a léčeni až při kli-

nických projevech postižení lymfatického systému. Metoda „watchful waiting“ bývá považována za nevhodnou zejména u primárního postižení v oblasti jazyka a spodiny ústní (7, 8). Naděje na přežití je při recidivě DK v mizních uzlinách velmi malá, činí méně než 40 % i při kombinaci radioterapie a chemoterapie. Většina klinických pracovníků se dnes shoduje v doporučení provést krční disekci u pacientů, u nichž riziko přítomnosti skrytých metastáz přesahuje 20 %, což se děje u většiny DK dutiny ústní ve stadiu T2 a vyšším a skoro u všech DK orofaryngu včetně stádia T1. Riziko obecně závisí na anatomické lokalizaci primární léze, vaskulární invazi, perineurální infiltraci a stoupá s rostoucí tloušťkou primární léze (nad 2 mm).

Tabulka 1: Výskyt okultních metastáz u pacientů s klinicky nedetekovatelným postižením lymfatického systému

Autor	Počet pacientů	Okultní metastázy (%)
Civantos (12)	106	16
Hoft (13)	50	26
Keski-Santti (14)	13	15
Kontio (15)	15	20
Kosuda (16)	11	36
Rigual (10)	20	50
Ross (17)	48	35
Ross (18)	61	44
Ross (19)	227	T1 v 28 %, T2 v 51 %
Woolgar (4)	189	21
Yen (20)	28	22,2

Bylo prokázáno, že okultní metastázy jsou přítomny u 6 - 57 % pacientů s cN0 (4, 5, 9, 10, 11) (tabulka 1). Při manifestaci metastáz DK v oblasti hlavy a krku, neodhalených při prvním zákroku, bylo zaznamenáno častější extrakapsulární šíření, šíření ve více úrovních lymfatického systému a šance na přežití snižené až o 50 %. Výrazně horší prognóza onemocnění se udává také při postižení dvou a více mizních uzlin.

Celková přesnost vyšetření počítačovou tomografií (CT) a magnetickou rezonancí (MRI) pro zobrazení metastáz v mizních uzlinách u palpačně „negativního krku“ a pro staging nepřekračuje 70 % (21). Pozitronová emisní tomografie (PET scan) dosahuje senzitivity až 87 % a specifity 90 %, ale metastatická ložiska menší než 1 cm jsou pod její rozlišovací schopností. Náklady na pořízení přístroje a podíl falešně negativních případů dosud neumožňují použít tuto techniku ve standardní péči.

Velikost mizní uzliny není pro určení prognózy spolehlivým prediktivním faktorem (22). Negativními prognostickými faktory pro přítomnost metastáz do krčních lymfatických uzlin jsou tloušťka primární léze (při tloušťce léze do 2 mm je pravděpodobnost metastatického postižení 23 %, při tloušťce 2 mm a více už 50 %) (23), perineurální invaze, invaze do kosti a diskohezivní typ šíření.

Koncept sentinelové lymfatické uzliny

Student 4. ročníku medicíny Harvardské univerzity R. H. Randal si již v roce 1948 všiml jisté spojitosti mezi prelarýngeální uzlinou a klinickým chováním laryngeálních tumorů. Tuto uzlinu, která jako první v řadě krčních uzlin drénovala oblast nádoru a která se zdála předpovídat prognózu, nazval delfskou uzlinou podle starověké věštiny v řeckých Delfách.

Podle definice mezinárodní unie pro boj s rakovinou Union Internationale Contre le Cancer (UICC) je sentinelová uzlina první lymfatickou uzlinou, kterou prochází lymfa z oblasti primárního tumoru, a pokud dojde k metastatickému rozsevu nádoru lymfatickou cestou, je tato mizní uzlina zasažená první. Někdy může být sentinelových uzlin i více. Negativní histopatologické vyšetření sentinelové mizní uzliny by mělo znamenat, že zbytek lymfatického systému není postižen.

Pro překlad termínu „sentinelová“ uzlina do češtiny je asi nejvhodnější výraz uzlina „strážní“. Tento termín poprvé použil E. A. Gould ve své práci o zhoubných nádorech příušní žlázy z roku 1960 (24). Metodiku ve formě, v jaké ji známe dnes, zavedl D.L. Morton. V roce 1992 publikoval stěžejní práci popisující techniku u pacientů s maligním melanomem (25), o rok později pak zveřejnil výsledky u prognosticky nepříznivější lokalizace maligního melanomu v oblasti hlavy a krku (26). V české odborné literatuře publikovali první zkušenosti Fait et al. (27) již v roce 1995. V roce 1993 uveřejnili Krag et al. a v roce 1994 Giuliano et al. (28) své zkušenosti s technikou u nemocných s karcinomem prsu. Z oblasti aerodigestivního systému se objevila v roce 1996 jako první práce Alexe a Kraga.

Existují dva způsoby, jak sentinelovou uzlinu najít a označit. První z nich využívá submukózní aplikace barviva, jímž je v Evropě patentní modř V a v Severní Americe izosulfanová modř, do oblasti kolem nádoru. Drénující uzlina se pak zbarví modře.

Druhou možností je submukózní aplikace radiofarmaka obsahujícího ^{99m}Tc v podobě koloidu do tkáně v okolí nádoru. Radiokoloid je aplikován ve velmi malém množství (0,5 - 1,0 ml) inzulinovou stříkačkou ze 4 - 6 míst peritumorálně tak, aby zaplavil celou požadovanou oblast. Aplikace probíhá obvykle bez lokální anestezie nebo jen v povrchové anestezii (výplach 4% lidokainem, aplikace 10% lidokainu ve spreji). Po aplikaci radiofarmaka je vhodné důkladně vypláchnout ústa vodou, abychom zabránili dodatečnému polknutí radioaktivní látky. Po aplikaci může nebo nemusí následovat lymfoscintigrafie (statická, dynamická, či jejich kombinace).

Lymfoscintigrafie je jednoduchý a neinvazivní funkční test, který znázorní cesty odtoku lymfy z místa primárního nádoru. Aplikovaného radiofarmaka (i samotného radionuklidu) je tak malé množství, že po podání nemá žádný farmakologický efekt.

Radiofarmakum užitá pro tento účel musí splňovat následující požadavky (29):

- Radiační dávka do místa vpichu musí být co nejnižší, radiofarmakum musí vyzařovat pouze gama záření, musí mít krátký poločas rozpadu a dostatečnou energii, aby bylo detekovatelné zobrazovacími přístroji
- Sloučenina by měla co nejrychleji odtéci z místa vpichu, aby byly lymfatické cévy scintigraficky pozorovatelné
- Velikost částic by měla být homogenní, aby byl postup reprodukovatelný
- Látka by se měla dobře vstřebávat a zůstat dlouho v lymfatických uzlinách
- Sloučenina by měla být komerčně vyráběná, jednoduchá při použití a cenově dostupná.

Těmto požadavkům vyhovuje nejlépe izotop technecia ^{99m}Tc - gama zářič s krátkým poločasem rozpadu a nízkou výrobní cenou. V Evropě se většinou užívají ^{99m}Tc znače-

né koloidní roztoky obsahující lidský sérový albumin. V některých mimoevropských státech tento přípravek není licencován, proto se např. v USA užívají koloidy síry, v Austrálii a v Asii koloid sulfidu antimonitového nebo sulfidu rhenistého. Při operačním zákroku se radioaktivní uzliny peroperačně detekují ruční gama sondou.

Tabulka 2: Operační protokol pro biopsii sentinelové uzliny na různých pracovištích

Autor	Radiofarmakon	Velikost částic (nm)	Celková aktivita (MBq)	Operační protokol
Colnot (30)	^{99m}Tc lidský sérový albumin	3 - 80	40 - 70	1denní
Hoft (13)	^{99m}Tc lidský sérový albumin	< 80	50	1denní
Khafif (23)	^{99m}Tc sulfid rhenistý	50 - 100	74	2denní
Kontio (15)	^{99m}Tc lidský sérový albumin	< 80	74	2denní
Mrzena (31)	^{99m}Tc lidský sérový albumin	200 - 600	15 - 50	2denní
Nieuwenhuis (32)	^{99m}Tc lidský sérový albumin	3 - 80	75 - 80	2denní
Stoeckli (33)	^{99m}Tc koloid síry	20 - 80	80	1denní

Operační protokol se na jednotlivých pracovištích liší (tabulka 2). Podle velikosti částic aplikovaného radiofarmaka se operuje v jednodenním nebo dvoudenním režimu. Mezi dobou aplikace radiofarmaka a odebráním lymfatické uzliny by však nemělo uplynout více než 24 hodin. Velikost částic radiokoloidu se pohybuje v rozmezí 3 - 600 nm. Malé částice koloidu rychle odtékají z místa vpichu a jsou vhodnější pro oblasti s nízkou hustotou terminálních mizních cév, tj. pro oblast dutiny ústní kromě jazyka a spodiny. Pro oblast jazyka a spodiny dutiny ústní je vhodnější použití velkých částic, které vyžadují vysokou hustotu terminálních mizních cév. Velké částice zůstávají v uzlinách déle a dovolují tak užití dvoudenního protokolu. Existuje ale podezření, že velké částice hůře pronikají do uzlin (7).

Radiační zátěž je minimální pro pacienta i pro personál operačního sálu a patologa. Specifická bezpečnostní opatření nejsou potřebná. Radioaktivita se peroperačně měří celkem pětkrát: nejdříve radiační pozadí operačního sálu, poté radioaktivita operované oblasti *in vivo* před incizí, uzlina *in vivo* během disekce a *ex vivo* po extirpaci, nakonec se měří aktivita prázdného operačního lože.

V dobách, kdy byla technika biopsie sentinelové mizní uzliny v oblasti hlavy a krku v počátcích, se doporučovala na základě zkušeností u maligního melanomu či karcinomu prsu, tedy u onemocnění, u nichž byla metoda standardizována nejdříve, kombinace obou detekčních metod, tj. užití radionuklidu i barviva. Užití obojího se zdůvodňovalo tím, že barvivo má jinou farmakokinetiku a farmakodynamiku než radiofarmakon, a proto nám může dodat další informace. Zkušenosti však ukázaly, že užití barviva v oblasti hlavy a krku je méně vhodné než v jiných anatomických krajinách, a v současnosti na většině pracovišť převládá technika radioaktivního značení sentinelové uzliny (tabulka 3). V případě podslizniční aplikace barviva se zbarví celá oblast nádoru a optické hodnocení okrajů léze je značně ztíženo (37), při porušení některé lymfatické cévy při preparaci může peroperačně dojít k vylištění barviva a zneřehlednění operačního pole. Navíc je technika užití modrého barviva limitována časem (barvivo do uzliny přitéká během 15 minut a setrvává v ní zhruba dalších 15 minut, excize tedy musí proběhnout do 30 minut od jeho aplikace do oblasti primárního tumoru). Nevýhodná je i tím, že je nutná rozsáhlejší

Tabulka 3: Úspěšnost identifikace sentinelové uzliny při použití různých detekčních metod

Autor	Počet pacientů	Metoda					Úspěšnost identifikace sentinelové uzliny (%)
		LSG	Gama sonda	Barvivo	USg FNAC	SPECT/CT	
Alex (34)	8		+				100
Čizmarevič (35)	12	+	+	+			100
Hoft (13)	50	+	+				92
Keski-Santti (14)	13	+	+	+			100
Khafif (23)	20	+	+	+			95
Kosuda (16)	11	+	+				95,4
Mozzillo (36)	41	+	+	+			95
Mrzena (31)	27	+	+				100
Nieuwenhuis (32)	22	+	+		+		78
Pitman (37)	9			+			0
Pitman (38)	20	+	+				95
Rigual (10)	20	+	+	+			100
Ross (18)	48	+	+	+			90
Ross (19)	227		+	+			93
Shoaib (39)	13		+	+			94
Shoaib (39)	13			+			38
Shoaib (40)	37		+	+			92
Stoeckli (33)	19						100
Taylor (41)	9	+	+				100
Terada (42)	15	+				+	100
Werner (43)	9		+				78
Werner (44)	4		+				100
Werner (45)	90	+					100
Yen (20)	28	+	+				96,4

LSG - lymfoscintigrafie

USg FNAC – ultrazvukem řízená aspirační cytologie tenkou jehlou

SPECT/CT – jednofotonová emisní tomografie v kombinaci s počítačovou tomografií

disekce, protože před kožní incizí není poloha označené uzliny známa a na rozdíl od radiolokalizační techniky je obtížné ověřit, zda byly odstraněny opravdu všechny označené uzliny. Estetickým problémem může být permanentní tetováž přilehlých tkání, ke které někdy dojde (37). Vědomi bychom si měli být potenciálně vážného rizika anafylaxe po aplikaci barviva (46, 47, 48), jejíž příznaky jsou při celkové anestezii méně výrazné. Alergická reakce se vyskytuje asi ve 2 % případů, byla však zaznamenána i alergická reakce po podání radiofarmaka (49). Odpůrci užití radiokoloidu tvrdí, že technika je limitována anatomickými detaily a tzv. rozptylem na pozadí, pokud se primární tumor překrývá se sentinelovou uzlinou (50).

Werner & al. ve své studii (45) prokázali, že pokud je odstraňována pouze první značená lymfatická uzlina, která se při lymfoscintigrafii zobrazí, je až 40 % pacientů diagnostikováno jako falešně negativních, proto se doporučuje odstranit více uzlin, tj. 2 - 4 z každé strany krku, resp. všechny uzliny, které se při lymfoscintigrafii zobrazí.

Odebrané mizní uzliny se následně vyšetřují histologicky. Jak nejlépe naložit s odebranou sentinelovou uzlinou, není zatím úplně jasné. Peroperační histologické vyšetření sentinelové uzliny znamená úsporu času a financí, protiváhou je však prodloužené trvání celkové anestezie a ztráta až 50 % objemu odebrané uzliny při užití techniky zmrazovacích řezů. Otisková cytologie (preparát se zhotoví jednoduchým přitlačením plochy řezu uzlinou na sklíčko) nepůsobí skoro žádnou ztrátu tkáně, ale velká část pracovišť nepovažuje ani jednu z těchto metod za dostatečně spolehlivou. Faleš-

ně negativní výsledky obou metod dosahují 30 - 70 %, v kombinaci 50 %. Ve velké části pozitivních případů se jedná o mikrometastázy nebo jen ojedinělé nádorové buňky (isolated tumour cells, ITC), proto není klasické zpracování parafinových bločků a barvení hematoxylinem a eosinem stoprocentně spolehlivé. Protože však byla prokázána jasná souvislost mezi hustotou řezů a zlepšením dlouhodobé prognózy, doporučuje se zpracování materiálu metodou sériového prokrájení odebrané uzliny v intervalu 150 µm. Histopatologické vyšetření je vhodné doplnit o imunocytochemickou detekci nádorových buněk užitím protilátky proti cytokeratinu A1E/A3E, která zvýší záchyt nádorových buněk o 17 - 19 % (8, 51). Další možností jsou molekulárně-genetické metody - průtoková cytometrie a polymerázová řetězová reakce, detekující reverzní transkriptázu keratinové mRNA. Tyto nemorfologické metody dosud nejsou vhodné pro široké použití, protože zatím není jasný klinický dopad pozitivního výsledku, ani nebyl určen algoritmus pro další postup.

Vyšetření sentinelové lymfatické uzliny je pro patologa značně náročné, na druhou stranu však odpadá zpracování objemného materiálu z krčního disekátu. Čím pečlivěji je uzlina prohledána, tím vyšší je pravděpodobnost, že se v preparátu najdou mikrometastázy nebo ojedinělé nádorové buňky. Na rozdíl od karcinomu prsu či maligního melanomu, u nichž je výskyt ITC častý, tvoří dlaždicobuněčný karcinom spíše shluky buněk (clusters) (33). Hermanek & al. (52) navrhli odlišovat ITC od mikrometastáz, protože přítomnost osamocených nádorových buněk v uzlině ješ-

Tabulka 4: Možné subsety stadia pN0 (p = histopatologicky ověřený) podle uniformního stagingového systému UICC a AJCC (48, 50)

pN0	Metastázy v regionálních mízních uzlinách histologicky nezastíženy, detekce ITC neprováděna
pN0(i-)	Metastázy v regionálních mízních uzlinách histologicky nezastíženy, při vyšetření morfologickými metodami (včetně imunohistochemické detekce) ITC nenalezeny
pN0(i+)	Metastázy v regionálních mízních uzlinách histologicky nepotvrzeny, při vyšetření morfologickými metodami nalezeny ITC
pN0(mol-)	Metastázy v regionálních mízních uzlinách histologicky nepotvrzeny, při vyšetření nemorfologickými metodami ITC nenalezeny
pN0(mol+)	Metastázy v regionálních mízních uzlinách histologicky nepotvrzeny, při vyšetření nemorfologickými metodami nalezeny ITC
pN0(mi)	Mikrometastázy > 0,2 mm v regionálních mízních uzlinách nezastíženy (mikrometastázy o velikosti 0,2-2,0 mm již spadají do kategorie pN1)

Pokud byla vyšetřena sentinelová uzlina, přidává se ještě označení (sn) - např. pN0(i-) (sn).

tě neznamená, že se zde tyto buňky usadí a dojde k vytvoření metastáz. Pouze minimální procento cirkulujících nádorových buněk (0,05 %) přežije a iniciuje vznik metastázy. ITC, mikrometastázy a metastázy nalezené při histopatologickém vyšetření tak mohou mít rozdílné klinické konsekvence a různou prognostickou hodnotu. Otázkou je, zda je třeba změnit terapeutické postupy a například při histologickém průkazu mikrometastázy indikovat po chirurgickém zákroku automaticky radioterapii. American Joint Committee on Cancer (AJCC) doporučuje ložiska ITC a mikrometastatická ložiska menší než 0,2 mm klasifikovat jako N0 a mikrometastázy větší než 0,2 mm jako N1 (tabulka 4), protože i jediná mikrometastáza v jediné mízní uzlině snižuje šance na přežití nemocného o 50 % (53). Metoda biopsie sentinelové uzliny je technicky dosti náročná. Aby operatér dosáhl maximální možné úspěšnosti, doporučují Morton & al. (54) provést aspoň 60 operací při kombinaci barviva a radiofarmaka, Alex doporučuje minimálně 30 operací. Dnes se všeobecně odhaduje, že pro dosažení 94% úspěšnosti stačí operovat 10 pacientů (7). Poté může dané pracoviště techniku užívat jako jediný nástroj pro určení stagingu nádorového onemocnění. Na 1. mezinárodní konferenci o použití metody sentinelové uzliny v terapii zhoubných slizničních nádorů v oblasti hlavy a krku (The First International Conference on Sentinel Node Biopsy in Mucosal Head and Neck Cancer) v Glasgowě v roce 2001 bylo doporučeno, aby během tohoto procesu „učení“ byla po extirpaci sentinelové uzliny provedena radikální krční disekce a materiál z disekátu histopatologicky vyšetřen, aby bylo možné zjistit případnou falešnou negativitu vyšetření. Největší zkušenosti s biopsií sentinelové uzliny dosud mají zřejmě lékaři z Canniesburnské nemocnice v Glasgowě, kteří dosáhli schopnosti indentifikovat sentinelovou uzlinu téměř u všech případů (97 %). Pouze u 2 % pacientů, kteří tuto techniku podstoupili, časem došlo k recidivě nemoci (55). Z údajů v odborné literatuře vyplývá, že lepších výsledků dosahuje technika biopsie sentinelové uzliny u snadno přístupných karcinomů v přední části dutiny ústní, kde je možné aplikovat radiofarmakon při vědomí pacienta a následně provést předoperační lymfoscintigrafii, než u špatně přístupných „dorzálnějších“ karcinomů, kam aplikujeme radiofarmakon endoskopicky v celkové anestezii a ihned následuje samotná operace bez předchozí lymfoscintigrafie.

Publikovány byly i práce snažící se zhodnotit stav označených uzlin ultrazvukem řízenou tenkojehlovou aspirační cytologií (USg FNAC) (32, 56). Citlivost metody však velmi záleží na zkušenosti lékaře a pohybuje se mezi 40 - 73 % (7).

Indikace biopsie sentinelové mízní uzliny

Jak již bylo uvedeno, biopsie sentinelové mízní uzliny není metoda vhodná pro všechny pacienty s dlaždícobuněčným karcinomem hlavy a krku. Indikační skupina je úzká, napří-

klad pro účast ve studii American College of Surgeons ACOSOG Z0360 (57) musí být splněna následující kritéria:

- Věk pacienta 18 a více let
- Histologicky potvrzený T1 nebo T2 dlaždícobuněčný karcinom dutiny ústní, který není menší než 6 mm a větší než 4 cm. Nádor musí být operabilní a musí být diagnostikován méně než 60 dní před vlastním chirurgickým zákrokem
- Pacient musí být ve stadiu cN0, což musí být potvrzeno CT nebo MRI vyšetřením
- Pacient musí být schopen absolvovat krční disekci
- Písemný souhlas pacienta (nebo jeho zákonného zástupce) se vstupem do studie před zahájením jakýchkoli procedur a souhlas ke zpracování osobních dat
- U žen negativní těhotenský test během 30 dnů před registrací, pacientka nesmí kojít
- Pokud měl pacient v minulosti nádorové onemocnění, musí být prokazatelné, že absolvoval terapii všech předchozích nádorových onemocnění a po dobu minimálně 5 let neprojevuje žádné známky recidivy.

Kritéria, která automaticky vylučují z indikační skupiny pro biopsii sentinelové uzliny, jsou následující:

- Léčba metastáz v krčních mízních uzlinách (včetně chirurgické terapie či radioterapie) v anamnéze
- Těžké rozsáhlé zranění v přední krční oblasti v anamnéze
- Rozsah primárního nádoru přesahuje retní červec až na kůži rtu
- Resekce tumoru v oblasti hlavy a krku v anamnéze
- Pacient v nedávné minulosti absolvoval jiné radioizotopové vyšetření.

Metoda biopsie sentinelové uzliny má i své kritiky, kteří argumentují jednak tím, že postupy jednotlivých center se liší (zatím nebyl přijat jednotný, celosvětově platný protokol) a že výsledky jsou těžko reprodukovatelné, protože odtok lymfy z oblasti hlavy a krku je těžko předvídatelný (lymfatický systém se liší od představ zobrazených v anatomických atlasech u 40 - 60 % populace). Je třeba také upozornit na přítomnost tzv. „skip (přeskakujících)“ metastáz (asi v 5 % případů), kdy uzlina prvního řádu nezachytí nic a lymfa z oblasti primárního tumoru je filtrována až v následujících uzlinách lymfatického řetězce.

V případě pozitivního nálezu ložisek nádorových buněk v mízní uzlině by se pacient měl podrobit druhé operaci, tj. krční disekci. Kosuda & al. (16) spočítali, že i v tomto případě metoda znamená značnou finanční úsporu - v podmínkách tokijské Kyori School of Medicine se jednalo konkrétně o úsporu 1165 USD na jednoho pacienta ve stadiu N0, a to bez snížení délky přežití.

Pacienti jsou během dispenzarizace sledováni dle následujícího schématu: během prvního roku po zákroku jsou kontrolováni každé 3 měsíce, 2. a 3. rok po zákroku každé 4 měsíce a 4. a 5. rok každých 6 měsíců.

Závěr

Metoda biopsie sentinelové mizní uzliny byla zařazena do klinické praxe nejdříve pro maligní melanom a později i pro karcinom prsu. Užívá se (s většími či menšími úspěchy) také u nádorů penisu, vulvy, krčku děložního, karcinomu z Merkelových buněk, karcinomů plic, žaludku, jícnu, tlustého střeva a konečníku, slinivky břišní a štítné žlázy. Od roku 1996, kdy byla metoda popsána Kragem a Alexem i u případu supraglottického tumoru, tato problematika neustále zaměstnává odbornou veřejnost orientující se na onkologickou problematiku v oblasti hlavy a krku. Pro tuto oblast však zatím chybí zkušenosti ve statisticky významném vzorku populace a také dostatečně dlouhá doba pro sledování souborů nemocných jedinců. American College of Surgeons Oncology Group (ACOSOG) a National Cancer Institute sponzorují v současnosti prospektivní multicentrickou studii Z0360 pod vedením F. Civantose (57), European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) sponzoruje podobnou studii v Evropě. V minulosti proběhla výzkumná studie ACOSOG Z0010 vedená W.S. Yongem, zaměřená na karcinom prsu, a Mortonem vedený, na maligní melanom zaměřený Multicenter Selective Lymphadenectomy Trial (MSLT-1) (54).

K diskusi o problematice sentinelové uzliny v oblasti hlavy a krku se sešly mezinárodní konference (International Conference on Sentinel Node Biopsy in Mucosal Head and Neck Cancer) v roce 2001 v Glasgowě a v roce 2003 v Curychu. Skupina vědců kolem Shoaiba a Rosse iniciovala prospektivní multicentrickou studii Multicentre Interventional Trial of Sentinel Node Biopsy in Oral and Oropharyngeal Cancer, která se snaží o standardizaci provádění samotné techniky (nutná je zejména při zpracování uzliny patologem) i hlášení výsledků. Studie snad přinese v dohledné době potvrzení o zvýšeném procentu přežívajících pacientů. Shromážděné údaje by měly ukázat, zda se jedná o smysluplnou techniku, která přesně určí přítomnost nebo nepřítomnost metastáz v lymfatických uzlinách u pacientů dlaždicobuněčným karcinomem dutiny ústní a orofaryngu ve stadiu T1/T2 N0, zlepši přežití pacientů a sníží jejich morbiditu. V druhém sledu bude také možné zmapovat anatomické uložení sentinelových uzlin drénujících různé oblasti dutiny ústní a určit přínos imunohistochemického zpracování a sériového prokrájení bioptického materiálu u histologicky negativních nálezů barvených pouze hematoxylinem a eosinem. Výsledky těchto výzkumů snad v budoucnosti dovolí lékařům praktikovat i v této oblasti medicínu založenou na důkazech.

Literatura

- Shah JP, Johnson NW, Batsakis JG. Oral Cancer. London: Martin Dunitz; 2003.
- Squier CA, Kremer MJ, Wertz PW. Effect of ethanol on lipid metabolism and epithelial permeability barrier of skin and oral mucosa in the rat. *J Oral Pathol Med* 2003; 32: 595-9.
- Liška K. Orofaciální patologie: učebnice pro lékařské fakulty, pro posluchače stomatology. Praha: Avicenum; 1983.
- Woolgar JA. Pathology of the N0 neck. *Br J Oral Maxillofac Surg* 1999; 37: 205-209.
- O'Brien CJ, Traynor SJ, McNeil E, McMahon JD, et al. The use of clinical criteria alone in the management of the clinically negative neck among patients with squamous cell carcinoma of the oral cavity and oropharynx. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2000; 126: 360-365.
- National Comprehensive Cancer Network, Inc. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Head and neck cancers. Version 1.2006. Available from: URL: www.nccn.org/professionals/physicians_gls/pdf/head-and-neck.pdf
- Ross GL, Shoaib T, Soutar DS, MacDonald DG, et al. The first international conference on sentinel node biopsy in mucosal head and neck cancer and adoption of a multicenter trial protocol. *Ann Surg Oncol* 2002; 9: 406-410.
- Stoeckli SJ, Pfaltz M, Ross GL, Steinert HC, et al. The second international conference on sentinel node biopsy in mucosal head and neck cancer. *Ann Surg Oncol* 2005; 12: 919-924.
- Hosal AS, Carrau RL, Johnson JT, Myers EN. Selective neck dissection in the management of the clinically node-negative neck. *Laryngoscope* 2000; 110: 2037-2040.
- Rigual N, Douglas W, Lamonica D, Wiseman S, et al. Sentinel lymph node biopsy: A rational approach for staging T2N0 Oral Cancer. *Laryngoscope* 2005; 115: 2217-2220.
- van den Brekel MWM, van der Waal I, Meijer CJLM, Freeman JL, et al. The incidence of micrometastases in neck dissection specimens obtained from elective neck dissections. *Laryngoscope* 1996; 106: 987-991.
- Civantos FJ, Moffat FL, Goodwin WJ. Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for 106 head and neck lesions: Contrasts between oral cavity and cutaneous malignancy. *Laryngoscope* 2006; 116(Suppl 109): 1-15.
- Hoft S, Maune S, Muhle C, Brenner W, et al. Sentinel lymph-node biopsy in head and neck cancer. *Br J Cancer* 2004; 91: 124-128.
- Keski-Santti H, Makitie AA, Atula T, Kontio R, et al. Replacing watch and wait policy by sentinel lymph node biopsy in patients with small T1 oral cavity squamous cell carcinoma. In: Varma AK, Piemonte M, editors. *Oral Oncology. Vol 11. Selected transaction of the 11th International Congress on Oral Cancer*; 2006 May 14-17; Grado, Italy. New Delhi: Northern Book Centre; 2006. p. 74-79.
- Kontio R, Leivo I, Leppanen E, Atula T. Sentinel lymph node biopsy in oral cavity squamous cell carcinoma without clinically evident metastasis. *Head Neck* 2004; 26: 16-21.
- Kosuda S, Kusano S, Kohno N, Ohno Y, et al. Feasibility and cost-effectiveness of sentinel lymph node radiolocalization in stage N0 head and neck cancer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2003; 129: 1105-1109.
- Ross GL, Shoaib T, Soutar DS, Camilleri IG, et al. The use of sentinel node biopsy to upstage the clinically N0 neck in head and neck cancer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2002; 128: 1287-1291.
- Ross GL, Soutar DS, MacDonald DG, Shoaib T, et al. Improved staging of cervical metastases in clinically node-negative patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2004; 11: 213-218.
- Ross GL, Soutar DS, MacDonald DG, Shoaib T, et al. Sentinel node biopsy in head and neck cancer: Preliminary results of a multicenter trial. *Ann Surg Oncol* 2004; 11: 690-696.
- Yen CY, Lee SY, Hsieh JF, Wang DZ, et al. Radiolocalized sentinel lymph node biopsy in squamous cell carcinoma of the oral cavity and analysis of various parameters. *Ann Surg Oncol* 2006; 13: 1130-1135.
- Ross GL, Shoaib T. Role of sentinel node biopsy in the management and staging of the N0 neck. *Odontology* 2005; 93: 1-6.
- Alkureishi LWT, Ross GL, MacDonald DG, Shoaib T, et al. Sentinel node in head and neck cancer: Use of size criterion to upstage the n0

- neck in head and neck squamous cell carcinoma. *Head Neck* 2007; 29: 95-103.
23. Khafif A, Schneebaum S, Fliss DM, Lerman H, et al. Lymphoscintigraphy for sentinel node mapping using a hybrid single photon emission CT (SPECT)/CT system in oral cavity squamous cell carcinoma. *Head Neck* 2006; 28: 874-879.
24. Gould EA, Winship T, Philbin PH, Kerr HH. Observations on a „sentinel node“ in cancer of the parotid. *Cancer* 1960; 13: 77-8.
25. Morton DL, Wen DR, Wong JH, Economou JS, et al. Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg* 1992; 127: 392-399.
26. Morton DL, Wen DR, Foshag LF, Essner R, et al. Intraoperative lymphatic mapping and selective cervical lymphadenectomy for early-stage melanomas of the head and neck. *J Clin Oncol* 1993; 11: 1751-1756.
27. Fait V, Pačovský Z, Chrenko V, Žaloudík J. Mapování lymfatické sentinelové biopsie u maligního melanomu, stručný přehled a první zkušenosti. *Klinická onkologie* 1999; 3: 65-8.
28. Giuliano AE, Kirgan DM, Guenther JM, Morton DL. Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for breast cancer. *Ann Surg* 1994; 220: 391-401.
29. Ross GL, Soutar DS, Shoaib T, Camilleri IG, et al. The ability of lymphoscintigraphy to direct sentinel node biopsy in the clinically N0 neck for patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Br J Radiol* 2002; 75: 950-8.
30. Colnot DR, Nieuwenhuis EJC, van den Brekel MWM, Pijpers R, et al. Head and neck squamous cell carcinoma: US-guided fine-needle aspiration of sentinel lymph nodes for improved staging - initial experience. *Radiology* 2001; 218: 289-293.
31. Mrzena L, Betka J, Stárek I, Táborská K, et al. Biopsie sentinelové uzliny u pacientů s karcinomem ústní dutiny a orofaryngu. *Čas Lék Česk* 2006; 145: 393-398.
32. Nieuwenhuis EJC, van der Waal I, Leemans CR, Kummer A, et al. Histopathologic validation of the sentinel node concept in oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Head Neck* 2005; 27: 150-158.
33. Stoeckli SJ, Pfaltz M, Steinert H, Schmid S. Histopathological features of occult metastasis detected by sentinel lymph node biopsy in oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Laryngoscope* 2002; 112: 111-115.
34. Alex JC, Sasaki CT, Krag DN, Wenig B, et al. Sentinel lymph node radiolocalization in head and neck squamous cell carcinoma. *Laryngoscope* 2000; 110: 198-203.
35. Čizmarević B, Žargi M. Sentinel-Lymphknoten bei oralen und oropharyngealen epithelialen Tumoren. *Wien Klin Wochenschr* 2006; 118: 114-119.
36. Mozzillo N, Chiesa F, Caraco C, Botti G, et al. Therapeutic implications of sentinel lymph node biopsy in the staging of oral cancer. *Ann Surg Oncol* 2004; 11: 263S-266S.
37. Pitman KT, Johnson JT, Edington H, Barnes EL, et al. Lymphatic mapping with isosulfan blue dye in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1998; 124: 790-793.
38. Pitman KT, Johnson JT, Brown ML, Myers EN. Sentinel lymph node biopsy in head and neck squamous cell carcinoma. *Laryngoscope* 2002; 112: 2101-2113.
39. Shoaib T, Soutar DS, Prosser JE, Dunaway DJ, et al. A suggested method for sentinel node biopsy in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Head Neck* 1999; 21: 728-733.
40. Shoaib T, Soutar DS, MacDonald DG, Camilleri IG. The accuracy of head and neck carcinoma sentinel lymph node biopsy in the clinically N0 neck. *Cancer* 2001; 91: 2077-2083.
41. Taylor RJ, Wahl RL, Sharma PK, Bradford CR, et al. Sentinel lymph node localization in oral cavity and oropharynx squamous cell cancer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2001; 127: 970-974.
42. Terada A, Hasegawa Y, Goto M, Sato E, et al. Sentinel lymph node radiolocalization in clinically negative neck oral cancer. *Head Neck* 2006; 28: 114-120.
43. Werner JA, Dunne AA, Brandt D, Ramaswamy A, et al. Untersuchungen zum Stellenwert der Sentinel Lymphonodektomie bei Karzinomen des Pharynx und Larynx. *Laryngo-Rhino-Otol* 1999; 78: 663-670.
44. Werner JA, Sapundzhiev NR, Teymoortash A, Dunne AA, et al. Endoscopic sentinel lymphadenectomy as a new diagnostic approach in the N0 neck. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2004; 261: 463-468.
45. Werner JA, Dunne AA, Ramaswamy A, Dalchow C, et al. The sentinel node concept in head and neck cancer: Solution for the controversies in the N0 neck? *Head Neck* 2004; 26: 603-611.
46. Leong SPL, Donegan E, Heffernon W, Dean S, et al. Adverse reactions to isosulfan blue during selective sentinel lymph node dissection in melanoma. *Ann Surg Oncol* 2000; 7: 361-366.
47. Cimmino VM, Brown AC, Szocik JF, Pass HA, et al. Allergic reactions to isosulfan blue during sentinel node biopsy - a common event. *Surgery* 2001; 130: 439-42.
48. Stefanutto TB, Shapiro WA, Wright PMC. Anaphylactic reaction to isosulphan blue. *Br J Anaesth* 2002; 89: 527-8.
49. Burton DA, Cashman JN. Allergic reaction to nanocolloid during lymphoscintigraphy for sentinel lymph node biopsy. *Br J Anaesth* 2003; 90: 105.
50. Nason RW, Torchia MG, Morales CM, Thliveris J. Dynamic MR lymphangiography and carbon dye for sentinel lymph node detection: A solution for sentinel lymph node biopsy in mucosal head and neck cancer. *Head Neck* 2005; 27: 333-338.
51. Ross GL, Shoaib T, Scott J, Camilleri IG, et al. The impact of immunohistochemistry on sentinel node biopsy for primary cutaneous malignant melanoma. *Br J Plast Surg* 2003; 56: 153-155.
52. Hermanek P, Hutter RVP, Sobin LH, Wittekind C. Classification of isolated tumor cells and micrometastasis. *Cancer* 1999; 86: 2668-2673.
53. American Joint Committee on Cancer. Collaborative staging and coding manual. Version 01.03.00. Coding aids: Breast node explanation. Available from: URL: www.cancerstaging.org/cstage/breastnodesexplanation.doc
54. Morton DL, Thompson JF, Essner R, Elashoff R, et al. Validation of the accuracy of intraoperative lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for early stage melanoma. *Ann Surg* 1999; 230: 453-465.
55. Shah JP. Extent of surgical intervention in case of N0 neck in head and neck cancer patients. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2004; 261: 293-294.
56. Nieuwenhuis EJC, Castelijns JA, Pijpers R, van den Brekel MWM, et al. Wait-and-see policy for the N0 neck in early-stage oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma using ultrasonography-guided cytology: Is there a role for identification of the sentinel node? *Head Neck* 2002; 24: 282-289.
57. American College of Surgeons Oncology Group. Z0360 (Study synopsis). Available from: URL: www.acosog.org/studies/synopses/zo360_synopsis.pdf

Korespondenční adresa:

MUDr. Vendula Nováková
Stomatologická klinika LF UK a FN Hradec Králové
Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové
tel.: 495 832 367
e-mail: vendula.novakova@gmail.com

Došlo: 22. 3. 2007

Přijato: 30. 5. 2007

RIZIKOVÉ FAKTORY VÝŽIVY U KARCINOMU LEDVIN

NUTRITIONAL RISK FACTORS FOR KIDNEY CANCER

JANOUTOVÁ G.¹, KOLLÁROVÁ H.¹, HORÁKOVÁ D.¹, ČÍZEK L.¹, REIF R.², STARCZEWSKI J.³, JANOUT V.¹

¹ ÚSTAV PREVENTIVNÍHO LÉKAŘSTVÍ LF UP V OLOMOUČ

² UROLOGICKÁ KLINIKA LF UP A FN V OLOMOUČ

³ UROLOGICKÉ ODDĚLENÍ NEMOCNICE ČESKÉ BUDĚJOVICE

Souhrn

Východiska: Etiologie karcinomu ledviny není známa. Přesto je v literatuře v souvislosti s parenchymovými nádory ledvin opakovaně diskutována řada rizikových faktorů včetně vlivů výživy. **Typ studie a soubor:** Mezinárodní studie případů a kontrol pod vedením IARC Lyon. Soubor tvořilo celkem 635 subjektů, z toho 300 případů karcinomu ledvin a 335 kontrolních osob z Olomouce a Českých Budějovic. V období od srpna 1999 do ledna 2003 byly vybírány nově diagnostikované a histologicky potvrzené případy karcinomu ledvin ve věku od 20 do 79 let. Kontrolní osoby byly vybírány z pacientů stejných nemocnic jako případy s podmínkou stejného pohlaví, stejného věku (± 5 let) a přibližně stejné geografické lokality. **Metody a výsledky:** Pomocí standardizovaného dotazníku byly zjišťovány údaje o výšce, hmotnosti a výživových zvyklostech. Výsledky byly hodnoceny pomocí hrubého odds ratio (OR) a dále pomocí logistické regrese. S rizikem vzniku karcinomu ledvin byla zjištěna pozitivní asociace u obezity (OR = 1,65), vysoké konzumace mléka (OR = 1,93) a sýrů (OR = 1,94). Inverzní asociace na vznik karcinomu ledvin byla naopak zjištěna u vysoké konzumace jogurtu (OR = 0,49) a kuřecího masa (OR = 0,31). U vysoké konzumace červeného masa a uzenin nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl. **Závěry:** Byl potvrzen vliv obezity, pravidelného pití mléka a konzumace sýrů jako rizikového faktoru pro vznik karcinomu ledvin. Byla zjištěna inverzní asociace při vysoké konzumaci jogurtu a kuřecího masa.

Klíčová slova: karcinom ledvin, BMI, výživa, rizikové faktory, studie případů a kontrol.

Summary

Backgrounds: The etiology of kidney cancer is not known. Nevertheless, many risk factors are discussed in the literature including nutritional ones. **Design and Subjects:** An international case-control study coordinated by IARC Lyon. Sample of 635 subjects, out of which 300 kidney cancer cases and 335 controls were recruited in the Olomouc and České Budějovice regions. In the time period from August 1999 through January 2003 patients with newly diagnosed and histologically confirmed kidney cancer cases were selected in the range of 20 to 79 years of age. Hospital-based controls were selected according to same gender, age (± 5 years) and geographical locality as the cancer cases. **Methods and Results:** Standardized questionnaire was used to ascertain height, weight and nutritional habits. The assessment of results was done by odds ratio (OR) and by logistic regression. Increased risk of kidney cancer was found in obesity (OR = 1.65), high consumption of milk (OR = 1.93) and cheese (OR = 1.94). Inverse association of kidney cancer was found in high consumption of yogurt (OR = 0.49) and poultry (OR = 0.31). Statistically significant difference was not found in high consumption of red meat and processed meat. **Conclusions:** Obesity, periodic consumption of milk and cheese were confirmed as risk factors for kidney cancer. High consumption of yogurt and poultry was found to have an inverse association.

Key words: kidney cancer, body mass index, nutritional status, risk factors, case-control study.

ÚVOD

Karcinom ledvin je jedním z nejvýznamnějších nádorů pro svoji vysokou smrtnost, krátkou dobu přežívání a stoupající incidenci v některých částech světa, především v civilizovaných zemích včetně České republiky, která je na prvním místě ve světě pokud se týká nejen incidence, ale i mortality a to jak u mužů tak i u žen (1).

Nádory ledvin obecně zahrnují nádory renálního parenchymu, pánvičky ledvinné a močovodu. V této práci bude pod pojmem karcinom ledvin věnována pozornost jen nádorům renálního parenchymu, který je ze všech nádorů ledvin nejčastější a představuje asi 85 – 90%.

Etiologie karcinomu ledviny není známa. Přesto je v literatuře v souvislosti s parenchymovými nádory ledvin opa-

kovaně diskutována řada rizikových faktorů včetně vlivů výživy (2).

Tato práce je zaměřena na posouzení významu některých vybraných rizikových faktorů výživy a jejich možnou úlohu v etiologii tohoto onemocnění.

MATERIÁL A METODY

Cílem studie bylo srovnání významu vybraných rizikových faktorů výživy u nemocných s karcinomem ledvin s údaji o významu těchto rizikových faktorů v literatuře.

Nemocní byli podchyceni v rámci multicentrické studie organizované IARC v Lyonu. Ústav preventivního lékařství LF UP v Olomouci se na této studii podílel výběrem nemocných z Olomouce a z Českých Budějovic včetně kontrolních osob.

Popis souboru:

Soubor tvořilo celkem 635 subjektů, z toho 300 případů karcinomu ledvin a 335 kontrolních osob z Olomouce a Českých Budějovic, které byly vyšetřeny v rámci mezinárodní multicentrické epidemiologické studie případů a kontrol, kde jak případy tak kontroly byly vybírány v nemocničním prostředí (hospital – based). Studie byla provedena pod vedením International Agency for Research on Cancer (IARC) v Lyonu v sedmi centrech: Moskva, Bukurešť, Lodž, Praha, Olomouc, České Budějovice a Brno.

V období od srpna 1999 do ledna 2003 byly vybírány nově diagnostikované a histologicky potvrzené případy karcinomu ledvin (ICD-O-2 kód C64) ve věku od 20 do 79 let. Kontrolní osoby byly vybírány z pacientů stejných nemocnic jako případy. Kontroly musely splňovat podmínku stejného pohlaví, stejného věku (± 5 let) a přibližně stejné geografické lokality. Response rate pro případy byl 98,0% a pro kontroly 99,7%. Charakteristika případů a kontrol je znázorněna na tabulce 1.

Tabulka 1. Charakteristika případů a kontrol ve studii karcinomu ledvin v Olomouci a Českých Budějovicích

	Případy		Kontroly	
	Počet	%	Počet	%
Pohlaví				
muži	184	61,3	220	65,7
ženy	116	38,7	115	34,3
Věk (roky)				
< 49	47	15,7	43	12,9
50-59	95	31,7	113	33,7
≥ 60	158	52,6	179	53,4
BMI (kg/m ²)				
< 25	69	23,0	94	28,0
≥ 25-30	135	45,0	165	49,3
≥ 30	96	32,0	76	22,7
Kuřáci	164	54,7	182	54,3
Nekuřáci	136	45,3	153	45,7

S každým případem i každou kontrolou bylo provedeno interview pomocí standardizovaného dotazníku, při kterém byly získávány informace o demografických charakteristikách, kuřáctví včetně expozice pasivnímu kouření, požívání alkoholu, výživových zvyklostech, osobní, rodinné a pracovní anamnéze včetně výskytu nádorových onemocnění v rodině a výška a váha dotyčného jedince. Údaj o hypertenzi byl považován za pozitivní, pokud se osoba na hypertenzi léčila.

Z oblastí, související s výživovým stavem a výživovými zvyklostmi, obsahoval dotazník následující otázky:

- výška a hmotnost 2 roky před stanovením diagnózy pro výpočet body mass indexu (BMI = kg/m²)
- výživové zvyklosti (frekvence konzumace vybraných potravin) byly podle protokolu IARC hodnoceny do roku 1989 a jeden rok před vznikem nemoci. U většiny osob však v tomto krátkém období nedošlo k výraznějším změnám. Na dotaz „Jaké byly vaše výživové priority do období politické změny v roce 1989?“, znamená:
 - 0 - nikdy
 - 1 - méně než 1 x za měsíc
 - 2 - méně než 1 x za týden
 - 3 - 1-2 x týdně
 - 4 - 3-5 x týdně
 - 5 - každý den

4 - 3-5 x týdně

5 - každý den

Při hodnocení jednotlivých potravinových komponent byly srovnávány kategorie **0 - 2** jako **nízká konzumace** a kategorie **3 - 5** jako **vysoká konzumace**.

Statistické zpracování

Výsledky v rámci studie případů a kontrol byly hodnoceny pomocí hrubého odds ratio (OR) a dále pomocí logistické regrese přizpůsobením k potenciálním proměnným, které by mohly výsledek ovlivňovat (věk, pohlaví, BMI, mléko, jogurt, sýr, červené maso, kuřecí maso, uzeniny). Statistické výpočty byly provedeny v programu STATISTICA a EPI INFO.

VÝSLEDKY

Obezita

Obezita je výrazně spojena s výživou a to jak s celkovým energetickým příjmem, tak i s výživovými zvyklostmi pokud jde o její skladbu.

Bylo provedeno srovnání obézních osob, které vykazovaly BMI ≥ 30 s osobami, které měly normální váhu s BMI < 25 . Hrubé odds ratio (OR) bylo 1,72 (95%CI 1,09-2,72), které ukazuje mírný vliv obezity na vznik karcinomu ledvin. Při samostatném posouzení mužů a žen bylo dosaženo přibližně stejného výsledku, OR u mužů 1,66 (95%CI 0,92-2,98) a u žen 1,76 (95%CI 0,83-3,73), pouze interval spolehlivosti byl pod hranici významnosti (tabulka 2).

Tabulka 2. Vliv nadváhy a obezity na vznik karcinomu ledvin

		Karcinom ledvin		Hrubé OR (95% CI)	p
		ano	ne		
BMI celkem (kg/m ²)	<25	69	94	1+	
	≥25-30	135	165	1,11 (0,74-1,67)	0,5807
	≥30	96	76	1,72* (1,09-2,72)	0,0136
BMI muži (kg/m ²)	<25	43	56	1+	
	≥30	61	47	1,69 (0,94-3,04)	0,0607
BMI ženy (kg/m ²)	<25	26	38	1+	
	≥30	35	29	1,76 (0,83-3,78)	0,1112

1+ základní kategorie

* statistický významný vztah na hladině významnosti 5%

Když bylo provedeno hodnocení vlivu obezity pomocí logistické regrese přizpůsobením k ostatním faktorům, které se na vzniku karcinomu ledvin mohou podílet, bylo zjištěno OR 1,65 (95%CI 1,03-2,63), tedy pozitivní asociace (tabulka 4).

Při srovnání osob s nadváhou s osobami s normální váhou nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl.

Potraviny

Mléko

Bylo provedeno srovnání osob s vysokou a nízkou konzumací mléka (viz metodika).

Hrubé odds ratio (OR) bylo 1,67 (95%CI 1,19-2,33), které ukazuje mírné riziko pití mléka na vznik karcinomu ledvin (tabulka 3).

Když bylo provedeno hodnocení vlivu pití mléka pomocí logistické regrese přizpůsobením k ostatním faktorům, bylo zjištěno OR 1,93 (95%CI 1,35-2,76), pozitivní asociace byla ještě zvýrazněna (tabulka 4).

Jogurt

Bylo provedeno srovnání osob s vysokou a nízkou konzumací jogurtu. Hrubé odds ratio (OR) bylo 0,56 (95% CI: 0,40-0,77), které ukazuje výrazný protektivní účinek konzumace jogurtu na vznik karcinomu ledvin (tabulka 3).

Tabulka 3. Vliv hodnocených potravin na vznik karcinomu ledvin při srovnání osob s vysokou a nízkou konzumací

Potraviny	Frekvence konzumace	Karcinom ledvin		Hrubé OR (95% CI)	p
		ano	ne		
Mléko	vysoká	201	184	1,67*	0,0019
	nízká	99	151	(1,19-2,33)	
Jogurt	vysoká	134	198	0,56*	0,0003
	nízká	166	137	(0,40-0,77)	
Sýr	vysoká	252	264	1,41	0,0940
	nízká	48	71	(0,92-2,16)	
Červené maso	vysoká	278	305	1,24	0,4568
	nízká	22	30	(0,68-2,29)	
Kuřecí maso	vysoká	152	259	0,30*	0,0000
	nízká	148	76	(0,21-0,43)	
Uzeniny	vysoká	268	280	1,65*	0,0354
	nízká	32	55	(1,01-2,69)	

* statistický významný vztah na hladině významnosti 5%

Když bylo provedeno hodnocení vlivu konzumace jogurtu pomocí logistické regrese přizpůsobením k ostatním faktorům, bylo zjištěno OR 0,49 (95%CI 0,33-0,74), protektivní účinek se ještě mírně zvýšil (tabulka 4).

Tabulka 4. Logistická regrese - karcinom ledvin a rizikové faktory

Rizikový faktor	OR	95% CI	p
BMI	<25	1+	
	≥25<30	1,06	0,800
	≥30	1,65*	0,036
Mléko	nízká konzumace	1+	
	vysoká konzumace	1,93*	0,000
Jogurt	nízká konzumace	1+	
	vysoká konzumace	0,49*	0,001
Sýr	nízká konzumace	1+	
	vysoká konzumace	1,94*	0,005
Červené maso	nízká konzumace	1+	
	vysoká konzumace	1,25	0,490
Kuřecí maso	nízká konzumace	1+	
	vysoká konzumace	0,31*	0,000
Uzeniny	nízká konzumace	1+	
	vysoká konzumace	1,48	0,134

1+ základní kategorie

* statistický významný vztah na hladině významnosti 5%

Sýr

Bylo provedeno srovnání osob s vysokou a nízkou konzumací sýrů. Hrubé odds ratio (OR) bylo 1,41 (95% CI: 0,92-2,16), které ukazuje mírné riziko konzumace sýrů na vznik karcinomu ledvin (tabulka 4). Tato závislost je však na hranici statistické významnosti.

Když bylo provedeno hodnocení vlivu konzumace sýrů pomocí logistické regrese přizpůsobením k ostatním faktorům, bylo zjištěno OR 1,94 (95%CI 1,22-3,10), pozitivní asociace byla potvrzena (tabulka 4).

Maso červené

Bylo provedeno srovnání osob s vysokou a nízkou konzumací červeného masa. Hrubé odds ratio (OR) bylo 1,24 (95% CI: 0,68-2,29), které sice ukazuje mírné riziko konzumace červeného masa na vznik karcinomu ledvin (tabulka 4), tato závislost však nebyla statisticky významná.

V logistické regresi (tabulka 4) nebyla také závislost konzumace červeného masa na vznik karcinomu ledvin potvrzena (OR = 1,25; 95% CI: 0,66-2,39).

Maso kuřecí

Bylo provedeno srovnání osob s vysokou a nízkou konzumací kuřecího masa. Hrubé odds ratio (OR) bylo 0,3 (95% CI: 0,21-0,43), které ukazuje výrazný ochranný vliv konzumace kuřecího masa na vznik karcinomu ledvin (tabulka 3).

Když bylo provedeno hodnocení vlivu konzumace kuřecího masa pomocí logistické regrese přizpůsobením k ostatním faktorům, bylo zjištěno OR 0,31 (95%CI 0,21-0,45), protektivní účinek zůstal zachován. (tabulka 4).

Uzeniny

Bylo provedeno srovnání osob s vysokou a nízkou konzumací uzenin. Hrubé odds ratio (OR) bylo 1,65 (95% CI: 1,01-2,69), které ukazuje mírné riziko konzumace uzenin na vznik karcinomu ledvin (tabulka 3).

Tento vztah však v logistické regresi (tabulka 4) nebyl potvrzen (OR = 1,48; 95% CI: 0,86 -2,49).

DISKUSE

V předložené práci jsou zhodnoceny vybrané potravinové komponenty a obezita ve vztahu ke vzniku karcinomu ledvin u osob, které byly vyšetřovány v rámci mezinárodní multicentrické studie.

Obezita může predisponovat ke karcinomu ledvin zvýšením hladin endogenních estrogenů, které indukují vývoj renálního karcinomu u křečků (3). V kancerogenezi se může také uplatnit zvýšení biologické využitelnosti volného insulin-like růstového faktoru (4). Mírné zvýšení rizika vzniku karcinomu ledvin u obézních osob v této studii (OR = 1,65) koresponduje s literárními údaji, kde jak kohortové studie, tak i studie případů a kontrol zjistili zvýšené riziko u obou pohlaví. V některých studiích v USA (5) a Dánsku (6) bylo zjištěno vyšší riziko pro ženy než pro muže, naznačující úlohu rozdílného rozložení tuku a hormonálních hladin. Tato skutečnost v naší studii nebyla potvrzena. V nedávné metaanalýze 11 studií bylo zjištěno, že zvýšení BMI o jednotku je provázáno zvýšením rizika karcinomu ledvin o 6 – 7% (7). Většina studií provedených v Evropě, USA, Austrálii a Číně se shoduje v nálezů asi dvojnásobného zvýšení rizika karcinomu ledvin u obézních mužů i žen ve srovnání s osobami s normální váhou, což odpovídá i výsledku, který byl dosažen v naší studii.

Konzumace mléka a mléčných výrobků patří mezi potraviny, které jsou uváděny v souvislosti s rizikem karcinomu ledvin. U pití mléka bylo zjištěno zvýšené riziko vzniku karcinomu ledvin (OR = 1,93) stejně jako v řadě studií případů a kontrol (8, 9, 10, 11) a jedné kohortové studii (12) uváděných v literatuře. Poslední studie případů a kontrol z Itálie (13) udává riziko konzumace mléka a jogurtu v hodnotě OR = 1,27. V některých studiích však bylo mléko hodnoceno společně s ostatními mléčnými produkty. To moh-

lo vést k podcenění dosaženého výsledku, protože v naší studii bylo zjištěno, že pravidelná konzumace jogurtu, hodnocená samostatně, může naopak snižovat riziko karcinomu ledvin s hodnotou $OR = 0,49$. Také pravidelná konzumace sýrů byla v naší studii spojena se zvýšeným rizikem ($OR = 1,94$).

Pokud se jedná o konzumaci masa a masných výrobků, nebylo v naší studii prokázáno zvýšené riziko pro konzumaci červeného masa, tak jak to uvádějí některé studie v literatuře (5, 9, 14). Některé jiné studie však toto zvýšené riziko nenašly (8, 10, 15). V naší studii rovněž nebylo zjištěno zvýšené riziko pro konzumaci uzenin a některé studie uvádějí dokonce protektivní účinek při $OR = 0,64$ (13). V naší studii byl dále prokázán poměrně významný protektivní účinek při pravidelné konzumaci kuřecího masa na vznik karcinomu ledvin v hodnotě $OR = 0,31$, stejně jako v poslední publikaci z Itálie (13), kde bylo zjištěno $OR = 0,74$.

ZÁVĚR

Z výsledků předložené studie je možno formulovat něko-

lik závěrů k úloze některých výživových faktorů ve vztahu ke vzniku karcinomu ledvin:

- byl potvrzen vliv obezity jako rizikového faktoru v souladu s většinou studií uváděných v literatuře;
- byl potvrzen vliv pravidelného pití mléka a konzumace sýrů jako rizikového faktoru také v souladu s řadou studií, uváděných v literatuře;
- byla zjištěna inverzní asociace při vysoké konzumaci jogurtu, což zatím v dostupné literatuře nebylo uvedeno;
- byla zjištěna inverzní asociace při vysoké konzumaci kuřecího masa v souladu s nálezy nedávné studie v Itálii.

Celkově je možno uzavřít, že v současné době, kdy je o etiologii karcinomu ledvin a o jeho rizikových faktorech relativně málo známo, představují některé výživové komponenty spolu s obezitou významné faktory, které se mohou podílet jak na zvýšení tak i na snížení rizika vzniku tohoto onemocnění.

Práce byla podpořena grantem č. IARC ECE/99/26.

Literatura

1. Masarykův onkologický ústav Brno, Epidemiologie zhoubných nádorů v České republice [Online]; URL: <http://www.svod.cz/>
2. Janout V, Janoutová G. Epidemiology and risk factors of kidney cancer. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub 2004, 148:95-101.
3. Liehr JG. Hormone – associated cancer: mechanistic similarities between human breast cancer and estrogen = induced kidney carcinogenesis in hamsters. Environ Health Perspect 1997, 105:565-569.
4. Muscat JE. The epidemiology of renal cell cancer. In Bukowski RM, Nocick AC editors: Renal cell carcinoma. Totowa (NJ): Human Press, 2000, p. 3-14.
5. McLaughlin JK, Mandel JS, Blot WJ et al. A population-based case-control study of renal cell carcinoma. J Natl Cancer Inst 1984, 72:275-284.
6. Møller A, Engholm G, McLaughlin JK, Olsen JH. Risk factors for renal-cell carcinoma in Denmark III. Role of weight, physical activity and reproductive factors. Int J Cancer 1994, 56:66-71.
7. Bergstrom A, Pisani P, Tenet V, et al. Overweight as an avoidable cause of cancer in Europe. Int J Cancer. 2001, 91:421-430.

8. McCredie M, Ford JM, Stewart JH. Risk factors for cancer of the renal parenchyma. Int J Cancer 1988, 42:13-16.
9. Maclure M, Willett W. A case-control study of diet and risk of renal adenocarcinoma. Epidemiology 1990, 1:430-440.
10. Talamini R, Baron AE, Barra S, et al. A case-control study of risk factor for renal cell cancer in northern Italy. Cancer Causes Control 1990, 1:125-131.
11. Kreiger N, Marrett LD, Dodds L, et al. Risk factors for renal cell carcinoma: results of a population-based case-control study. Cancer Causes Control 1993, 4:101-10.
12. Hirayama T. Life-style and mortality. Basel: Karger, 1990.
13. Bravi F, Bosetti C, Scotti L, et al. Food groups and renal cell carcinoma: A case-control study from Italy. Int J Cancer 2006, Oct 20; (Epub ahead of print).
14. McLaughlin JK, Gao YT, Gao RN, et al. Risk factors for renal-cell cancer in Shanghai, China. Int J Cancer 1992, 52:562-565.
15. Yu MC, Mack TM, Hanisch R, et al. Cigarette smoking, obesity, diuretic use, and coffee consumption as risk factors for renal cell carcinoma. J Natl Cancer Inst 1986, 77:351-356.

Korespondenční adresa:

Ing. Gabriela Janoutová, Ph.D.
Ústav preventivního lékařství LF UP v Olomouci
Hněvotínská 3
775 15 Olomouc
Tel.: 585 632 655, fax: 585 632 668
E-mail: janoutov@tunw.upol.cz

Došlo: 30. 11. 2006
Přijato: 6. 2. 2007

VYUŽITÍ TUMOR INFILTRUJÍCÍCH LYMFOCYTŮ U PACIENTŮ S METASTAZUJÍCÍM MELANOMEM

TUMOR INFILTRATING LYMPHOCYTES IN PATIENTS WITH METASTATIC MELANOMA

MICHÁLEK J.¹, MATĚJKOVÁ E.¹, SMEJKALOVÁ J.¹, VIDLÁKOVÁ P.¹, STEJSKALOVÁ A.¹, HANÁK L.², KOCÁK I.², FAIT V.²

¹ CENTRUM BUNĚČNÉ IMUNOTERAPIE, MASARYKOVA UNIVERZITA, BRNO;

² KLINIKA KOMPLEXNÍ ONKOLOGICKÉ PÉČE, MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV, BRNO.

Souhrn

Východiska: Tumor infiltrující lymfocyty jsou buňky imunitního systému hostitele přítomné v nádorové tkáni. U pacientů s metastazujícím melanomem mají tyto buňky prokazatelný protinádorový efekt. **Typ studie a soubor:** Cílem této prospektivní studie bylo ověřit postup in vitro přípravy tumor infiltrujících lymfocytů. **Metody a výsledky:** Sedm pacientů s metastazujícím melanomem podstoupilo odběr nádorové tkáně, ze které byly kultivovány tumor infiltrující lymfocyty za přítomnosti vysokých dávek interleukinu 2. Během 6-8 týdnů došlo k více než tisícinásobné expanzi tumor infiltrujících lymfocytů z nádorem infiltrovaných lymfatických uzlin. Tyto lymfocyty si uchovávají specifickou cytotoxicitu vůči autologním nádorovým buňkám a jsou geneticky stabilní. Jejich konečné množství (více než 109 buněk) umožňuje klinické podání s cílem buněčné imunoterapie pacientů s metastazujícím melanomem. Pokud byly tumor infiltrující lymfocyty kultivovány z primárního nádorového ložiska, k jejich expanzi nedošlo. **Závěry:** Expanze tumor infiltrujících lymfocytů na hodnoty použitelné v klinické praxi je reálná z lymfatických uzlin postižených metastázami maligního melanomu.

Klíčová slova: metastazující melanom, tumor infiltrující lymfocyty, imunoterapie.

Summary

Backgrounds: Tumor infiltrating lymphocytes are cells of the host immune system present in the tumor tissue. It has been demonstrated that they show an anti-tumor effect in patients with metastatic melanoma. **Design and Subjects:** The aim of this prospective study was to verify the in vitro preparation procedure of tumor infiltrating lymphocytes. **Methods and Results:** Seven patients with metastatic melanoma underwent tumor tissue biopsy. The tissue biopsy served for the expansion of tumor infiltrating lymphocytes in vitro in the presence of high dose of interleukin 2. During a 6 - 8 week period more than a 1000-fold expansion of tumor infiltrating lymphocytes from tumor-infiltrated lymph nodes has been recorded. Expanded lymphocytes are genetically stable and preserve their specific cytotoxicity to autologous tumor. They were expanded to more than 109 T cells. Such an amount of T cells can have a significant clinical effect when applied as cell immunotherapy. In case of primary tumor tissue culture, no expansion of tumor infiltrating lymphocytes has been observed. **Conclusions:** Expansion of tumor infiltrating lymphocytes to a clinical scale is feasible under sterile conditions from lymph nodes infiltrated with tumor cells from patients with metastatic melanoma.

Key words: metastatic melanoma, tumor-infiltrating lymphocytes, immunotherapy.

Úvod

Maligní melanom ve fázi generalizovaných metastáz je považován za jedno z nejhůře ovlivnitelných nádorových onemocnění. V případě chirurgicky neřešitelné generalizace melanomu není v současných možnostech onkologické léčby dosáhnout kurativního efektu léčby (1). Onemocnění je považováno za chemorezistentní i radiorezistentní. Paliativní chemoterapií můžeme dosáhnout pouze dočasné redukce rozsahu onemocnění s úlevou od symptomů onemocnění. Proto jsou hledány nové postupy, které by umožnily ovlivnit nepříznivý průběh tohoto onemocnění.

Současná léčebná strategie

Mezi léčivé přípravky používané u metastazujícího melanomu (MM) patří dakarbazin, platinová analoga, deriváty nitrosourey, vinka alkaloidy a taxany (1,2). Nejdéle používaným cytostatikem a zlatým standardem je dakarbazin. Dosahuje

asi 14%-20% celkových odpovědí, medián trvání odpovědi je 4-6 měsíců avšak dlouhodobé přežití je velmi nízké, u monoterapie dakarbazinem je šestileté přežití menší než 2% (1,2). Ve snaze zlepšit tyto výsledky byly navrženy kombinace cytostatik. Mezi nejčastěji používané patří kombinace CVD (cisplatina, vinblastin, dakarbazin) dle Leghy a čtyřkombinace DBD/T (dakarbazin, karmustin, cisplatina) + tamoxifen, tzv. Dartmouthův režim (1). CVD kombinace dosahuje až 40% celkových odpovědí se 4% kompletní remisí, medián trvání odpovědi je 9 měsíců. DBD/T dosahuje až 46% celkových odpovědí, medián trvání odpovědi je méně než 7 měsíců. Předpoklad vyšší odpovědi trojkombinované chemoterapie proti monoterapii dakarbazinem však nebyl jednoznačně v randomizované studii potvrzen (2). Relativně dobrých výsledků bylo dosaženo s využitím imunoterapie. Interferon alfa (INF α) v monoterapii má odpověď 15% a dosahuje ve 3%-5% kompletní remisi u pokročilého

onemocnění. Interleukin 2 (IL-2) dosahuje 15-20% celkových odpovědí. Klinicky nejvýznamnějším faktem je, že u 5-7% pacientů bylo dosaženo léčbou s IL-2 dlouhodobé remise a sedmileté přežití bylo 10% (3). IL-2 a INF γ se staly součástí kombinovaných chemo-imunoterapeutických režimů (4). Stanovení role chemioimunoterapie v léčbě metastazujícího melanomu je úkolem probíhajících klinických studií II. a III. fáze.

Role adoptivní imunoterapie u melanomu s využitím tumor infiltrujících lymfocytů

Melanom je považován za imunogenní nádor (1,5). Stav imunitního systému je intenzivně studován u pacientů s MM po několik desetiletí a v posledních 5 letech se objevují klinické studie využívající adoptivní imunoterapie (5,6). Adoptivní buněčná imunoterapie je definována jako převod buněk imunitního systému s protinádorovou aktivitou, např. tumor-infiltrujících lymfocytů (TIL), pacientovi s cílem dosáhnout léčebné odpovědi. Vědecké zdůvodnění takového postupu se opírá o fakt, že melanomy jsou velmi často infiltrovány cytotoxickými (Tc) nebo pomocnými (Th) lymfocyty, které mají schopnost cíleně rozpoznat nádorově specifické antigeny a eliminovat nádorové buňky. Množství podaných TIL hraje zřejmě kritickou roli při eliminaci nádorových buněk, což bylo dobře zdokumentováno na myších modelech i prvních klinických studiích (5,6). U myších modelů byl protinádorový efekt závislý na podané dávce TIL (1). TIL získané z nádorem infiltrovaných uzlin, rozpoznávají nádorově-specifické antigeny, mohou být expandovány in vitro v prostředí s vysokou dávkou (1000IU/ml) IL-2 a po expanzi vykazují vysoký stupeň specifické cytotoxicity vůči syngennímu nádoru (1,6). Nejlepších výsledků bylo dosahováno tehdy, když TIL byly podány současně s nádorovými buňkami imunokompromitovaným myším (1). Další studie ukázaly, že samotné podání TIL myším s MM nevede k podstatnému terapeutickému efektu. Kombinací podání TIL s chemoterapií cyklofosfamidem a následné podávání IL-2 bylo ve stejném modelu dosaženo synergistického efektu a vedlo k vymizení jaterních a plicních metastáz (1,6,14). Další pokusy na myších modelech vedly ke zmapování pohybu adoptivně podaných TIL myším s lidským nádorem. TIL značené radioaktivním izotopem indium 111 podané intravenózně se převážně koncentrují ve tkáni nádoru. TIL byly rovněž nalezeny v játrech, plicích, ledvinách a slezině, což dokazuje schopnost migrace a přestupu TIL do tkání (14). Tyto studie dokladovaly přímý biologický efekt TIL, jejich schopnost vycestovat z krevního řečiště zejména do ložisek nádorové tkáně a staly se tak důležitým milníkem při testování TIL v klinických studiích.

Lidské TIL byly nejprve kultivovány in vitro, byla studována možnost jejich expanze a uchování specifické protinádorové aktivity. Přibližně u 50% pacientů s melanomem byl prokázán specifický cytotoxický potenciál in vitro expandovaných TIL (14). V rozsáhlé Rosenbergově studii bylo kultivováno 206 biopsií melanomu za účelem expanze TIL v prostředí s vysokým obsahem IL-2 (1000IU/ml). V případě 124 kultur (60%) byla expanze TIL vyšší než 1010 v průběhu 45 dnů, u 89 kultur bylo dokonce dosaženo více než 1011 TIL (14). Cytotoxické testy ukázaly, že v případě testovaných 115 TIL kultur došlo u 43 kultur ke specifické lýze autologních nádorových buněk (14). Následně bylo přistoupeno k prvním klinickým aplikacím expandovaných TIL. U pacientů s MM byla zaznamenána klinická odpověď u 35-50% pacientů po podání TIL v kombinaci s IL-2. Zdá se, že není nutno podávat vysoké

ké dávky IL-2 pro zlepšení dlouhodobého přežití TIL in vivo, ale že podobného efektu lze dosáhnout i malými dávkami IL-2 (500-1000IU) podávaného subkutánně. Jsou tak minimalizovány vedlejší účinky vyplývající z intravenózního podání IL-2 ve vysokých dávkách, navíc nízká dávka je dostatečná k udržení vitálních TIL i po několik týdnů po jejich infúzi (7-9). Přitom expanze TIL na hodnoty s prokazatelným klinickým efektem (10^{10}) netrvá zpravidla déle než 2 měsíce (7-9), expandované TIL si uchovávají vysoký stupeň specifické protinádorové aktivity a nebyly popsány žádné genetické změny v souvislosti s jejich expanzí (7-9,14).

Adoptivní buněčná imunoterapie pomocí TIL vedla ke klinické parciální odpovědi trvající 6-22 měsíců u 6 ze 13 sledovaných pacientů a ke smíšené odpovědi u dalších 4 ze 13 sledovaných pacientů (7). V další studii bylo prokázáno, že tumor-specifické T lymfocyty se přednostně kumulují v nádorové tkáni a perzistují v periferní krvi několik týdnů (8). I přes tyto úspěchy adoptivního transferu T lymfocytů existují četné překážky, které brání likvidaci nádorových buněk in vivo. Je to především snížená exprese tumor-specifického antigenu nádorovou buňkou, produkce tzv. receptorů smrti vedoucích k apoptóze lymfocytů, produkce imunosupresivních cytokinů a nedostatečná kostimulace antigen-prezentujícími buňkami (9). Ukazuje se také, že imunitní systém pacientů s nádorovým onemocněním není schopen dostatečně dobře rozpoznat nádorové buňky a tudíž není schopen je účinně likvidovat. V posledních 5 letech je velká pozornost věnována imunoregulačním T lymfocytům (CD4+CD25+), které mohou být zodpovědné za navození stavu anergie – hyporeaktivity vlastního imunitního systému vůči nádorovým buňkám (10). Stav anergie lze do určité míry zvrátit použitím vysokodávkované chemoterapie, která vede k přechodné imunoablacii, tedy dočasnému poklesu počtu lymfocytů v periferní krvi. Tento postup však rovněž zvyšuje riziko myelotoxicity a přispívá ke zvýšení morbidity a mortality. Z tohoto důvodu se hledají cesty, jak zmírnit myelotoxicitu a přitom zachovat imunoablativní účinek, který eliminuje populaci imunoregulačních lymfocytů. Jedním z možných přístupů je využití analogů purinových nukleosidů (11), např. fludarabinu. Fludarabin je používán k léčbě chronické lymfatické leukémie, je součástí nemeloablativních transplantačních režimů a nově se používá u autoimunitních onemocnění pro potlačení autoreaktivních T lymfocytů (12). Vzhledem k širokému použití fludarabinu existuje dostatečná klinická zkušenost s jeho aplikací, zejména je využívána jeho schopnost imunoablace s minimální myelotoxicitou ve srovnání s jinými cytostatiky (11,12).

Cílem této studie byla optimalizace přípravy TIL in vitro pro klinické použití u pacientů s metastatickým melanomem. Byla také testována kvalita TIL včetně testů cytotoxicity vůči autologním nádorovým buňkám, testů sterility a genetické stability. V tomto sdělení se zabýváme veškerými aspekty přípravy TIL v podmínkách správné laboratorní praxe.

Soubor nemocných a metody

Pro preklinické testování bylo zařazeno 7 pacientů s metastazujícím melanomem (MM) a 5 zdravých dárců ve věku 24-68 let. Všichni jedinci, kteří se účastnili této preklinické studie podepsali Informovaný souhlas schválený Etickou komisí Masarykova onkologického ústavu.

Vstupní zpracování materiálu

Odběr nádorové tkáně pacientů s MM pro účel této studie byl součástí rutinní biopsie pro histopatologické hodnocení. Tkáň

nádorové uzliny či primárního nádorového ložiska byla nastříhána na kousky o velikosti menší než 2mm nůžkami či skalpelem a resuspendována v kultivačním médiu. Pacientům byl rovněž odebrán vzorek periferní krve na cytogenetické vyšetření. V případě zdravých dárců byla odebrána periferní krev pro získání mononukleárních buněk (MNB) bohatých na T lymfocyty metodou gradientové centrifugace (15).

Expanze TIL

Buňky nádorové tkáně byly kultivovány v inkubátoru při 37°C a 5% atmosféře CO₂ po dobu 5-8 týdnů v kompletním kultivačním médiu obsahujícím X-VIVO 15 (Bio Whittaker Europe) a 5% autologního nebo lidského AB séra (Sigma-Aldrich). Expanze T lymfocytů probíhala za iniciálního přidavku 10 µg/ml fytohemaglutininu (Sigma-Aldrich) a pravidelného přísunu 1000 IU/ml IL-2 (Chiron) 3x týdně. Buněčnost a vitality byla sledována obden a byla udržována v rozmezí 0,5–3x10⁶ vitálních buněk na mililitr kompletního média. Každé dva týdny byla provedena výměna média. Po první výměně byly přidávány 1x týdně alogenní ozářené mononukleární buňky zdravého dárce jako tzv. "feeder cells" v poměru 1:1 ke kultivovaným lymfocytům. Posledních 7 dní kultivace byly buňky ponechány bez jakékoliv další manipulace. Expandované lymfocyty byly po dosažení množství 1010 vitálních buněk nebo po dovršení 8 týdnů kultivace podrobně vyšetřeny. Sledované parametry zahrnovaly počet buněk, vitalitu buněk, zastoupení T lymfocytů pomocí průtokové cytometrie (fluorescenčně značenými monoklonálními protilátkami proti CD3, CD4, CD8, CD25, CD16, CD56), vyšetření na přítomnost endotoxinu, mikrobiologické kultivační vyšetření na přítomnost bakteriální kontaminace, mikrobiologické PCR vyšetření na specifický průkaz *Mycoplasma* sp., viru hepatitidy B a C, parvoviru B19, viru lidské imunodeficiency HIV a mykobakterií. U expandovaných lymfocytů posledních 3 pacientů bylo rovněž provedeno cytogenetické vyšetření karyotypu na průkaz genetické stability. Expandované lymfocyty byly řízeně zamrazeny ve směsi DMSO (Wak-Chemie Medical) + autologní sérum či lidské AB sérum v poměru 1:9.

Expanze nádorově-specifických MNB

K simulaci protinádorových klonů T lymfocytů byly použity MNB pěti zdravých dárců. MNB byly nejprve stimulovány ozářenou nádorovou linií ARH 77 mnohočetného myelomu. Nádorově reaktivní T lymfocyty zdravých dárců byly imunomagneticky separovány na základě produkce interferonu gama (15) (Miltenyi Biotec). Takto separované aktivované nádorově reaktivní T lymfocyty sloužily jako model pro studium rychlé expanze T lymfocytů. Expanze probíhala za stejných podmínek jako expanze TIL, pouze celková doba expanze činila 4 týdny.

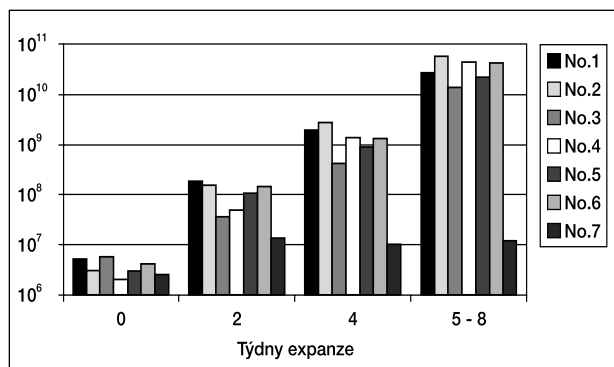
Výsledky:

Nejprve byly prospektivně validovány MNB pěti zdravých dárců. Byla testována možnost rychlé expanze nádorově reaktivních, interferon gama produkujících T lymfocytů získaných opakovanou stimulací myelomovou linií ARH 77, jak jsme popsali dříve (15). Úvodní počet interferon gama pozitivních T buněk činil 0,56_0,13x10⁶. Po čtyřtýdenní expanzi in vitro za přítomnosti fytohemaglutininu, IL-2 a „feeder cells“ bylo dosaženo počtu 214,0 x10⁶±103,4x10⁶ buněk. Expandované T lymfocyty byly zastoupeny po expanzi z 99,5±0,8% a vykazovaly speci-

fickou cytotoxicitu vůči původní nádorové lince ARH 77. Na základě těchto pilotních experimentů, které ukázaly možnost rychlé expanze protinádorových T lymfocytů bylo přistoupeno k expanzi TIL u sedmi pacientů s metastazujícím melanomem. V šesti případech se jednalo o lymfatickou uzlinu postiženou nádorovým procesem a v jednom případě se jednalo o primární ložisko kožního melanomu. Přítomnost nádorových buněk v kultivované tkáni byla potvrzena histopatologicky bezprostředně po chirurgickém zákroku. V případě šesti nádorem infiltrovaných uzlin byla expanze TIL zahajována s počtem buněk 2,9x10⁶-15,8x10⁶ (medián 5,3x10⁶). Po 5-8 týdenní in vitro kultivaci podle postupů navržených v této studii došlo k nárůstu na 2,2–5,6x10¹⁰ buněk. Průběh expanze TIL je znázorněn na Obr. 1. Zcela odlišný byl průběh kultivace lymfocytů z primárního ložiska nádoru. Zde nedošlo prakticky k žádné expanzi, pouze k minimálnímu nárůstu z 2,2x10⁶ na 12,1x10⁶ buněk po 8-týdenní kultivaci.

Obr. 1: Expanze TIL v průběhu kultivace

In vitro expanze TIL z nádorem infiltrovaných lymfatických uzlin (No. 1-6.) a z primárního kožního ložiska (No.7).



Ve všech sedmi případech bylo prováděno vyšetření sterility TIL po ukončení expanze. V šesti případech nedošlo k žádné mikrobiální kontaminaci. U jednoho přípravku TIL došlo k mikrobiální kontaminaci v posledním týdnu kultivace a tento přípravek byl určen k likvidaci. Endotoxinový test prováděný na konci kultivace nepřekročil stanovené limity ani v jednom případě. Vyšetřením metodou patogen-specifické PCR nebyla prokázána přítomnost mykoplasmat, viru hepatitidy B a C, parvoviru B19, viru lidské imunodeficiency HIV a mykobakterií na počátku ani po skončení in vitro expanze TIL. Pro průkaz genetické stability bylo srovnáváno cytogenetické vyšetření periferní krve pacientů s vyšetřením expandovaných TIL. Vyšetření prokázalo normální karyotyp bez chromozomálních aberací u všech vyšetřených pacientů jak v periferní krvi, tak v expandovaných TIL.

Diskuse:

Účinnost adoptivního převodu T lymfocytů při léčbě nádorových onemocnění byla prokázána experimentálně u laboratorních zvířat (1) a v současné době také u pacientů s metastatickým melanomem (2-4). Tumor infiltrující lymfocyty (TIL) nebo lymfocyty aktivované melanom-specifickým antigenem byly úspěšně aplikovány pacientům s metastatickým melanomem. Tito pacienti byli předloženi a progredovali na léčbě chemoterapií nebo chemoimunoterapií (chemoterapie + interleukin 2 nebo interferon alfa). Adoptivní buněčná imunoterapie pomocí TIL vedla k parciální klinic-

ké odpovědi trvající 6-22 měsíců u 6 ze 13 sledovaných pacientů a ke smíšené odpovědi u dalších 4 ze 13 sledovaných pacientů (3). V další studii bylo prokázáno, že tumor-specifické T lymfocyty se přednostně kumulují v nádorové tkáni a perzistují v periferní krvi několik týdnů (4).

Cílem prezentované preklinické studie byla především optimalizace přípravy dostatečného množství TIL ke klinickému použití v podmínkách správné výrobní praxe. V naší studii jsme byli schopni expandovat TIL z nádorem infiltrovaných uzlin více než 10000-násobně, přitom expandované TIL si uchovávají protinádorový potenciál a zůstávají geneticky stabilní. Sterilita biologického přípravku byla monitorována v průběhu celého procesu expanze, v jediném případě, kdy došlo ke kontaminaci na konci kultivace, byl přípravek TIL zlikvidován. Ostatní kultivace TIL probíhaly sterilně a nedošlo k jejich kontaminaci. Z pohledu získávání vhodného biologického materiálu jsme testovali kromě nádorem infiltrovaných uzlin také primární kožní ložisko melanomu. Ověřili jsme, že kultivace primárního ložiska, které je často výrazně fibrotické, nevede k žádoucí expanzi TIL.

Z pohledu plánované klinické studie je třeba rovněž zvážit výhody přípravku TIL a jeho rizika. TIL jsou buňky těla vlastní a jejich podání dosud nepředstavovalo žádné riziko

pro pacienta s MM. Dosud byly popsány autoimunitní reakce ve smyslu vzniku vitiliga, zřejmě vzhledem k rozpoznání melanocytárních antigenů buňkami TIL (3,4). Jiné závažné vedlejší účinky nebyly pozorovány (2-5). Hlavním předpokládaným přínosem je tedy specifický protinádorový účinek expandovaných autologních TIL s celkovou minimální toxicitou a bezpečností podání ve srovnání s jinými zavedenými postupy založenými na chemoterapii nebo kombinované chemoimunoterapii s IL-2 a interferonem alfa, která často dosahuje vysokého stupně toxicity. Lze předpokládat na základě dosavadních studií (1-3), že léčba přípravkem TIL bude přinejmenším stejně účinná nebo účinnější ve srovnání se standardním léčebným postupem a současně kvalita života léčených pacientů bude vyšší.

Závěr

Kultivace TIL in vitro je možná v podmínkách správné výrobní praxe. V průběhu 5-8 týdnů lze z lymfatických uzlin infiltrovaných nádorovými buňkami připravit více než 1010 TIL pro klinické použití u pacientů s metastázujícím melanomem.

Poděkování

Tato práce byla podpořena grantem GAČR 301/04/1389.

Literatura

- Greenberg PD. Adoptive T cell therapy of tumors: mechanisms operative in the recognition and elimination of tumor cells. *Adv Immunol* 1991, 49: 281-9.
- Rosenberg SA. Progress in human tumor immunology and immunotherapy. *Nature* 2001, 411: 380-6.
- Dudley ME, et al. Cancer regression and autoimmunity in patients after clonal repopulation with antitumor lymphocytes. *Science* 2002, 298: 850-4.
- Meidenbauer A, et al. Survival and tumor localization of antibody transferred melan-A-specific T cells in melanoma patients. *J Immunol* 2003, 170: 2161-9.
- Michálek J., Svoboda M.: Buněčná imunoterapie nádorů. *Klinická onkologie*, 2003, 16: 145-148.
- Bach JF. Regulatory T cells under scrutiny. *Nature Rev Immunol* 2003, 3: 189-98.
- Dighiero G. Adverse and beneficial immunological effects of purine nucleoside analogues. *Hematol Cell Ther* 1996, 38, Suppl 2: S75-81.
- Takada K, et al. Lymphocyte depletion with fludarabine in patients with psoriatic arthritis: clinical and immunological effects. *Ann Rheum Dis* 2003, 62: 1112-5.
- Yee C, et al. Adoptive T cell therapy using antigen-specific CD8+ T cell clones for the treatment of patients with metastatic melanoma: in vivo persistence, migration, and antitumor effect of transferred T cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002, 99: 16168-73.
- Dreno B, et al. Randomized trial of adoptive transfer of melanoma tumor-infiltrating lymphocytes as adjuvant therapy for stage III melanoma. *Cancer Immunol Immunother* 2002, 51: 539-46.
- NCI CTC verze 2.0, www.eortc.be/services
- Therasse P, et al. Response evaluation criteria in solid tumors. *J Natl Cancer Inst* 2000, 92: 205-17.
- DeVita VT, et al. *Cancer: Principles and practice of oncology*, 6th ed. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia 2001: 2003-69.
- Kirkwood JM, Agarwala S. Systemic cytotoxic and biologic therapy of melanoma. *PPO Updates* 1993, 7: 1-28.
- Ocadlikova D, et al. Isolation and expansion of allogeneic myeloma-specific interferon-gamma producing T cells for adoptive immunotherapy. *Med Oncol* 2006, 23: 377-84.
- Legha SS, et al. Evaluation of interleukin-2 administered by continuous infusion in patients with metastatic melanoma. *Cancer* 1996, 77: 89-95.
- Sparano JA, et al. Randomised phase III trial of treatment with high-dose interleukin-2 either alone or in combination with interferon-alfa-2a in patients with advanced melanoma. *J Clin Oncol* 1993, 11: 1969-76.
- Rosenberg SA. *Principles and practice of the biologic therapy of cancer*. 3rd ed. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia 2000: 303-36.

Korespondenční adresa:

Doc. MUDr. Jaroslav Michálek, Ph.D.
Centrum buněčné imunoterapie
Integrované laboratoře biomedicínských technologií, MU
Kamenice 5, Brno 62500
Tel.: 549-495-051
E-mail: jmichalek@fnbrno.cz

Došlo: 30. 11. 2006
Přijato: 15. 2. 2007

PRIMÁRNÍ TESTIKULÁRNÍ LYMFOM: KLINICKOPATOLOGICKÁ MULTICENTRICKÁ RETROSPEKTIVNÍ STUDIE A DATA REGISTRU KOOPERATIVNÍ LYMFOMOVÉ SKUPINY (KLS)

PRIMARY TESTICULAR LYMPHOMA: A CLINICOPATHOLOGIC MULTICENTRIC STUDY AND DATA FROM REGISTRY OF THE CZECH LYMPHOMA STUDY GROUP (CLSG)

VÁŠOVÁ I.¹, BOUDOVÁ L.², TRNĚNÝ M.³, PIRNOS J.⁴, BELADA D.⁵, JANKOVSKÁ M.⁶, MINAŘÍKOVÁ D.⁷, FAKAN F.², FABIÁN P.⁷, HES O.², ČERNÁ K.⁸, ČUŘÍK R.⁹, CAMPR V.¹⁰, HAMOUZOVÁ M.¹¹

¹ INTERNÍ HEMATO-ONKOLOGICKÁ KLINIKA, FN BRNO BOHUNICE

² PATOLOGICKO-ANATOMICKÝ ÚSTAV FN PLZEŇ

³ I. INTERNÍ KLINIKA VFN A I. LF UK PRAHA

⁴ ONKOLOGICKÉ ODDĚLENÍ, NEMOCNICE ČESKÉ BUDĚJOVICE

⁵ II. INTERNÍ KLINIKA-ODDĚLENÍ KLINICKÉ HEMATOLOGIE, FN HRADEC KRÁLOVÉ

⁶ ODDĚLENÍ KLINICKÉ HEMATOLOGIE, FNKV PRAHA

⁷ MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV, BRNO

⁸ HEMATOONKOLOGICKÉ ODDĚLENÍ FN PLZEŇ

⁹ PATOLOGICKO-ANATOMICKÝ ÚSTAV FN OSTRAVA

¹⁰ PATOLOGICKO-ANATOMICKÝ ÚSTAV FN MOTOL

¹¹ DATA CENTRUM KLS

Souhrn

Východiska: Primární testikulární lymfom (TL) je vzácné onemocnění vyskytující se převážně ve vyšší věkové skupině. Vzácný výskyt vede poměrně často k diagnostickým a terapeutickým pochybnostem. **Metody:** Retrospektivně jsme hodnotili soubor 33 nemocných z registru KLS z hlediska histologického a klinického a dalších 31 případů zhodnocených histology v rámci rutinní nebo konzultační praxe. **Výsledky:** Histologicky jde převážně o difúzní velkobuněčný B lymfom (DLBCL) (91%). Nejčastěji byla diagnóza zachycena v klinickém stadiu I E A (60%), ve 2 případech bylo diagnostikováno současné postižení CNS. Léčba spočívala ve všech případech v orchiektomii, 27 (82%) nemocných bylo dále léčeno systémovou chemoterapií. Profylaxe CNS byla použita celkem u 13 (48%) nemocných. Profylaktické ozáření skrota absolvovalo 7 nemocných. Při mediánu sledování 26 měsíců je celkové přežití ve 2 letech 82% a 2leté přežití bez progresu 74%. K relapsu došlo u osmi z 33 nemocných, z toho u dvou, kteří nebyli po orchiektomii dále léčeni. **Závěry:** Primární TL je v typickém případě DLBCL postihující starší muže a většinou je diagnostikován v klinickém stadiu I bez systémových příznaků. Prognóza nemocných není však tak dobrá, jak je tomu u odpovídající rizikové skupiny nodálního lymfomu. Vyskytují se i pozdní, často extranodální relapsy nemoci a to zejména u nemocných nedostatečně léčených v úvodu.

Klíčová slova: primární testikulární lymfom, chemoterapie, profylaxe CNS.

Summary

Background: Primary testicular lymphoma (TL) is a rare disease diagnosed mostly in men older than 60 years. The sporadic occurrence of TL leads relatively often to doubts in both the diagnostics and the therapeutic approach. **Methods:** We retrospectively analyzed a sample of 33 patients from the Czech Lymphoma Study Group registry to assess the pathohistological and clinical characteristics in these cases. Another 31 cases were identified in the routine and consultation histology files. **Results:** Histological diagnosis was predominantly (91%) diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL). The most frequent clinical stage was I E A (60%), while 2 patients had initial CNS involvement. Treatment consisted in all cases of radical orchiectomy followed by chemotherapy in a majority of cases (82%). CNS prophylaxis was used in 13 patients (48%). Prophylactic irradiation of the contralateral testis was performed in 7 cases. The 2-year overall survival and progression-free survival reached 82% and 74%, respectively, in a median follow-up of 26 months. Eight of 33 patients have relapsed, 2 of them with no adjuvant treatment after orchiectomy. **Conclusions:** Primary TL is typically a diffuse large B-cell lymphoma occurring in old men, most of them presenting in stage I without systemic symptoms. The outcome of the TL patients appears to be worse than the results reported for nodal lymphomas. The late relapses, often extranodal, occur particularly in patients with inadequate initial treatment.

Key words: primary testicular lymphoma, chemotherapy, CNS prophylaxis.

Úvod:

Primární testikulární lymfom je vzácné onemocnění tvořící pouze 1-2% všech non-hodgkinských lymfomů (NHL) a 1-8 % všech nádorů varlat. Na rozdíl od germinálních nádorů, primární TL postihují především pacienty starší 60 let. U věkové skupiny nad 50 let jsou extranodální lymfomy nejčastějším nádorem varlat, zatímco u pacientů pod 30 let tvoří pouze 3% (1-3). Histologicky nacházíme u pacientů s TL především difúzní velkobuněčný B-lymfom, a to ve více než 90 % případů. Výjimečně jsou referovány i jiné subtypy NHL. Patrná je tendence k postižení druhotného varlete, kůže, centrálního nervového systému i jiných extranodálních lokalizací (1,2,4-9). Známým rizikovým faktorem pro TL je zejména imunodeficit. Vzárostající incidence je pozorována u pacientů s AIDS. Lymfom může postihnout varlata i sekundárně v rámci diseminace primární nodálního onemocnění, což je charakteristické zejména pro vysoce agresivní Burkittův nebo lymfoblastický lymfom. Vzácný výskyt tohoto nádoru vede poměrně často k diagnostickým a terapeutickým pochybnostem. Optimální léčebnou strategii je obtížné stanovit, protože chybí prospektivní studie a většina publikovaných retrospektivních studií se týká malého počtu nemocných (10).

Ve sdělení předkládáme klinickopatologickou analýzu 33 nemocných z registru Kooperativní lymfomové skupiny a 31 případů zhodnocených zvlášť pathology na 3 histologických pracovištích v České republice.

Materiál a metody:

Registru Kooperativní lymfomové skupiny shromažďuje údaje o nemocných s NHL léčených v 15 centrech od počátku roku 1999 dosud. Organizace práce registru byla popsána jinde (11). Pro potřeby této analýzy byly zpracovány údaje nemocných z registru KLS z let 1999 – 2005. Za toto období bylo zaregistrováno a analyzováno 33 nemocných s primárním TL, který byl definován jako klinicky dominantní testikulární postižení, což dovoluje zařazení nemocných i s pokročilejšími stadii nemoci. Navíc jsme analyzovali soubor dalších 31 případů zhodnocených histology v rámci rutinních i konzultačních hodnocení histologií na třech pracovištích v ČR (Šiklův patologicko-anatomický ústav FN Plzeň, Patologicko-anatomický ústav FN Brno-Bohunice, Patologicko-anatomický ústav FN Ostrava-Poruba.). Z těchto 64 případů byly s výjimkou 3 všechny centrálně histologicky přehodnoceny a reklasifikovány podle kritérií aktuální WHO klasifikace (12). U většiny případů, pokud byly dostupné parafinové bloky, byla provedena histochemická a imunohistochemická vyšetření včetně protilátek antiCD20, CD3, Ki-67, CD79a, CD23, CD30, CD5, CD7, granzym B, TIA-1, CD68, protilátky proti cytokeratinům, placentalní alkalické fosfatáze. Ve 13 případech difúzního velkobuněčného B lymfomu byla PCR metodou detekována rearanže bcl2/Jha prokazující translokaci t(14,18).

Klinická data byla získána od zúčastněných center hlášením do registru KLS pomocí standardizovaných formulářů. Zahrnuty byly údaje o věku, pohlaví, hladině laktátdehydrogenázy, klinické stadium dle Ann Arbor, mezinárodním prognostickém indexu (IPI) (13), přítomnosti systémových B příznaků, performance status (ECOG), způsobu léčby, léčebné odpovědi, datum a stav při posledním kontaktu s nemocným. Pacienti podepsali informovaný souhlas se sběrem anonymizovaných dat pro potřeby registru KLS. Všichni nemocní byly stážováni podle Ann Arbor kritérií. Bilaterální postižení varlat bylo považováno za klinické stadium I.

Léčebná odpověď byla hodnocena podle International Workshop NHL Response Criteria (14). Veškerá hodnocení vstupního stagingu a odpovědi na léčbu byla založena na datech poskytnutých jednotlivými centry. Celkové přežití (OS) je definováno jako doba od diagnózy do data posledního kontaktu s nemocným či úmrtí z jakékoliv příčiny. Doba do progresu (PFS) je definována jako

doba od data diagnózy do relapsu/progrese nebo úmrtí. Pravděpodobnost přežití byla hodnocena pomocí analýzy přežívání, křivky přežití byly konstruovány metodou podle Kaplana Meierové (15). Pro statistickou analýzu byl použit software Statistica verze 7.0 (StatSoft 2005).

Výsledky:

Z 2427 nemocných zaregistrovaných v letech 1999-2005 v databázi KLS bylo postižení varlete v době diagnózy zjištěno u 40 (1,6%) nemocných. Jako primární testikulární lymfom bylo onemocnění označeno u 33 nemocných (1,3 %). Vstupní charakteristiky nemocných jsou uvedeny v tabulce č. 1.

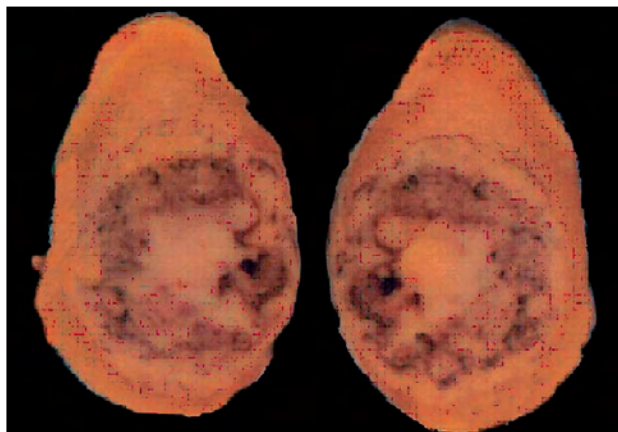
Tabulka č.1: Charakteristiky souboru v době diagnózy

Věk: medián (rozmezí)	69 (34-80) let
Klinické stadium	
- I	20 (61%)
- II	9
- III	1
- IV	3
IPI:	
- 0,1	28 (85%)
- 2,3	5
Histologie:	
- DLBCL	30 (91%)
- Folikulární B NHL	1
- Periferní T lymfom	1
- Lymfoblastický lymfom	1
ECOG	
- < 1	28 (85%)
- > 1	5
B symptomy	3 (9%)
Zvýšená LDH	8 (24%)

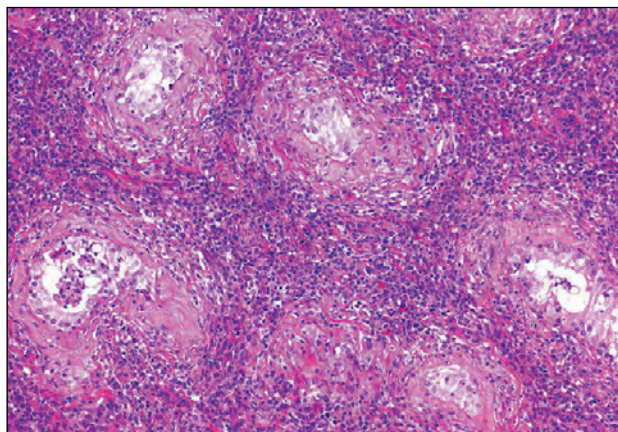
Histologická charakteristika. 30 případů (91%) souboru 33 nemocných z registru KLS bylo definitivně klasifikováno jako difúzní velkobuněčný B lymfom (DLBCL), 1x šlo o periferní T lymfom, 1x o T-imunoblastický lymfom a 1x o folikulární B lymfom. V souboru 31 nemocných hodnoceném navíc pathology byly histologické nálezy obdobné. 29 (93%) případů DLBCL, 1x myelom a 1x chronická lymfatická leukémie. Celkově na základě druhého čtení biopsií byla diagnóza reklasifikována u 5 z 58 případů (9%). Makroskopicky léze kolísají od tumorů menších než 1 cm po kompletně infiltrované varle s prorůstáním tumoru přes obaly (obr.1). Mikroskopicky jde většinou nejdříve o intertubulární růst bez destrukce (obr.2), který se později mění na difúzní, vyplňující a destruuující tubuly (obr.3). Buňky difúzního velkobuněčného B lymfomu byly většinou CD20 a CD79a pozitivní centroblasty a imunoblasty. Bcl-2/Jha rearanže byla detekována pomocí PCR v 1 případě ze 13 analyzovaných difúzních velkobuněčných lymfomů.

Klinické charakteristiky. Medián věku souboru KLS je 69 let s rozmezím od 34 do 80 let, klinické stadium I s postižením pouze ve varleti bylo zjištěno u 20/33 (61%) nemocných, v jednom z těchto případů byla postižena obě varlata, 9 x klinické stadium II s postižením ilických, retroperitoneálních nebo tříselných uzlin, klinické stadium III 1x a 3x klinické stadium IV, kdy kromě postižení varlete byla v úvodu diagnostikována infiltrace CNS. B symptomy byly přítomny pouze ve 3 případech. IPI 0,1 ve 28 případech, IPI 2 ve 3 a IPI 3 2x.

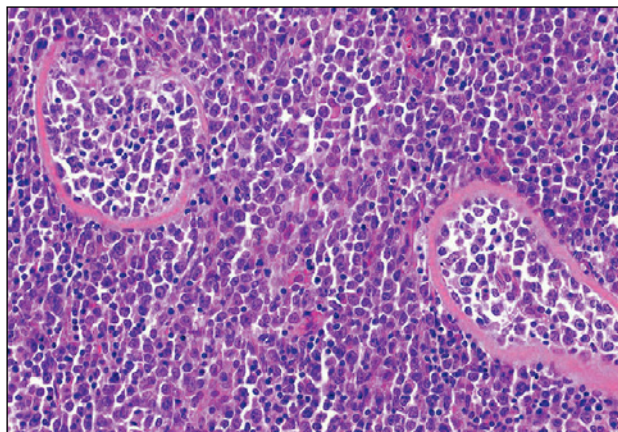
Léčba a léčebné výsledky. (tabulka č. 2) Všichni pacienti podstoupili radikální orchiektomii, 6 nemocných nebylo dále primárně nijak léčeno, 27 (82%) z 33 nemocných bylo následně léčeno



Obrázek č. 1: Varle částečně infiltrované lymfomem



Obrázek č. 2: intertubulární růst testikulárního lymfomu



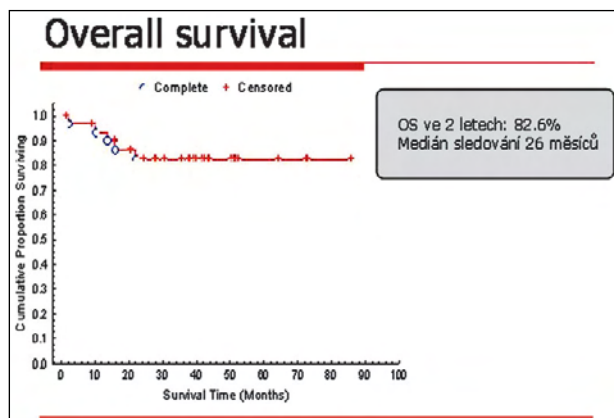
Obrázek č. 3: destrukce kanálků varlete a jejich vyplnění lymfomovými buňkami

systémovou chemoterapii (21x CHOP, 2x COP, 1x PROMACE-Cytabom, VAD, ESAP, vysokodávkovaný MTX+procarbazin). Profylaxe CNS byla použita celkem u 13 (48%) nemocných, z toho 11 x intrathekální aplikace chemoterapie, 4x profylaktické ozáření CNS a 2 nemocní absolvovali obojí. Profylaktické ozáření skrota resp. solitárního varlete absolvovalo 7 nemocných. Při mediánu sledování žijících nemocných 26 měsíců je celkové přežití (OS) ve 2 letech 82% a 2leté přežití bez progresu (PFS) 74% (obr. 4 a 5). K relapsu došlo u osmi (24%) nemocných, z toho

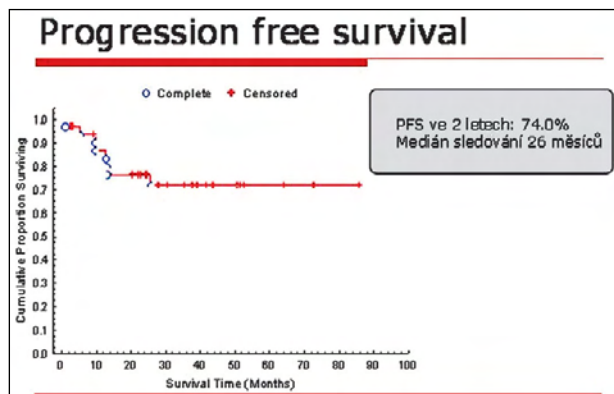
Tabulka č.2: Primární léčba

Orchiektomie	33 (100%)
Systémová chemoterapie	27 (82%)
- CHOP	21 (78%)
- ESHAP	1
- COP	2
- HD MTX	1
- jiné	2
Intrathekální profylaxe:	11 (33%)
Radioterapie profylaktická	
- CNS	4 (12%)
- Kontralaterální varle	7 (21%)
Antracyklinová chemoterapie + profylaxe CNS	13 (39%)

u dvou, kteří nebyli po orchiektomii dále nijak léčeni a pouze dva z relabovaných nemocných absolvovali profylaxi buď CNS, nebo druhého varlete. Zemřelo 5 nemocných z 33, 4x byla příčinou úmrtí progresu onemocnění a jeden nemocný zemřel v první remisi na CMP s následnou bronchopneumonií. Relapsy byly jak uzlinové, tak extranodální. Dva z těchto relapsů vznikly v CNS 16 a 26 měsíců od diagnózy. U jednoho z těchto nemocných došlo k pozdnímu intraparenchymovému relapsu v CNS přes intrathekální profylaxi, po záchranné léčbě chemoterapií s vysokodávkovaným metotrexátem je již dalších 20 měsíců v remisi. Ve skupině 31 pacientů hodnocených patologi, u kterých se podařilo získat některá klinická data došlo v průběhu nemoci u 4 pacientů k relapsu v CNS.



Obrázek č. 4



Obrázek č. 5

Diskuze:

Vzhledem ke vzácnému výskytu primárních lymfomů varlat nebyla dosud publikována prospektivní studie řešící tuto diagnózu a je obtížné stanovit optimální léčebnou strategii. Největší retrospektivní mezinárodní studie byla publikována Zuccou a spol. v roce 2003 za IELSG (International Extranodal Lymphoma Study Group) na 373 pacientech s primárním TL (10). V literatuře jinak nacházíme jen menší retrospektivní studie několika desítek nemocných s TL. U nemocných s primárním TL je v literatuře uváděna špatná prognóza, zejména u pacientů v klinickém stadiu III-IVE, ale i nemocní s klinickým stadiem IE a s nízkým rizikem dle IPI nemají prognózu tak dobrou jako odpovídající skupina nemocných s nodálními lymfomy. Je to dáno poměrně vysokým výskytem pozdních relapsů, ze kterých významná část postihuje CNS a jiné extranodální lokalizace včetně kontralaterálního varlete (6,16). Tato pozorování, zejména pozdní a celkově frekventnější relapsy v CNS, se potvrdila i v naší retrospektivní studii, i když k vzhledem k menšímu počtu nemocných i poměrně krátké době sledování nejsou naše data tak evidentní. Příčina vysokého počtu extranodálních relapsů u tohoto typu lymfomu není známa (16,17). Významná je pravděpodobně exprese adhezních molekul, ze které vyplývá špatná adheze lymfomových buněk k extracelulární matrix (18,19). Navíc varle i CNS jsou lokalizace chráněné krevní bariérou před působením chemoterapie i imunosurveillance zprostředkovanou T lymfocyty (20). Výsledky celkového přežití i doby do progresu našeho souboru se jeví lepší než zejména dříve publikovaná data. Tato skutečnost je krom kratší doby sledování a nevelkým počtem pacientů dána pravděpodobně tím, že většina našich nemocných byla po orchiektomii dále systémově léčena antracyklinovým režimem a poměrně velká část jich absolvovala i profylaxi CNS. V dříve publikovaných pracích často nemocní krom orchiektomie absolvovali pouze radioterapii na paraaortální a pánevní uzliny (21). Přínos adjuvantního podání systémové chemoterapie a zejména antracyklinových režimů byl prokázán (22,23). Na základě výsledků studií prokazujících přínos kombinace chemoterapie s rituximabem u DLBCL se dá předpokládat její vyšší účinnost i u TL (24,25). Z publikovaných dat vyplývá časté postižení druhého var-

lete v průběhu nemoci. V našem souboru jsme pozorovali pozdější relaps v kontralaterálním varleti pouze v jednom případě, ale na velkém souboru Zuccy a spol. bylo toto riziko významně vyšší u nemocných, kteří neabsolvovali profylaktické ozáření skrota (10). Vysoká četnost relapsů v CNS a to i u nemocných, kteří absolvovali systémovou léčbu antracyklinovým režimem, je dostatečně zdokumentována, a proto je jako standardní součást léčby doporučována profylaxe CNS, přinejmenším intrathekální chemoterapií (26-28). Role intrathekální chemoterapie v CNS profylaxi však není u TL jednoznačná, zejména z důvodu častějšího intraparenchymového než meningeálního postižení (10,29,30). Další používanou a studovanou možností je profylaktické použití vysokodávkovaného methotrexátu (31).

V optimálním případě by tedy měl být pacient s TL léčen orchiektomií a následně systémovou imunochemoterapií s antracyklinem (režim R-CHOP) s použitím profylaxe CNS a kontralaterálního varlete (intrathekální chemoterapie a ozáření skrota). Problémem v použití tohoto poměrně náročného léčebného postupu i u nemocných v klinickém stadiu I jsou však vyšší věk a častá komorbidita pacientů.

Ze specifických biologických vlastností a průběhu TL vyplývá i rozšíření vstupního vyšetření těchto pacientů, kde je kromě standardních stagingových vyšetření vhodné vyšetření CNS (mozkomíšní mok a u symptomatických nemocných CT nebo MR vyšetření mozku) a sonografické vyšetření kontralaterálního varlete.

Závěry.

Primární TL je v typickém případě difúzní velkobuněčný B lymfom, vyskytuje se ve vyšší věkové skupině a ve velké většině případů je diagnostikován v klinickém stadiu I bez systémových příznaků. Prognóza nemocných není však tak dobrá, jak je tomu u odpovídající rizikové skupiny nodálního lymfomu, vyskytují se i pozdní relapsy nemoci a to zejména u nemocných nedostatečně léčených v úvodu.

Poděkování

Práce byla podpořena grantem IGA MZ ČR: NR8231-3

Literatura

- Moller MB, d'Amore F, Christensen BE: Testicular lymphoma: A population-based study of incidence, clinicopathological correlations and prognosis. The Danish Lymphoma Study Group, LYFO. Eur J Cancer 1994; 30A:1760-1764.
- Shahab N, Doll DC: Testicular lymphoma. Semin Oncol 1999; 26:259-269.
- Zucca E, Roggero E, Bertoni F, et al: Primary extranodal non-Hodgkin's lymphomas: Part 1. Gastrointestinal, cutaneous and genitourinary lymphomas. Ann Oncol 1997;8:727-737.
- Salem YH, Miller HC: Lymphoma of genitourinary tract. J Urol 1994;151:1162-1170.
- Ferry JA, Harris NL, Young RH, et al: Malignant lymphoma of the testis, epididymis, and spermatic cord: A clinicopathologic study of 69 cases with immunophenotypic analysis. Am J Surg Pathol 1994;18:376-390.
- Fonseca R, Habermann TM, Colgan JP, et al: Testicular lymphoma is associated with a high incidence of extranodal recurrence. Cancer 2000;88:154-161.
- Crellin AM, Hudson BV, Bennett MH, et al: Non-Hodgkin's lymphoma of the testis. Radiother Oncol 1993; 27:99-106.
- Martenson JA Jr, Buskirk SJ, Ilstrup DM, et al: Patterns of failure in primary testicular non-Hodgkin's lymphoma. J Clin Oncol 1988;6:297-302.
- Tondini C, Ferreri AJM, Siracusano L, et al: Diffuse large lymphoma of the testis. J Clin Oncol 1999;17:2854-2858.
- Zucca E, Conconi A, Mughal TI, et al: Patterns of outcome and prognostic factors in primary large-cell lymphoma of the testis in a survey by the International Extranodal Lymphoma Study Group. J Clin Oncol 2003;21:20-27.
- Trněný M, Vášová I, Kozák T, et al: Význam klinického registru nemocných s lymfomy – přínos, možnosti a limitace. Signifikance of lymphoma clinical registry – information potential and limits. Klinická onkologie Supl. 2004, str. 84-87.
- Jaffe ES, Hartus NL, Stein H, Vardiman JW: World Health Organisation Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. IARC Press: Lyon 2001.
- The International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project: A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. N Engl J Med 1993;329:987-994.
- Cheson BD, Horning SJ, Coiffier B, et al: Report of an International workshop to standardise response criteria for non-Hodgkin's lymphomas. J Clin Oncol 1999;17:1244-1253.
- Kaplan EL, Meier P: Nonparametric estimation from incomplete observations. J Am Stat Assoc 1958;53:457-481.

16. Seymour JF, Solomon B, Wolf MM, et al: Primary large-cell non-Hodgkin's lymphoma of the testis: A retrospective analysis of patterns of failure and prognostic factors. *Clin Lymphoma* 2001;2:109–115
17. Lippuner T, Gospodarowicz M, Pintillie M, et al: Testicular lymphomas: Pattern of failure after long term follow-up. *Ann Oncol* 1999;10:68,(suppl. Abstr 234)
18. Drillenburger P, Pals ST: Cell adhesion receptors in lymphoma dissemination. *Blood* 2000; 95:1900–1910
19. Horstmann WG, Timens W: Lack of adhesion molecules in testicular diffuse centroblastic and immunoblastic B cell lymphomas as a contributory factor in malignant behavior. *Virchows Arch* 1996; 429:83–90
20. Riemersma SA, Jordanova ES, Schop RF, et al: Extensive genetic alterations of the HLA region, including homozygous deletions of HLA class II genes in B-cell lymphomas arising in immune-privileged sites. *Blood* 2000; 96:3569–3577
21. Read G: Lymphomas of the testis-results of treatment 1960–77. *Clin Radiol* 1981;32:687–692
22. Connors JM, Klimo P, Voss N, et al: Testicular lymphoma: Improved outcome with early brief chemotherapy. *J Clin Oncol* 1988; 6:776–781
23. Roche H, Suc E, Pons A, et al: Stage IE non Hodgkin's lymphoma of the testis: A need for a brief aggressive chemotherapy. *J Urol* 1989;141:554–556
24. Coiffier B, Lepage E, Briere J, et al: CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med*: 2002; 346:235–242
25. Pfreundschuh M, Trumper L, Osterborg A, et al: CHOP-like chemotherapy plus rituximab versus CHOP-like chemotherapy alone in young patients with good-prognosis diffuse large-B-cell lymphoma: a randomised controlled trial by the MabThera International Trial (MInT) Group. *Lancet Oncol* 2006;7:375–391
26. Touroutoglou N, Dimopoulos MA, Younes A, et al: Testicular lymphoma: Late relapses and poor outcome despite doxorubicin-based therapy. *J Clin Oncol* 1995;13:1361–1367
27. Visco C, Medeiros LJ, Mesina OM, et al: Non Hodgkin's lymphoma affecting the testis: Is it curable with doxorubicin based therapy? *Clin Lymphoma* 2001;2:40–46
28. Pectasides D, Economopoulos T, Kouvatseas G, et al: Anthracycline-based chemotherapy of primary non-Hodgkin's lymphoma of the testis: The Hellenic Cooperative Oncology Group experience. *Oncology* 2000;58:286–292
29. Batchelor T, Leahy N, Kaufman D: High-dose methotrexate for isolated central nervous system relapse in patients with testicular non-Hodgkin's lymphoma. *Clin Lymphoma* 2001;2:116–119
30. van Besien K, Ha CS, Murphy S, et al: Risk factors, treatment, and outcome of central nervous system recurrence in adults with intermediate-grade and immunoblastic lymphoma. *Blood* 1998;91:1178–1184
31. Haioun C, Besson C, Lepage E, et al: Incidence and risk factors of central nervous system relapse in histologically aggressive non-Hodgkin's lymphoma uniformly treated and receiving intrathecal central nervous system prophylaxis: A GELA study on 974 patients. *Groupe d'Etudes des Lymphomes de l'Adulte. Ann Oncol* 2000;11:685–690

Korespondenční adresa:

MUDr. Ingrid Vášová
IHOK, FN Brno
Jihlavská 20
625 00 Brno
e-mail: ivasova@fnbrno.cz

Došlo: 22. 1. 2007
Přijato: 15. 2. 2007

METASTATICKÝ EKKRINNÝ POROKARCINÓM

METASTATIC ECCRINE POROCARCINOMA

LUDOVÍT JURGA¹, VERONIKA ŠVÁBOVÁ¹, SILVIA CINGELOVÁ¹, PETER VEREŠ², JOZEF GLOMBA³

¹ ONKOLOGICKÁ KLINIKA FN TRNAVA,

² ODDELENIE PATOLOGICKEJ ANATÓMIE FN TRNAVA,

³ RÁDIOLOGICKÁ KLINIKA FN TRNAVA

Súhrn

Ekrinný porokarcinóm (malígný ekrinný poróm) je veľmi zriedkavý zhubný nádor, ktorý má pôvod v ekrinných potných žľazách. Tento tumor má zvyčajne dobrú prognózu, podľa literárnych údajov však približne u 20% chorých nádor metastázuje lokálne a u ďalších 10% pacientov vzdialene metastázuje. Keďže ide o zriedkavý druh nádoru, optimálna liečba zatiaľ nie je známa. Prezentujeme prípad 53-ročného pacienta, s ťažkosťami diagnostiky a liečby metastatického ekrinného porokarcinómu. Osobitne chceme zdôrazniť neobvyklé miesta hematogénnej diseminácie (ústna dutina, vonkajší zvukovod, skrótum, skelet, kavernózne zmenená voluminózna metastáza v pľúcach), a žiaľ takmer absolútnu chemorádiorezistenciu tohto extrémne vzácného novotvaru.

Kľúčové slová: Ekrinný porokarcinóm, Malígný ekrinný poróm.

Summary

Eccrine porocarcinoma (malignant eccrine poroma) is a very rare malignant tumor of eccrine sweat glands origin. This type of tumor is usually connected with a good prognosis, however, approximately 20% of cases develop regional metastases and in 10% of patients distant metastases are diagnosed. As the eccrine porocarcinoma represents an uncommon tumor, the optimal treatment remains to be determined. Here we report the case of a 53-year old patient, underlining the diagnostic and therapeutic difficulties of metastatic eccrine porocarcinoma.

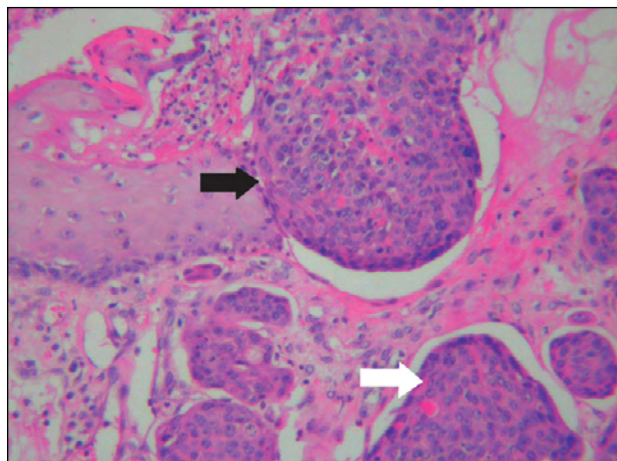
Specifically, we want to point out the unusual localizations of the metastases due to hematogeneous dissemination (mouth cavity, external auditory canal, scrotum, bones, cavernously changed voluminous lung metastasis), and unfortunately the nearly absolute resistance of this extremely uncommon tumor type to both chemotherapy and radiation therapy.

Key words: eccrine porocarcinoma, malignant eccrine poroma.

Úvod

Karcinómy ekrinných potných žliaz reprezentujú zriedkavú skupinu nádorov s potenciálnou tendenciou k lokálnej i vzdialenej diseminácii. Tieto nádory boli prvýkrát popísané v roku 1963. (1) V literatúre sa odvtedy popísalo len niekoľko 100 pacientov s ekrinným porokarcinómom. (2) Špecifická klasifikácia týchto novotvarov je v súčasnosti nejasná, jednak kvôli malému počtu prípadov, tiež aj preto, že mnohé z týchto nádorov sa len nepatrne histologicky ponášajú na zrelú ekrinnú žľazu. Určenie histogenézy je založené hlavne na histochemickej, immunochemickej, alebo ultraštruktúrálnej príbuznosti. Napriek tomu tieto tumory možno systematicky rozdeliť do 2 hlavných skupín: 1. novotvary histologicky podobné zodpovedajúcim benígnym tumorom, (napr. sklerotizujúci karcinóm potných kanálikov, porokarcinóm, malígný chondroidný syringóm, malígný nodulárny hidradenóm, malígný ekrinný spiradenóm); 2. nádory, ktoré majú tak zmenené histologické črty, že sa nedajú priradiť k žiadnemu benígnemu analógu; sú teda značne dediferencované, anaplastické. (2)

Inú klasifikáciu navrhol E. Galadari et al., ktorý rozdelil tieto tumory na tie, ktoré vyrastajú *de novo* z normálnej kože, a tie, ktoré vznikajú na podklade už existujúceho benígneho nádoru kože. (3)

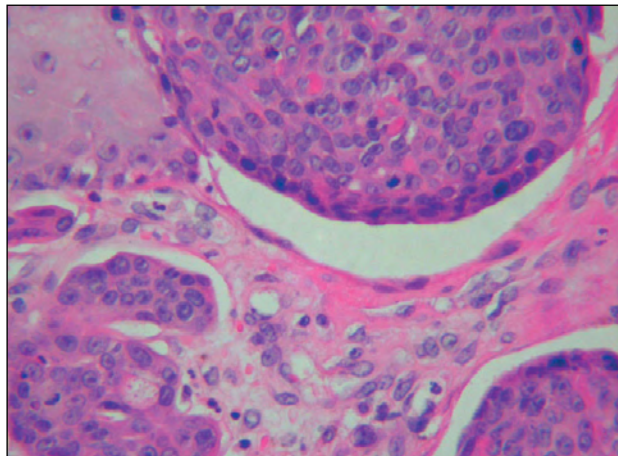


Obr.1. Ekrinný porokarcinóm. (zväčšenie 100x, hematoxylín-eozín.)

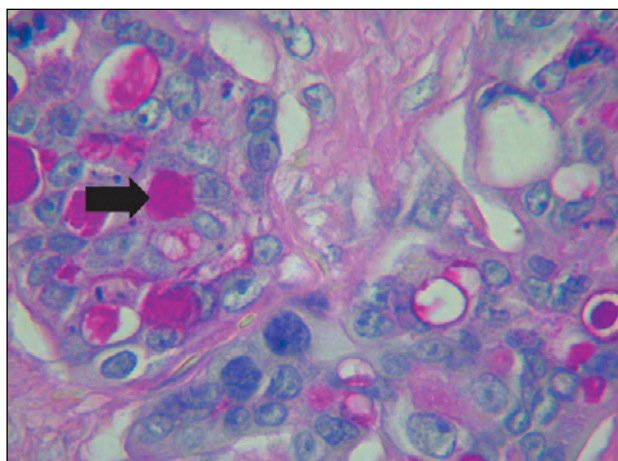
➡ Intraepidermálne hniezda porokarcinómu

⇒ Dermálne hniezda porokarcinómu

Ekrinný karcinóm môže vychádzať z akejkoľvek časti normálnej ekrinnej žľazy, alebo je výsledkom transformácie už existujúceho benígneho ekrinného tumoru (18-50% prípadov) (1). Nedávna štúdia M. Takatu et. al. (4) skúmala inci-



Obr. 2. Ekkrinný porokarcinóm. Zreteľne ohraničené početné ostrovcy polygonálnych buniek s prominujúcimi jadierkami a početnými mitózami. (zväčšenie 200x, hematoxylin-eozín).



Obr. 3. Ekkrinný porokarcinóm. Nádorové bunky obsahujú glykogen (zväčšenie 400x, farbenie PAS – periodic – acid Schiff).

denciu cytogenetických odchýlok v malígnych ekkrinných tumoroch; poukázala na nízku incidenciu straty heterozygotnosti (LOH, lost of heterozygosity) a/alebo zmeny TP53 v zmiešanej skupine týchto nádorov v porovnaní s viacnásobnými genetickými odchýlkami u skvamocelulárnych karcinómov. Autori uvažujú, že tento rozdiel môže byť čiastočne vysvetlený skutočnosťou, že najväčšia časť potnej žľazy leží hlboko v dermis, kde je relatívne chránená pred slnkom a environmentálnymi mutagénmi. Podiel ultrafialového žiarenia (UV) pri týchto zmenách je nejasný a zdá sa, že sa preceňuje. Ekkrinný porokarcinóm tvorí intraepidermálne a dermálne hniezda z epiteliálnych buniek. Tumorózne masy tvoria ostro ohraničené a často okrúhle hniezda polygonálnych buniek s pleiomorfnými nepravidelnými jadrami, prominujúcimi jadierkami a početnými mitotickými figúrami. (1) Incidencia nie je závislá na pohlaví (1:1). Ekkrinné karcinómy sa vyskytujú najmä u pacientov v piatej až ôsmej dekáde života, obvykle sa prezentujú ako jediná, bezpríznaková, neurčitá nehojaca sa kožná lézia; rastú buď pomaly (roky) alebo rýchlo. (1)

Kožná/primárna lézia sa javí ako solitárny tumor alebo plak a najčastejšie sa nachádza na dolných končatinách (50%), trupe (24%) a hlave (18%) (1). Tvorí kutánne metastázy

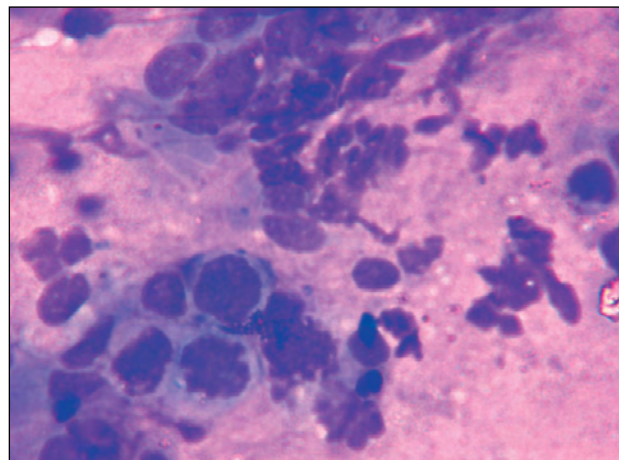
a nezriedkavo aj viscerálne metastázy. V literatúre sa uvádza pravdepodobnosť lokorecidívy až do 70% a následného metastázovania do 60% (2). Vysoký počet mitóz, šírenie do lymfatického systému a hĺbka tumoru nad 7mm sa považujú za prognosticky nepriaznivé znaky (1).

Ekkrinné porokarcinómy sa môžu zamieňať aj s kožnými metastázami, bazocelulárnym karcinóm, karcinómom z Merkelových buniek, ekkrinným porómom, verrucou vulgaris, seboroickou keratózou, melanocytárnym névusom, hidroakantómom, Pagetovou chorobou alebo spinocelulárnym karcinómom (1).

Rozlíšenie ekkrinných tumorov je zložité, nezriedkavo nemožné, málokedy postačí svetelná mikroskopia. V prípade pochybností je vhodné farbenie na ekkrinné enzýmy (napr. succinyldehydrogenáza, amylofosforyláza). Prítomnosť feritínu môže tiež poukázať na ekkrinný pôvod tumoru. (5) To isté platí o imunodiagnostike (CEA, EMA) (1). Kvôli vysokej pravdepodobnosti lokorecidívy po konvenčnej excízii Mohsova mikrohrurgická technika je metódou voľby pre odstránenie nádoru. (6)

Údaje o konzervatívnej liečbe tohto nádoru sa v literatúre vyskytujú zriedkavo. V niektorých prípadoch bola použitá rádioterapia (9); chemoterapia (paklitaxel, cisplatina, doxorubicín, interferón alfa, isotretinoin) sa nepoužíva často, a podľa všetkého je málo účinná (7,8,10).

Kazuistika: Pacient, 53-ročný muž, fajčiar, si vo februári 2004 všimol rastúce útvary na koži nosa a v temporálnej oblasti vľavo. Útvary boli okrúhleho tvaru, mierne prominujúce nad okolitú kožu, tuhej konzistencie, svetločervenej farby s centrálnym preliačením, krytým suchou žltavou krustou. V apríli 2004 boli na odporúčenie kožnej lekárky ložiská excidované, rany po excízii však mokvali, nehojili sa. Histologicky bola stanovená diagnóza keratoakantómu. Približne po mesiaci kožná lekárka zaznamenala 3 nové ložiská (1x1cm a 0,5x0,5cm na krku a 1,5x1,5cm na skrťte), ktoré následne excidovali chirurg a urológ. Na základe histológie bola stanovená diagnóza malígneho ekkrinného porómu. Do júla 2004 sa objavilo ďalších 5 ložísk (na ľavom obočí 4x5mm, v okcipitálnej a temporálnej oblasti vpravo, nad pravou lopatkou a na prednej strane ľavého stehna). Následne boli excidované všetky novovzniknuté ložiská.



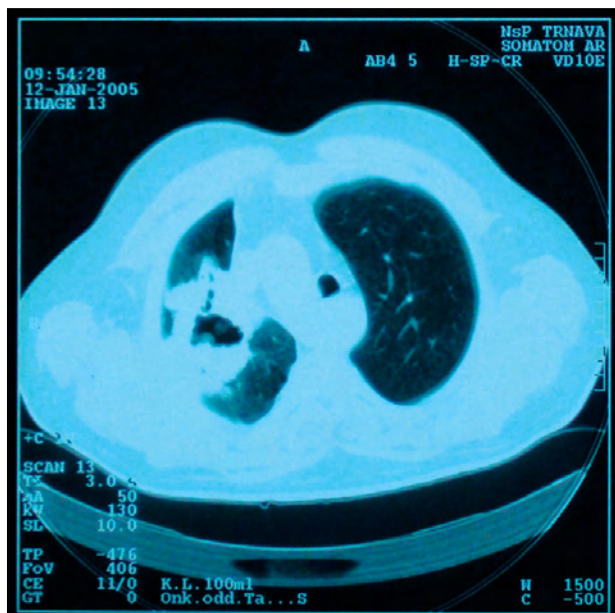
Obr. 4. Metastáza ekkrinného porokarcinómu do pľúc. Nádorové bunky zo steru bronchiálnej sliznice (zväčšenie 400x, farbenie podľa MGG – May-Grimwald-Giemsa).



Obr. 5. CT hrudníka. Mediastinálna lymfadenopatia.

V auguste 2004 boli na RTG hrudníka zaznamenané metastázy v pľúcach. V septembri CT hrudníka odhalilo v pravom hornom laloku pľúc hrubostennú kavernu rozmerov 7x6x5 cm a suspektnú metastázu do ľavej nadobličky. Pri bronchoskopickom vyšetrení sa tumor nenašiel, no cytologicky z apikálneho segmentu vpravo boli dokázané bunky epidermoidného karcinómu, ktoré sú však podobné bunkám porokarcinómu. Pri scintigrafickom vyšetrení skeletu sa zistili početné metastázy v skelete (8. rebro vľavo a 12. rebro vpravo). Pacient bol koncom októbra 2004 prijatý na našu kliniku. Pri prijatí sa zistilo nové ložisko, opäť temporálne vpravo. Cítil sa slabý, mal subfebrilitu a bolesti pod pravou lopatkou. Realizovali sme punkciu ložiska v pľúcach pod CT kontrolou, kde sa zobrazila malígna expanzia s cystickou zložkou 12x7x10cm (pôvodne 7x6x5), postihnutie pleury a retrokáválne expandované mediastinálne lymfatické uzliny. Cytologické vyšetrenie potvrdilo s veľkou pravdepodobnosťou metastázu ekkrinného porokarcinómu. Pacientovi sme indikovali chemoterapiu na báze cisplatiny a doxorubicínu v nominálnych dávkach. V januári 2005 sme však na kontrolnom CT vyšetrení zaznamenali progresiu nádorových manifestácií v oblasti pľúc aj ľavej nadobličky. Preto sme v II. línii paliatívnej chemoterapie zvolili sólo paclitaxel v nominálnych dávkach, po podaní 2 cyklov sme však opäť zaznamenali progresiu temporálneho ložiska a výskyt 3 nových manifestácií na koži tváre. Liečba sa komplikovala vznikom steroidového diabetu indukovaného premedikáciou paclitaxelom. Následne boli pacientovi extirpované novovzniknuté ložiská. Opakované zlyhávania v predchádzajúcich režimoch nás viedli k pokusu o III. líniiu paliatívnej chemoterapie: (cDDP+5FU v alternácii s režimom Bleomycín+Metotrexát+Leukovorín). V apríli 2005 sme na RTG a CT vyšetrení hrudníka zaznamenali progresiu ochorenia v zmysle novovzniknutej osteolytickej deštrukcie 6. a 7 rebra vpravo s mäkkotkanivovou zložkou infiltrátu veľkosti 94 x 69 mm, ktorá sa šírila intratorakálne. V máji 2005 sme pridali isotretinoín a interferon alfa. Po 3 cykloch došlo opäť

k progresii ochorenia (ložiská v dutine ústnej a vo vonkajšom zvukovode). Pacientovi sme následne aplikovali rádioterapiu v dávke 60 Gy na recidívu v jazve temporálne vpravo a na metastázy v 6.-8. rebre (pre algický syndróm). Napriek kombinovanej liečbe ochorenie progredovalo a v júli 2005 pacient exitoval.



Obr. 6. CT hrudníka. Malígna expanzia v pľúcnych segmentoch S 1,2,3 vpravo s kavernóznou zložkou.



Obr. 7. Ekkrinný porokarcinóm. Ložisko na koži tváre.

Diskusia a závery: Prvá kožná lézia sa u pacienta objavila vo februári 2004, lézií pribúdalo v priebehu mesiacov február až august 2004; nádorové manifestácie boli opakované extirpované. V auguste/septembri 2004 sa mani-



Obr.8. Ekrinný porokarcinóm. Ložisko na koži tváre.

festovali na RTG a následne na CT pľúcne metastázy, na čo sme reagovali aplikáciou kombinovanej konzervatívnej liečby. Aplikované režimy chemoterapie, neskôr kombinovanej s biologickou terapiou a rádioterapiou, sme volili na základe v literatúre popisovaných kazuistík a malých súborov pacientov s ekrinným porokarcinómom; boli sme si vedomí nízkej miery liečebných odpovedí (7,8,9,10). Ložisko na koži temporálne vpravo sme v úvode liečby zámerne ponechali ako klinický test chemosenzitivity nádoru, s ktorého liečbou sú malé skúsenosti. Napokon však pri extrémne rýchlom raste tejto nádorovej manifestácie sme pristúpili k jej extirpácii. Extrémne zaujímavé boli neobvyklé cesty metastatického šírenia sa tohoto nádoru (skrótum, dutina ústna, vonkajší zvukovod). Naša kazuistika potvrdzuje literárne údaje týkajúce sa chemoradiorezistencie a zlej prognózy primárne metastatického malígneho ekrinného porómu. Napriek všeobecne zlej prognóze tohoto novotvaru uvádzame, že chirurgické riešenie prebiehalo bez použitia Mohsovej mikrochirurgickej techniky (jej použitie by však sotva zmenilo agresívne správanie sa a prognózu tohoto ochorenia).

Literatúra

1. Requena L, Kutzner H, Hurt MA et al: Malignant tumours with apocrine and eccrine differentiation in LeBoit PE, Burg G, Weedon D, Sarasin A: WHO classification of tumours. Pathology and genetics. Skin tumors. Lyon, IARC Press; 2006; s125-130.
2. Wong A, Mollick DK, Siegel D: Eccrine carcinoma. <http://www.emedicine.com/derm/topic630.htm> accessed 1.2.2007
3. Galadari E, Mehregan AH, Lee KC: Malignant transformation of eccrine tumors. J Cutan Pathol 1987 Feb; 14(1): 15-22.
4. Takata M, Hashimoto K, Mehregan P, et al: Genetic changes in sweat gland carcinomas. J Cutan Pathol 2000 Jan; 27(1): 30-5.
5. Penneys NS, Zlatkiss I: Immunohistochemical demonstration of ferritin in sweat gland and sweat gland neoplasms. J Cutan Pathol 1990 Feb; 17(1): 32-6.

6. De Vita VT, Hellman S, Rosenberg SA. Cancer. Principles and Practice in Oncology. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, 2005:3295 s.
7. Gutermuth J, Audrin H, Voit C, et al. Antitumour activity of paclitaxel and interferon-alpha in a case of metastatic eccrine porocarcinoma. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2004 Jul;18(4):477-9
8. Piedbois P, Breau JL, Morere JF, Israel L. Sweat gland carcinoma with bone and visceral metastases. Prolonged complete remission lasting 16 months as a result of chemotherapy. Cancer 1987;60:170-2.
9. Harari PM, Shimm DS, Bangert JL et al. The role of radiotherapy in the treatment of malignant sweat gland neoplasms. Cancer 1990; 65:1737-41.
10. Barzi AS, Ruggeri S, Recchia F, Bertoldi I. Malignant metastatic eccrine poroma: Proposal for a new therapeutic protocol. Dermatol Surg 1997;23: 267-272.

Korespondenční adresa:

Prof. MUDr. Jurga L., CSc.
Onkologická klinika FN Trnava

Došlo: 4. 5. 2007
Přijato: 25. 5. 2007

RETINOIDY V LÉČBĚ NEUROBLASTOMU

RETINOIDS IN THERAPY OF NEUROBLASTOMA

FRGALA T.¹, DUBSKÁ L.¹, REYNOLDS C.P.²¹ ODDĚLENÍ LABORATORNÍ MEDICÍNY, MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV, BRNO² USC-CHLA INSTITUTE FOR PEDIATRIC CLINICAL RESEARCH, CHILDRENS HOSPITAL LOS ANGELES, UNIVERSITY OF SOUTHERN CALIFORNIA, USA

Souhrn

Přibližně 60% pacientů s neuroblastomem je diagnostikováno s vysoce rizikovým onemocněním a přes intenzivní kombinovanou léčbu (chirurgické odstranění nádoru, radioterapie, vysokodávkovaná chemoterapie s ev. transplantací kostní dřeně) bývá téměř 60% těchto pacientů do dvou let postiženo recidivou onemocnění. Nadále jsou proto hledány nové terapeutické postupy včetně možností doléčení minimální reziduální choroby s důrazem na nízkou celkovou toxicitu. V *in vitro* podmínkách představují deriváty vitamínu A, retinoidy, jedny z neúčinnějších induktorů buněčné diferenciace u neuroblastomu. Slibné účinky kyseliny retinové *in vitro* podnítily již v první polovině 80. let zájem o její *in vivo* aplikaci. Přirozený metabolit retinolu kyselina **all-trans retinová (ATRA, Tretinoin, Vesanoid)** je s úspěchem a minimální toxicitou využívána k léčbě akutní promyelocytární leukemie (APL). Vysokodávkovaná pulzní aplikace kyseliny **13-cis retinové (13-cis-RA, Izotretinoin, Roaccutane)** v návaznosti na intenzivní kombinovanou léčbu byla s úspěchem použita ve studii fáze III CCG-3891 (Children's Cancer Group), kdy podání 13-cis-RA významně prodloužilo přežívání bez příznaků choroby (Event-Free Survival, EFS) oproti skupině bez další léčby ($P = 0.027$). K recidivě nádoru však nadále dochází u více než 50% pacientů s vysoce rizikovým neuroblastomem léčených intenzivní kombinovanou léčbou s následnou aplikací 13-cis-RA. Syntetický retinoid **N-(4-hydroxyfenyl)-retinamid (fenretinid, 4-HPR)** při studiích *in vitro* inhiboval růst i těch buněčných linií neuroblastomu, jež se vyznačují rezistencí na kyselinu retinovou. Narozdíl od 13-cis-RA či ATRA nevede fenretinid k diferenciaci, nýbrž k apoptóze a nekróze maligních buněk. Fenretinid pravděpodobně působí nezávisle na receptorech RARs a RXRs, ačkoliv mechanismy cytotoxicity fenretinidu dosud nejsou plně objasněny. Jedním z cytotoxických mechanismů fenretinidu v neuroblastomových tkáňových kulturách je zvýšení hladin ceramidu přímo úměrné dávce 4-HPR. Jsou proto připravovány klinické studie s aplikací fenretinidu v kombinaci s modulátory ceramidového metabolismu, které s fenretinidem *in vitro* prokazují synergický účinek.

Klíčová slova: retinoidy, neuroblastom, fenretinid.

Abstract

Approximately 60% of neuroblastoma patients are diagnosed with high-risk disease and despite of intensive combination therapy (surgical removal of the tumor mass, radiotherapy, high-dose chemotherapy with eventual bone-marrow transplantation) almost 60% of these patients suffer a tumor relapse within two years of treatment completion. Therefore, novel therapeutic approaches with low toxicity are developed including treatment of minimal residual disease. Vitamin A derivatives retinoids represent some of the most effective neuroblastoma cell differentiation inducers *in vitro*. Promising retinoic acid effects stimulated interest in its *in vivo* application since the early 1980s. Natural retinol metabolite **all-trans retinoic acid (ATRA, Tretinoin, Vesanoid)** has been successfully used in treatment of acute promyelotic leukemia with minimal adverse effects. High-dose pulse **13-cis retinoic acid (13-cis-RA, Izotretinoin, Roaccutane)** treatment following intensive combination therapy significantly prolonged the event-free survival (EFS) in the phase III CCG-3891 (Children's Cancer Group) clinical trial ($P = 0.027$). Nevertheless, over 50% of high-risk neuroblastoma patients treated with intensive combination treatment and subsequent 13-cis retinoic acid application still experience tumor recurrence. Synthetic retinoid **N-(4-hydroxyphenyl)-retinamide (fenretinide, 4-HPR)** inhibited the growth of neuroblastoma *in vitro*, including cell lines resistant to 13-cis RA. Unlike the 13-cis-RA or ATRA, fenretinide does not cause cell differentiation, but apoptosis and necrosis of the malignant cells. The cytotoxic effect of fenretinide is reportedly independent of the RAR and RXR receptors, although its mechanisms remain to be fully explored. One of the cytotoxic mechanisms of fenretinide in neuroblastoma cell cultures is elevation of ceramide levels directly proportional to 4-HPR dose increase. Therefore, clinical studies are being prepared combining the application of fenretinide with ceramide metabolism modulators, a combination treatment which showed synergistic effect *in vitro*.

Keywords: retinoids, neuroblastoma, fenretinide.

Neuroblastom je maligní nádor raného dětského věku vycházející z periferního nervového systému, jehož spektrum klinického chování sahá od spontánních regresí až po rychle progredující onemocnění nereagující na chemoradioterapii. Přibližně 60% pacientů je diagnostikováno s vysoce riziko-

vým onemocněním (stadium 4 diagnostikované ve věku 1 rok a vyšším, případně nádory všech stádií s amplifikací proto-onkogenu *n-myc* a/nebo nepříznivým histopatologickým nálezem) [1]. Děti s vysoce rizikovým onemocněním bývají i přes intenzivní kombinovanou léčbu (chirurgické odstranění nádoru

ru, radioterapie, vysokodávkovaná chemoterapie s ev. transplantací kostní dřeně) téměř v 60% případů do dvou let postiženy recidivou onemocnění. Nadále jsou proto hledány nové terapeutické postupy včetně možnosti doléčení minimální reziduální choroby v návaznosti na intenzivní kombinovanou terapii, u nichž je kladen důraz na minimální celkovou toxicitu. V *in vitro* podmínkách představují u neuroblastomu deriváty vitamínu A, retinoidy, jedny z nejúčinnějších induktorů buněčné diferenciace [2,3,4]. Působením kyseliny retinové na tkáňové kultury neuroblastomu dochází k výraznému snížení exprese RNA onkogenu *n-myc* a k zástavě buněčné proliferace, a to bez ohledu na stupeň původní amplifikace onkogenu *n-myc* [5,6]. Po přerušení aplikace nádorové buňky znovu rostou; u některých tkáňových kultur však opětovnou zástavou proliferace reagují i na další, s odstupem aplikovaný cyklus kyseliny retinové. Podobná pulzní terapie kyselinou retinovou by tak mohla u správně zvolené podskupiny pacientů s neuroblastomem dosáhnout dlouhodobé zástavy buněčné proliferace [6].

Diferenciace a zástava buněčného růstu jsou v případě většiny retinoidů zprostředkovány jednou či více skupinami jaderných receptorů: receptory kyseliny retinové RARs a retinoidovými X receptory RXRs (skupiny jsou dále děleny na subtypy alfa, beta a gama) [7]. Obě skupiny těchto receptorů jsou přítomny v buňkách většiny neuroblastomových tkáňových kultur i primárních tumorů. Nicméně mezi rezistencí buněčných linií na kyselinu retinovou a úrovní exprese RAR či RXR nebyl pozorován vzájemný vztah. Zvýšená exprese RAR beta však bývá spojena s dobrou prognózou neuroblastomu a overexprese tohoto receptoru v důsledku transfekce zvyšuje léčebnou odpověď některých buněčných linií neuroblastomu na kyselinu retinovou [8].

Slibné účinky kyseliny retinové *in vitro* podnítily již v první polovině 80. let zájem o její *in vivo* aplikaci. Přirozený metabolit retinolu kyselina **all-trans retinová (ATRA, Tretinoin, Vesanoid)** je s úspěchem a minimální toxicitou využívána k léčbě akutní promyelocytární leukemie (APL) [9,10]. Izomerem kyseliny all-trans retinové je **kyselina 13-cis retinová (13-cis-RA, Izotretinoin, Roaccutane)**, která indukovala v klinických studiích diferenciaci u APL spojenou s léčebnou odpovědí u některých pacientů. Regrese onemocnění byly pozorovány i u pacientů s APL, myelodysplastickým syndromem, mycosis fungoides a pokročilým skvamózním karcinomem kůže [11]. Podání 13-cis-RA pacientům s progredujícím neuroblastomem sice ojediněle vyvolala léčebné odpovědi včetně jedné kompletní remise [6], celkově však byla nevýrazná aktivita 13-cis-RA v dávce 100 mg/m²/den zklamáním [12]. Rovněž studie European Neuroblastoma Study Group (ENSG) při denní dávce 22.5 mg/m²/den prokázala minimální celkovou toxicitu, ale rovněž nulový efekt kontinuální nízkodávkované 13-cis-RA na přežívání bez příznaků choroby (Event-Free Survival, EFS) u pacientů s neuroblastomem [13]. Mezi hlavní nežádoucí účinky byly v těchto studiích řazeny suchost kůže a sliznic, zánět spojivek a hypertriglyceridemie.

Koncentrací 5 μ M - 10 μ M účinných v podmínkách *in vitro* nebylo v séru při dávkování 100 mg/m²/den dosaženo, což může být vysvětlením nesignifikantního efektu 13-cis-RA ve zmíněných klinických studiích [14,15]. V dalších *in vitro* studiích a studiích fáze I byla proto vyvinuta vysokodávkovaná pulzní aplikace 13-cis-RA s maximální tolerovanou dávkou (MTD) 160 mg/m²/den denně po dobu 2 týdnů, s následnou 2-týden-

ní přestávkou pro mukokutánní regeneraci. Sérové hladiny 13-cis-RA při tomto pulzním dávkování dosahovaly 4 μ M až 7 μ M [16]. Tato vysokodávkovaná pulzní aplikace 13-cis-RA byla použita i ve studii fáze III CCG-3891 (Children's Cancer Group) s podáním 13-cis-RA po ukončení intenzivní kombinované léčby [17]. Po 1. randomizaci byli pacienti této studie léčeni buďto myeloablativní terapií (melphalan, karboplatina, etoposid a celotělové ozáření) s následnou autologní transplantací kostní dřeně nebo třemi cykly konsolidační chemoterapie (cisplatina, etoposid, doxorubicin, ifosfamid/mesna) bez transplantace kostní dřeně. Při 2. randomizaci pak byli pacienti z obou skupin rozděleni do podskupiny s pulzní aplikací 13-cis-RA 160 mg/m²/den (dva týdny každý měsíc po dobu 6 měsíců) a podskupiny bez další léčby. První randomizace ukázala statisticky významné prodloužení EFS ve skupině s myeloablativní terapií a transplantací kostní dřeně ($P = 0.034$). Podání 13-cis-RA pak při druhé randomizaci významně prodloužilo EFS oproti skupině bez další léčby ($P = 0.027$). Nejvýraznějšího efektu bylo dosaženo při aplikaci 13-cis-RA po ukončení intenzivní léčby u pacientů bez detekovatelného nádoru, tedy ve fázi minimální reziduální choroby [17].

I přes absenci přímého srovnání obou izomerů byla ATRA dlouho považována za účinnější formu kyseliny retinové než 13-cis-RA. Při *in vitro* testování shodnými dávkami 0.1 μ M - 1.0 μ M prokazuje ATRA skutečně výraznější účinek než 13-cis-RA [18]. Tyto dávky byly původně zvoleny na základě sérových hladin dosažených klinicky při kontinuální aplikaci ATRA v dávce 45 mg/m²/den [19]. Nicméně vysokodávkovaná pulzní aplikace 13-cis-RA dosahuje *in vivo* výrazně vyšších sérových hladin 4 μ M - 7 μ M [16]. 13-cis-RA navíc v průběhu léčby zachovává delší biologický poločas a stabilní hladiny, zatímco poločas ATRA se v průběhu léčby v důsledku zvýšené metabolizace zkracuje a jeho sérové hladiny klesají [20]. Indukce diferenciace a zástava buněčného růstu retinoidy jsou přímo úměrné dávce a trvalý léčebný efekt vyžaduje vystavení nádorových buněk optimálním hladinám retinoidů alespoň po dobu několika dnů. Z toho pohledu může být 13-cis-RA považována v léčbě neuroblastomu za vhodnější formu kyseliny retinové než ATRA [14].

Ačkoliv aplikace 13-cis-RA v návaznosti na intenzivní kombinovanou léčbu prodloužila EFS u dětí s vysoce rizikovým neuroblastomem, k recidivě nádoru přesto dochází u více než 50% takto léčených pacientů. Jsou proto nadále hledány léky či kombinace léků, které by s minimální celkovou toxicitou působily zejména na nádory rezistentní na kyselinu retinovou. Z tohoto pohledu je zajímavý syntetický retinoid **N-(4-hydroxyfenyl)-retinamid (fenretinid, 4-HPR)**, který při studiích *in vitro* inhiboval růst i těch buněčných linií neuroblastomu, jež se vyznačují rezistencí na kyselinu retinovou [21]. Narodil od 13-cis-RA či ATRA nevede fenretinid k diferenciaci, nýbrž k apoptóze a nekróze maligních buněk [22]. Fenretinid pravděpodobně působí nezávisle na receptorech RARs a RXRs [23,24], ačkoliv mechanismy cytotoxicity fenretinidu dosud nejsou plně objasněny. Současné studie ukazují, že jedním z cytotoxických mechanismů fenretinidu v neuroblastomových tkáňových kulturách je zvýšení hladin ceramidu přímo úměrné dávce 4-HPR [22]. Jsou proto připravovány klinické studie s aplikací fenretinidu v kombinaci s modulátory ceramidového metabolismu, které s fenretinidem *in vitro* prokazují synergický účinek [25]. V posledních letech byly dokončeny klinické studie s perorální aplikací fenretinidu u dětí se solidními nádory [26] i u dospělých s karcinomy [27,28]. V pediatrické studii fáze

I byla při opakovaných sedmidenních aplikacích fenretinidu s třítydenními přestávkami dosažena maximální tolerovaná dávka 2457 mg/m²/den, přičemž byly s minimálními vedlejšími účinky zaznamenány sérové hladiny fenretinidu 6 µM - 10 µM [26], odpovídající koncentracím účinným *in vitro* i u buněčných linií rezistentních na 13-cis-RA [21]. Z výsledků dosavadních studií je zřejmé, že retinoidy již mají v léčebných postupech u neuroblastomu své místo. Zdá se však, že efekt stávajících forem je limitován na pro-

dložení EFS po intenzivní kombinované léčbě bez výrazného snížení počtu recidiv. Od vývoje účinnějších forem, umožňujících dosažení vyšších sérových a především tkáňových hladin léku při zachování minimální celkové toxicity, se očekává výraznější terapeutický efekt retinoidů a jejich významnější úloha v léčbě neuroblastomu.

Práce byla podpořena grantem Ministerstva zdravotnictví (MZO00209805).

Literatura

1. Reynolds CP, Seeger RC: Neuroblastoma. In: *Cancer Treatment*, Fifth Edition, Haskell CM (ed.), Philadelphia - W.B. Saunders: 1214-1236, 2000
2. Sidell N: Retinoic acid-induced growth inhibition and morphologic differentiation of human neuroblastoma cells in vitro. *J Natl Cancer Inst* 68: 589-596, 1982
3. Sidell N, Altman A, Haussler MR, Seeger RC: Effects of retinoic acid (RA) on the growth and phenotypic expression of several human neuroblastoma cell lines. *Exp Cell Res* 148: 21-30, 1983.
4. Pahlman S, Ruusala AI, Abrahamsson L, Mattsson ME, Esscher T: Retinoic acid-induced differentiation of cultured human neuroblastoma cells: a comparison with phorbol ester-induced differentiation. *Cell Differ* 14: 135-144, 1984.
5. Thiele CJ, Reynolds CP, Israel MA: Decreased expression of N-myc precedes retinoic acid-induced morphological differentiation of human neuroblastoma. *Nature* 313: 404-406, 1985.
6. Reynolds CP, Kane DJ, Einhorn PA, Matthay KK, Crouse VL, Wilbur JR, Shurin SB, Seeger RC: Response of neuroblastoma to retinoic acid in vitro and in vivo. *Prog Clin Biol Res* 366: 203-211, 1991
7. Doubek M, Šmardová J, Adam Z, Vorlíček J: Induktory diferenciace - retinoidy a další látky. In: *Obecná onkologie a podpůrná léčba*, 1. vydání, Adam Z, Vorlíček J, Koptíková J (Ed.), Grada Publishing: 371-373, 2003
8. Cheun B, Hocker JE, Smith SA, Norris MD, Haber M, Marshall GM: Favorable prognostic significance of high-level retinoic acid receptor beta expression in neuroblastoma mediated by effects on cell cycle regulation. *Oncogene* 17: 751-759, 1998
9. Huang ME, Ye YC, Chen SR, Chai JR, Lu JX, Zhao L et al: Use of all trans retinoic acid as a differentiation therapy for acute promyelocytic leukemia. *Blood* 72: 567-572, 1988
10. Warrell RPJ, Frankel SR, Miller WHJ, Sheinberg DA, Itri LM, Hittelman WN et al: Differentiation therapy of acute promyelocytic leukemia with tretinoin (all-trans-retinoic acid). *N Engl J Med* 324: 1385-1393, 1991
11. Reynolds CP, Lemmons RS: Retinoid therapy of childhood cancer. *Hematol Oncol Clin N Amer* 15: 867-910, 2001
12. Finklestein JZ, Krailo MD, Lenarsky C, Ladisch S, Blair GK, Reynolds CP, Sitarz AL, Hammond GD: 13-cis-retinoic acid (NSC 122758) in the treatment of children with metastatic neuroblastoma unresponsive to conventional chemotherapy: report from the Childrens Cancer Study Group. *Med Pediatr Oncol* 20: 307-311, 1992
13. Kohler JA, Imeson J, Ellershaw C, Lie SO: A randomized trial of 13-cis retinoic acid in children with advanced neuroblastoma after high-dose therapy. *Br J Cancer* 83: 1124-1127, 2000
14. Reynolds CP, Schindler PF, Jones DM, Gentile JL, Proffitt RT, Einhorn PA: Comparison of 13-cis-retinoic acid to trans-retinoic acid using human neuroblastoma cell lines. *Prog Clin Biol Res* 385: 237-244, 1994
15. Khan AA, Villablanca JG, Reynolds CP, Avramis VI: Pharmacokinetic studies of 13-cis-retinoic acid in pediatric patients with neuroblastoma following bone marrow transplantation. *Cancer Chemother Pharmacol* 39: 34-41, 1996
16. Villablanca JG, Khan AA, Avramis VI, Seeger RC, Matthay KK, Ramsay NK, Reynolds CP: Phase I trial of 13-cis-retinoic acid in children with neuroblastoma following bone marrow transplantation. *J Clin Oncol* 13: 894-901, 1995
17. Matthay K, Villablanca JG, Seeger RC, Stram DO, Harris R, Ramsay NK, Swift P, Shimada H, Black CT, Brodeur GM, Gerbing R, Reynolds CP: Treatment of high risk neuroblastoma with intensive chemotherapy, radiotherapy, autologous bone marrow transplantation, and 13-cis-retinoic acid. *N Engl J Med* 341: 1165-73, 1999
18. Chomienne C, Ballerini P, Balitrand N, Daniel MT, Fenaux P, Castaigne S, Degos L: All-trans retinoic acid in acute promyelocytic leukemias: II, in vitro studies: structure - function relationship. *Blood* 76: 1710-1717, 1990
19. Muindi JR, Young CW, Warrell RP: Clinical pharmacology of all-trans retinoid acid (Review). *Leukemia* 8: 1807-1812, 1994
20. Smith MA, Parkinson DR, Cheson BD, Friedman MA: Retinoids in cancer therapy. *J Clin Oncol* 10: 839-864, 1992
21. Reynolds CP, Wang Y, Melton LJ, Einhorn PA, Slamon DJ, Maurer BJ: Retinoic-acid-resistant neuroblastoma cell lines show altered MYC regulation and high sensitivity to fenretinide. *Medical & Pediatric Oncology* 35: 597-602, 2000
22. Maurer BJ, Metelitsa LS, Seeger RC, Cabot MC, Reynolds CP: N-(4-hydroxyphenyl)retinamide increases ceramide and reactive oxygen species and induces mixed apoptosis/necrosis in neuroblastoma cell lines. *J Natl Cancer Inst* 91: 1138-1146, 1999
23. Sani BP, Shealy YF, Hill DL: N-(4-hydroxyphenyl)retinamide: interactions with retinoid-binding proteins/receptors. *Carcinogenesis* 16: 2531-2534, 1995
24. Sheikh MS, Shao ZM, Li XS, Ordonez JV, Conley BA, Wu S, Dawson MI, Han QX, Zhao WR, Quick T: N-(4-hydroxyphenyl)retinamide (4-HPR)-mediated biological actions involve retinoid receptor-independent pathways in human breast carcinoma. *Carcinogenesis* 16: 2477-2486, 1995
25. Maurer BJ, Melton L, Billups C, Cabot MC, Reynolds CP: Synergistic cytotoxicity in solid tumor cell lines between N-(4-hydroxyphenyl)retinamide and modulators of ceramide metabolism. *J.Natl.Cancer Inst.* 92: 1897-1909, 2000
26. Villablanca JG, Ames MM, Reid JM, Bagniewski PG, Krailo M, Reynolds CP: Phase I trial of oral N-(4-hydroxyphenyl)retinamide (4-HPR) in children with resistant/recurrent solid tumors: A Childrens Cancer Group Study (CCG 09709). *Proc Am Soc Clin Oncol* 21: 198a, 2002
27. Decensi A, Serrano D, Bonanni B, Cazzaniga M, Guerrieri-Gonzaga A: Breast cancer prevention trials using retinoids (Review). *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 8(1): 19-30, 2003
28. Formelli F, Camerini T, Cavadini E, Appierto V, Villani MG, Costa A, De Palo G, Di Mauro MG, Veronesi U: Fenretinide breast cancer prevention trial: drug and retinol plasma levels in relation to age and disease outcome. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 12(1):34-41, 2003

Korespondenční adresa:

MUDr. Frgala Tomáš
Gynekologické odd.MOU, Žlutý kopec č.7, 65653 BRNO
e-mail: (frgala@mou.cz).

Došlo: 5. 4. 2007
Přijato: 15. 4. 2007

7. MEZINÁRODNÍ KONGRES JEDNODENNÍ CHIRURGIE

7TH INTERNATIONAL CONGRESS ON AMBULATORY SURGERY

NĚMEC L.
ODDĚLENÍ CHIRURGICKÉ ONKOLOGIE
MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV

Ve dnech 15. – 18. dubna 2007 jsem se v nizozemském Amsterdamu zúčastnil 7. mezinárodního kongresu IAAS (International Association for Ambulatory Surgery) věnovanému jednodenní chirurgii. Asociace IAAS má v současnosti šestnáct řádných členů, jimiž jsou národní chirurgické organizace z Evropy, Asie, Austrálie a Severní Ameriky. Není bez zajímavosti, že z bývalých zemí tzv. východního bloku je členem pouze polské *Polskie towarzystwo medycyny i chirurgii ambulatoryjnej*. Mezinárodní kongres IAAS se pořádá pravidelně po dvou letech – v roce 2005 proběhl ve španělské Seville, letos v Nizozemsku, následovat bude v roce 2009 Brisbane v Austrálii a v roce 2011 dánská Kodaň.

Jednodenní chirurgie (one day surgery, one day care, Tag-sklinik) se v posledních několika desetiletích významně rozvíjí napříč jednotlivými systémy zdravotnictví různých zemí. Krátkodobý nemocniční pobyt bez hospitalizace umožňuje strávit rekonvalescenci v domácím prostředí, minimalizuje riziko nozokomiální infekce a přináší finanční úsporu – vede k rychlejšímu zotavení operovaného pacienta a tím i ke zkrácení celkové doby jeho pracovní neschopnosti, je ale levnější i pro zdravotnické zařízení samotné, jemuž snižuje režijní náklady. Tolik tedy zahraniční zkušenosti, v setrvačných podmínkách českého prostředí tomu ale může být jinak: ke zkrácení délky pracovní neschopnosti nejsou praktičtí lékaři motivováni (ostatně mnozí pacienti také ne) a pro řadu nemocnic je operace bez hospitalizace finančně nevýhodná. Nastolený trend se ale přesto odráží i u nás a samostatná oddělení jednodenní chirurgie v českých zdravotnických zařízeních vznikají navzdory tomu, že jednání o koncepci jednodenní péče vedená Ministerstvem zdravotnictví, Českou lékařskou komorou, odbornými společnostmi a jednotlivými zdravotními pojišťovnami nejsou zdaleka ještě u konce.

Ale zpátky do Amsterdamu: odborný program probíhal v příjemném prostředí kongresového centra RAI (to je zkratka původního názvu bývalé továrny na bicykly, na jejímž místě bylo centrum vybudováno), kde 872 chirurgů, anesteziologů a zdravotních sester shlédlo v pěti sálech více než dvě stě odborných prezentací a téměř padesát posterů. Z praxe chirurgů a anesteziologů zabývajících se jedno-

denní péčí jednoznačně vyplývá, že s nárůstem zkušeností s odlišnou organizací péče o pacienta stoupá postupně i náročnost operačních výkonů, které je možno provádět bez hospitalizace. Kandidáti k jednodenní chirurgii jsou pochopitelně pečlivě vybíráni, zohledňován je jejich věk a komorbidita (optimálně ASA I-II). Spektrum operativy vhodné pro jednodenní chirurgii je široké: hernioplastiky včetně laparoskopických, laparoskopická cholecystektomie, appendektomie a adheziolýza, dále arthroscopie, operace varixů dolních končetin, operace plasticko-chirurgické, gynekologické (adnexektomie, sterilizace), endoskopické urologické výkony, operace proktologické, invazivní zákroky intervenční radiologie a invazivní endoskopické procedury. Na kongresu IAAS byly ale prezentovány i složitější operační výkony prováděné „ambulantně“, jako je například laparoskopická fundoplikace hiátové kýly, laparoskopická bariatrická chirurgie nebo chirurgie štítné žlázy.

Z onkochirurgické operativy byla největší pozornost věnována mamární chirurgii, v níž dochází k výraznému posunu směrem k jednodenní péči, dále byly prezentovány operace kožních nádorů, axilární a inguinální lymfadenektomie a endoskopické transanální operace časných stádií karcinomu rekta.

Diskutovalo se i o mnohých dalších tématech souvisejících s danou problematikou, jako je výživa ambulantního pacienta ve vztahu k pooperačním komplikacím (vhodnost vysokobílkovinné stravy v předoperačním období), strategie prevence trombembolické nemoci (jedna z dalších rezerv pro rozvoj jednodenní chirurgie u nás, neboť možnost ambulantní preskripce nízkomolekulárních heparinů je u nás velmi omezená) či pooperační analgézie (ukazuje se, že k běžnému tlumení pooperační bolesti dostačuje kombinace paracetamolu s nesteroidním antirevmatikem).

Organizátorům kongresu se velmi dobře podařilo skloubit odborný program se společenským a nám účastníkům přálo i na místní podmínky nezvykle pěkné počasí bez obvyklého deště. To jsme ocenili během plavby po městských vodních kanálech i v průběhu recepce na terase budovy amsterdamské opery, která stojí na nábreží řeky Amstel. Kongres vyvrcholil slavnostní večeří v zimní zahradě grandhotelu Krasnapolsky v samém centru města naproti Královskému paláci na náměstí Dam, kde jsme diskutovali, porovnávali své zkušenosti a utužovali mezinárodní vztahy nejen u slavnostní tabule, ale i na tanečním parketu. K tanci hrál orchestr v klasickém bigbandovém obsazení, mezi jehož členy bylo i několik amsterdamských lékařů, včetně jednoho onkologa. Ten hrál na altsaxofon, a vůbec ne špatně.

Slovenská onkologická spoločnosť
Slovenská lekárska spoločnosť
Spoločnosť SOLEN a časopis Onkológia
organizujú

BRATISLAVSKÉ ONKOLOGICKÉ DNI

XLIV. ročník

3. - 5. október 2007
City Hotel Bratislava, Bratislava

Hlavná téma:
Gynekologické malignity

Hlavná sekcia
streda 3. 10. 2007

- * **Inhibícia tyrozín-kinázovej aktivity a jej využitie v liečbe onkologických ochorení**
- prednáška je podporená z edukačného fondu spoločnosti PFIZER

štvrtok 4. 10. 2007

- * **Karcinóm ovária** - vyzvané prednášky
- * **Komplexná liečba karcinómu prsníka**
- * **Karcinóm krčku maternice** - vyzvané prednášky
- * **Karcinóm tela maternice** - vyzvané prednášky
- * **Nové možnosti v liečbe karcinómu prsníka**

piatok 5. 10. 2007

- * **Variá**
- * **Rozšírenie možností chemoterapie solídnych nádorov**
- * **Blok mladých onkológov**
- * **Vlastné práce** - nevyzvané prednášky

Sekcia pre zdravotné sestry

Prednášky pre zdravotné sestry - piatok v dopoludňajších hodinách

Prezident kongresu:
doc. MUDr. Jozef Mardiak, CSc.

Programový výbor:
MUDr. Jozef Šufliarsky, MUDr. Tibor Packáň, PhDr. Eva Baďuríková
Organizačné zabezpečenie: SOLEN, s.r.o., Lovinského 16, Bratislava

Mediálna podpora: časopis Onkológia

Aktívni účastníci - nevyžiadané prednášky, postre

Záujemcovia o zaradenie do sekcie Vlastné práce - nevyzvané prednášky alebo do bloku Variá a Bloku mladých onkológov sa môžu prihlásiť do **30. júna 2007** na adrese organizačného sekretariátu, resp. e-mailom na: malova@solen.sk.

Dôležité termíny:

- * Uzávierka prihlášok na aktívnu účasť: **30. jún 2007**
 - * Dodanie abstraktov aktívnych účastníkov: **15. júl 2007**
 - * Uzávierka prihlášok na pasívnu účasť: **28. september 2007**
 - * Uzávierka ubytovania (hradí si ho sám účastník na recepcii hotela): **3. september 2007**
- Koordinácia a organizačný sekretariát:** Michaela Malová, Solen, s.r.o., Lovinského 16,
811 04 Bratislava tel.: 02/ 5465 1385, fax: 02/ 5465 1384, mob.: 0911 906 599
e-mail: malova@solen.sk

ZÁPIS ZE SCHŮZE VÝBORU ČOS KONANÉ DNE 15.5.2007 V PRAZE V NEMOCNICI NA BULOVCE

Přítomni: Vorlíček, Abrahámová, Jelínková, Přibyllová, Stáhalová Eckschlager, Petruželka, Fínek, Aschermannová, Stankušová, Konopásek, Vyzula, Petera, Cwiertka

Omluveni: Rob

1. Před zahájením schůze navštívili prof. Vorlíček a prof. Abrahámová předsedu Ligy proti rakovině prof. MUDr. Z. Dienstbiera, DrSc. a projednali zášady další spolupráce mezi Ligou a výborem ČOS.
2. Schůzi zahájil předseda ČOS prof. Vorlíček a přivítal všechny přítomné.
3. Hostitelkou výboru byla MUDr. V. Stáhalová, primářka ÚRO Bulovka. Pozvala všechny členy výboru na odpolední slavnostní zahájení provozu nově instalovaných ozařovačů.
4. Kontrola zápisu z minulé schůze nevykázala žádné resty.
5. V Lékařských listech vyšly články věnované onkologii. Akci koordinoval doc. Konopásek, jemuž patří náš vřelý dík.
6. Onkologická sekce ČUS zastoupená prof. Pacíkem jednala úspěšně s prof. Vorlíčkem o vzájemné spolupráci na léčebných doporučeních v uroonkologii.
7. Výbor ČOS se jednomyslně usnesl na tom, že ustavená KOC/KOS mohou dělat všechny léčebné modalitky a používat veškeré dostupné léky. Vyvoláme jednání v uvedeném smyslu s pojišťovnami, zejména s VZP. Není známo, kdo pojmenoval tzv. pneumoonkologická centra, a to bez vědomí ČOS.
8. Ve čtvrtek 17.5. bude další schůzka s představiteli VZP, kde budou projednány další body týkající se úhrad onkologické péče.
9. MUDr. O. Přibyllová přednesla výsledky druhého kola voleb do výboru ČOS. Hlasovalo 201 členů, z toho bylo 182 platných hlasů.

Do výboru byli zvoleni:

Vorlíček, Petruželka, Fínek, Žaloudík, Vyzula, Cwiertka, Abrahámová, Petera, Bartoš, Felzl, Stáhalová.

Do revizní komise byli zvoleni:

Přibyllová, Aschermannová, Jelínková.

Zvolení členové, kteří jsou dnes nepřítomni, budou informováni dopisem s dotazem, zda se zvolením souhlasí. Všichni zvolení se zúčastní příští schůze výboru ČOS dne 19.6., kdy budou zvoleny funkce.

Zpráva volební komise je přílohou a nedílnou součástí tohoto zápisu.

10. Projednán dopis prof. Melichara, který žádal o potvrzení možnosti podávat Glivec u pacientů s GIST. Členové výboru se shodli na názoru, že je třeba uhájít možnost podávat tento lék v uvedené indikaci ve všech KOC/KOS.
11. Dopis z vědecké rady ČLK o školeních za úplaty. Výbor se jednohlasně shodl na názoru tento návrh ČLK jednoznačně odmítnout. Prof. Vorlíček napíše na ČLK dopis v tomto smyslu.
12. Diskuse na téma předatestačního vzdělávání, které je za úplaty. Tyto finanční částky vysílající pracoviště významně zatěžují.
13. Výbor zcela respektuje zásadní postavení chirurgie a chápe finanční poddimenzovanost oboru a podporujeme snahu Výboru chirurgie o nápravu v oblasti onkochirurgie. Jako možný dobrý příklad pro další postup v onkochirurgii může sloužit vytvoření center pracovišť pro onkologickou gynekologickou chirurgii.
14. Aviva – česká pobočka britské pojišťovny se obrátila na ČOS se žádostí o navázání spolupráce při skríníngu nádorů kolorekta a při pravidelných prohlídkách žen. Představitelé uvedené společnosti budou pozváni na schůzi výboru ČOS k vyjasnění stanovisek.
15. Výbor projednal a schválil záměr na zavedení „**Evidence ČOS pro nákladnou protinádorovou terapii**“ jako další krok, který má posílit pozici odborné společnosti při jednáních o plánování úhrad za protinádorovou terapii. Tento systém musí obsahovat pouze zcela minimální množství parametrů, aby nijak nezatěžoval provoz KOC/KOS. Systém musí být dojednaný tak, aby byl plně shodný s evidencí prosazovanou plátcí ZP. Jednotlivá centra budou tato data hlásit (evidovat) pouze jednou, nesmí dojít k opakovanému hlášení. K vytvoření systému je nutné zpracovat projektovou dokumentaci a provoz nastavit v souladu s platnými zákony. Výbor musí být dále o postupu v této věci informován. Jednáním a přípravou projektové dokumentace výbor pověřil doc. L. Duška, ředitelem Institutu biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity v Brně.
16. Prof. Klener poděkoval dopisem za blahopřání k životnímu jubileu a vyjádřil uznání výboru ČOS za jeho dosavadní práci.

17. Byli přijati noví členové:

Jméno:	Pracoviště:
Ing. Petr Brabec	Institut biostatistiky a analýz, MU – Brno
Mgr. Šárka Rožmanová	Hemato-onkologická klinika, FN Olomouc
Mgr. Beáta Katrincská	Hemato-onkologická klinika, FN Olomouc
Martina Divoká, Bc.	Hemato-onkologická klinika, FN Olomouc
MUDr. Vít Procházka	Hemato-onkologická klinika, FN Olomouc
MUDr. Tomáš Szotkowski	Hemato-onkologická klinika, FN Olomouc
MUDr. Marie Pecůchová	Hemato-onkologická klinika, FN Olomouc
MUDr. Antonín Hluší	Hemato-onkologická klinika, FN Olomouc
MUDr. Tomáš Papajík, CSc.	Hemato-onkologická klinika, FN Olomouc
MUDr. Šárka Lukešová	Onkologické odd., Nemocnice Náchod
MUDr. Michaela Nekolná	Klinika dětské hematologie a onkologie, FN Motol
MUDr. Jan Šebek	Klinická onkologie, Třebíč
MUDr. Marek Sochor	KN Liberec
MUDr. Marie Selerová, Ph.D.	Nemocnice Nový Jičín
MUDr. Simona Hollá	FN KV Praha
doc. MUDr. Roman Havlík, Ph.D.	I. Chirurgická klinika, FN Olomouc
MUDr. Jiřina Švecová	Onkologie, nemocnice Tábor
Mgr. Jan Mužík	Institut biostatistiky a analýz, MU – Brno

Příští schůze výboru ČOS bude 19.6.2007. Přesné místo konání bude sděleno.

Zapsala: prof. MUDr. Jitka Abrahámová, DrSc.

ZPRÁVA VOLEBNÍ KOMISE

Dne 15. 5. 2007 byly sečteny hlasy z 2. kola voleb do ČOS JEP

Výsledky voleb: Hlasovalo celkem 201 členů ČOS, platných hlasů 182

Výbor ČOS JEP:	počet hlasů	Revizní komise ČOS JEP:	počet hlasů
Vorlíček	130	Příbylová O.	114
Petruželka	111	Aschermannová	96
Fínek	108	Jelínková	92
Žaloudík	107		
Vyzula	93		
Cwierka	92		
Abrahámová	87		
Petera	83		
Bartoš	74		
Feltl	70		
Stáhalová	70		
Konopásek	69	Petráková	80
Kolářová	62	Eckschlager	73
Petráková	58		
Soumarová	56		
Stankušová	46		
Melichar	46		
Hajduch	44		
Krausová	41		
Svoboda T.	41		
Eckschlager	39		
Příbylová O.	33		

Všichni současní členové se svým zvolením a další práci ve výboru souhlasí, nově zvolení členové budou osloveni osobním dopisem se žádostí o písemný souhlas. Pokud dojde k situaci, že některý z nově zvolených zástupců souhlasit nebude, postupuje další kandidát podle počtu hlasů.

Nový a starý výbor ČOS JEP se sejde 19.6.2007, v tomto termínu proběhne i volba funkcionářů výboru.

MUDr. O. Příbylová
Za volební komisi
V Praze dne 18.5.2007

ZÁPIS Z JEDNÁNÍ VÝBORU ČESKÉ ONKOLOGICKÉ SPOLEČNOSTI KONANÉHO DNE 19. 6. 2007

Přítomni: výbor - Bartoš, Cwiertka, Feltl, Fínek, Petera, Petruželka, Stáhalová, Vorlíček, Vyzula, Žaloudík
revizní komise - Příbylová, Aschermannová, Jelínková
Omluveni: Abrahámová

Nový výbor zvolil v tajném hlasování funkcionáře ČOS:

Předseda:	prof. MUDr. Jiří Vorlíček, CSc.
Místopředseda:	doc. MUDr. Jindřich Fínek, Ph.D.
Vědecký sekretář:	doc. MUDr. Luboš Petruželka, CSc.
Pokladník:	MUDr. Karel Cwiertka, Ph.D.
Členové:	prof. MUDr. Jitka Abrahámová, DrSc. prim. MUDr. Jiří Bartoš prim. MUDr. David Feltl, Ph.D. doc. MUDr. Jiří Petera, Ph.D. prim. MUDr. Vladimíra Stáhalová prof. MUDr. Rostislav Vyzula, CSc. prof. MUDr. Jan Žaloudík, CSc.
Revizní komise:	prim. MUDr. Alexandra Aschermannová předsedkyně MUDr. Olga Příbylová prim. MUDr. Alena Jelínková

1. Prof. Vorlíček poděkoval za znovuzvolení předsedou výboru ČOS, krátce zhodnotil předchozí volební období a zahájil s chůzí nového výboru ČOS
2. Prof. Vorlíček informoval o dopise ředitele VZP MUDr. Horáka, kterým oznamuje, že byly rozeslány dodatky smluv Komplexním onkologickým centřům
3. 10. 7. 2006 bude probíhat na MZ ČR výběrové řízení na poskytování ústavní péče pro území Libereckého kraje. Za výbor ČOS se jednání zúčastní doc. MUDr. Petruželka, CSc.
4. Klinika dětské onkologie v Brně požádala výbor ČOS, aby byl na linku dán odkaz na toto pracoviště. Výbor souhlasí.

5. Nabídka časopisu „Postgraduální medicína“, aby u příležitosti BOD 2008 bylo celé číslo věnováno onkologii solidních nádorů. MUDr. Karel Cwiertka, Ph.D. byl výborem pověřen editováním tohoto čísla.
6. Pan Doležal z Britské životní pojišťovny Aviva nabízí výboru ČOS zprostředkování zkušenosti odborníků z Velké Británie týkající se skriningu kolorektálního karcinomu. S panem Doležalem se sejdou prof. Vorlíček a prof. Žaloudík a o výsledku jednání podají zprávu
7. Postgraduální vzdělávání v onkologii - dohodnuto, že téma bude diskutováno mezi ČOS, SROBF a dalšími odbornými společnostmi oborů, které řeší onkologickou problematiku - chirurgickými, diagnostickými - s cílem dohody mezi všemi zainteresovanými stranami a bude usilováno o konsensuální stanovisko. Prof. Vyzula v diskusi navrhoval zvážení společného onkologického základu pro interní onkologii (klinickou onkologii) a radiační onkologii a prof. Žaloudík navrhuje tzv. funkční specializace v onkologii pro diagnostické a chirurgické obory.
8. Výbor schválil přijetí nových členů ČOS: MUDr. Eva Kocmanová, MOÚ Brno
Mgr. Lucie Ondříčková, Medical Tribune
doc. MUDr. David Cibula, CSc., VFN Praha
doc. MUDr. Vladimír Visokai, Ph.D., FTN Praha
MUDr. Vladimíra Arnetová, FN Plzeň
9. Různé
Doc. Fínek informoval o tom, že na jednu akci lze vystavit pouze jeden cestovní příkaz - zaměstnavatelem člena výboru nebo ČOS
Prof. Žaloudík požádal výbor o podporu v jednání o financování onkologické péče v celém rozsahu, která by měla být diskutována se zvanými zástupci odborných společností, jejichž obory se podílejí na komplexní diagnostice a léčbě s vedoucími jednotlivých sekcí ČOS. Výbor souhlasí.
Prim. MUDr. A. Jelínková navrhuje diskusní platformu pro dotazy či problémy členů ČOS.

Termíny a místa konání výborů v roce 2007:

- 18. 9. 2007 OLÚ Pleš
- 16. 10. 2007 MOÚ Brno
- 13. 11. 2007 FN Hradec Králové
- 18. 12. 2007 VFN Praha

Zapsala: Stáhalová

SPRÁVA ZO SCHŮDZE VÝBORU SLOVENSKEJ ONKOLOGICKEJ SPOLOČNOSTI

Bratislava, Onkologický ústav sv. Alžbety, 18.4.2006

Přítomní: členovia výboru: Andrašina Igor, Bella Vladimír, Beržinec Peter, Bolješiková Elena, Koza Ivan, Makaiová Izabela, Mardiak Jozef, Packaň Tibor, Šálek Tomáš, Špánik Stanislav, Wagnerová Mária, členka revíznej komisie: Sorkovská Dagmar

Neprítomní - ospravedlnení: Kaušitz Juraj, Malec Vladimír, Šufliarsky Jozef

Členov výboru Slovenskej onkologickej spoločnosti (SOS) na pôde Onkologického ústavu sv. Alžbety privítal Prof. Špánik. Schôdza pokračovala pod vedením predsedu spoločnosti - Doc. Mardíaka.

MUDr. Bella informoval o prebiehajúcej revízii majetku SOS - definitívna správa bude na nasledujúcom stretnutí výboru.

Prebehla diskusia o možnostiach odberu časopisu Onkológia - výbor odporúča členom SOS odber časopisu individuálne.

Doc. Mardiak informoval o ponuke sponzorov pre Bratislavské onkologické dni. Výbor zvolil za hlavného sponzora Roche Slovensko, s.r.o., za sponzorov: Pfizer a Amgen. Rokovanie s ďalšími sponzormi povedie Doc. Mardiak.

Výbor žiada organizátorov odborných podujatí, ktorí sa uchádzajú o garanciu SOS, aby predložili svoje žiadosti a pracovné programy podujatí na druhý polrok 2007 do júna 2007.

Na požiadanie Doc. Wagnerovej výbor SOS súhlasí s vytvorením Sekcie geriatrickej onkológie.

MUDr. Malec poslal aktuálnu informáciu o Banskobystrických onkologických dňoch: termín: 15.-16. jún 2007, téma: Zriedkavejšie nádory GITu.

Doc. Mardiak informoval o žiadosti o spoluprácu pri príprave a distribúcii Referátového výberu z onkológie. Poskytnutie zoznamu členov SOS pre bezplatnú distribúciu časopisu bude konzultované z právneho hľadiska so SLS.

Výbor prijal ponuku Slovenskej spoločnosti pre farmakoeconomiku na spoluprácu pri farmakoeconomických štúdiách. Za SOS bude participovať Doc. Andrašina, Doc. Mardiak, MUDr. Šálek, Prof. Špánik, Doc. Wagnerová.

Vytvorená bola pracovná skupina na inováciu Koncepcie odboru klinická onkológia. Zloženie: Doc. Andrašina, Doc. Mardiak, Prof. Špánik.

Všeobecná zdravotná poisťovňa oslovila Doc. Mardia-ka a výbor SOS so žiadosťou o prípravu štandardných postupov. Výbor súhlasí za podmienky, že štandardné postupy budú vypracované komplexne od diagnostiky až po liečbu a žiada Všeobecnú zdravotnú poisťovňu, aby zorganizovala medziodborové stretnutie k tejto otázke.

Ďalšie stretnutie výboru bude 20. 6. 2007 v Košiciach.

Zapísal: Doc. MUDr. Peter Beržinec, CSc.

informace

Česká onkologická společnost ČLS JEP
Sekce paliativní medicíny při Společnosti pro studium a léčbu bolesti ČLS JEP
pořádají

XIII. brněnský den paliativní medicíny

Termín konání:

Čtvrtek 25. října 2007

Místo konání:

Kinosál Fakultní nemocnice Brno, pracoviště Bohunice, Jihlavská 20, 625 00 Brno

Konference je určena lékařům a sestrám všech oborů, kteří ve své praxi přicházejí do styku s nevléčitelně nemocnými a umírajícími pacienty

Hlavní témata

Obstrukční syndromy pokročilého onkologického onemocnění a jejich management

Malígní obstrukce: respiračního, digestivního, biliárního a uropoetického traktu

Paliativní péče o pacienta s pokročilým kolorektálním karcinomem

Možnosti a limity chemoterapie a biologické léčby

Nejčastější symptomy a jejich management

Stomie: zkušenosti, novinky, nejčastější komplikace a jejich řešení

Prognóza délky přežití v onkologii : klinické, etické a komunikační aspekty

Přihlášky

Přihlásit lze příspěvky charakteru výsledků klinické studie, zkušenosti vlastního pracoviště nebo kazuistiky.

Příspěvky je třeba zaslat do 30. 6. 2007

poštou na adresu: Marta Casková, IHOK, FN Brno, Jihlavská 20, 625 00 Brno
nebo elektronicky prostřednictvím stránky

Přihlášku k účasti je třeba zaslat písemně nebo elektronicky do 15. 9. 2007.

Vstup na konferenci bude volný. Registrace přihlášek je nutná z organizačních důvodů.

Akce bude hodnocena body ČLK a ČAS v rámci kontinuálního vzdělávání

Prof. MUDr. Pavel Klener, DrSc. jubilující

Naše laudatio je věnováno prof. MUDr. Pavlu Klenerovi, DrSc., výrazné osobnosti československé a posléze české medicíny, zejména pak onkologie. Prof. Klener se narodil 9. dubna 1937 v Bratislavě a dostal do vínku všestranný talent, pracovitost, lásku k rodině a k vlasti, smysl pro čest, skromnost a spravedlnost, ale i touhu po vědeckém poznání, což vše plně využívá při své každodenní práci ve prospěch nemocných, lékařského stavu i celé české společnosti.

Svoji profesionální dráhu začal studiem Fakulty všeobecného lékařství v Praze, kde v r. 1961 promoval. Lékařskou profesí začíná na 1. interní klinice pražské fakultní nemocnice. Postupně získává nejvyšší odbornou kvalifikaci v oborech vnitřní lékařství, hematologie a transfúzní služba, klinická onkologie a organizace a řízení zdravotnictví. V roce 1982 se habilituje a je jmenován docentem 2. interní kliniky FN a v roce 1988 získává vědecko-pedagogickou hodnost univerzitního profesora. Nedílnou součástí jeho každodenní péče o nemocné je vědecko-výzkumná práce, jejíž publikované výsledky byly podkladem pro získání hodnosti kandidáta věd a následně v r. 1986 i nejvyšší vědecké hodnosti doktora věd.

V jeho medicínských aktivitě dominuje problematika onkologie, zejména pak onkologická chemoterapie, které se věnuje již více než 30 roků. Je jeho zásluhou, že profileoval tento, dříve u nás opomíjený a značně roztržštěný obor do několika medicínských disciplín, do jednotlivých oborů klinické onkologie a vybudoval mezinárodně uznávaný systém postgraduálního vzdělávání v této interdisciplinární problematice.

V pedagogice se věnoval jak výuce na SZŠ, tak vedení praktik, stáží a seminářů pro mediky, pro které dosud vede přednášky. Významná je jeho činnost v postgraduálním vzdělávání, kde dosud přednáší v kurzech IPVZ. Jeho, snad nejcennějším vkladem pro rozvoj výuky onkologie je řada učebních textů pro mediky a monografie „Protinádorová terapie“, která se stala každodenním pracovním manuálem onkologů první linie a po právu byla oceněna Cenou ministra školství a získala i řadu dalších ocenění.

Príslovečný vědecký neklid prof. Klenera dokládá jeho výzkumná práce, jejíž výsledky přednáší na bezpočtu zahraničních kongresů a publikuje ve více než 256 odborných sděleních a 15 monografiích uveřejněných v domácím i zahraničním písemnictví. Je třeba akcentovat, že výzkumy prof. Klenera, zaměřené na optimalizaci onkologické chemoterapie, hodnocení účinků nových protinádorových chemoterapeutik a jejich kombinací, na projevy toxicity a možnosti její minimalizace přinesly světové vědě v oboru onkologie řadu významných poznatků a získaly mimořádné uznání v mezinárodní onkologické komunitě.

Vedle své náročné a úspěšné práce lékaře, vědeckého a pedagogického pracovníka se prof. Klener věnuje řadě aktivit na půdě akademické, kde v současné době zastává funkci prorektora UK pro vědu a prorektora editora. V průběhu celého odborného života se významně podílel a podílí na činnosti četných odborných společností. Je dlouholetým členem a vedoucím funkcionářem Onkologické, Hematologické a Internistické společnosti České lékařské společnosti J. E. Purkyně. Významná je i jeho činnost v zahraničních odborných společnostech, z nichž nutno jmenovat alespoň nejdůležitější: International Society of Hematology (ISH), American Society for Clinical Oncology (ASCO), Multinational Association for Supportive Care in Cancer (MASCC), European Association for Medical Oncology (ESMO), European Association for Cancer Research (EACR), European Association for Cancer Education (EACE). Dosavadním určitým završením jeho činnosti v odborných společnostech je členství v Učené společnosti ČR. Do této činnosti spadá i jeho členství ve dvou českých a čtyřech zahraničních redakčních radách odborných časopisů a stejně i mnohonásobné členství v organizačních výborech řady domácích symposií a kongresů a devíti specializovaných mezinárodních akcí tohoto druhu.

Prof. Klener, jako významná vědecká a pedagogická osobnost, se mimořádně uplatnil i v řadě veřejných činnostech z nichž je nutno vyzvednout jeho členství v „Executive Board WHO“ a v četných dalších komisích WHO (Drug Policy a UNICEF/WHO joint Committee) a funkci ministra zdravotnictví a sociálních věcí, kterou zastával v letech 1989-1990. Dále byl poslancem ČNR a členem výboru pro vědu a předsedou komise pro vědu, členem Rady vlády pro vědu, členem Komise pro vědu Parlamentu ČR. Za mimořádné společenské a odborné zásluhy byl v roce 2003 navržen vládní koalicí jako kandidát na funkci prezidenta ČR. S odbornou činností jsou spojena i četná ocenění, z nichž nejdůležitější jsou Cena ministra školství za vědu z roku 1997, Zlatá medaile Univerzity Karlovy z roku 1997 a Státní vyznamenání za zásluhy o stát v oblasti vědy udělené prezidentem republiky v roce 2003.

I když hlavní životní radostí prof. Klenera jsou jeho medicínské a společenské aktivity, pokud mu to jeho volný čas dovoluje, věnuje se četbě klasické literatury, péči o svoji chalupu v západočeské obci Dobřív a zejména pak, jako šťastný dědeček, relaxuje radostmi se svými dvěma vnoučaty.

Mimořádným dokladem osobnosti prof. Klenera a jeho charakteru je skutečnost, že zůstal věrný svým zásadám i v době nedávného společenského úpadku a že své pracovní výsledky a renomé dosáhl bez přizpůsobování politické situaci a bez ohnutí páteře před vrchností. Výčet všech společenských, odborných, vědeckých i pedagogických aktivit prof. Pavla Klenera je prakticky nekonečný a souhrnně lze říci, že v naší republice existuje jenom nepatrné množství tak vysoce angažovaných osobností s tak rozsáhlými zásluhami o rozvoj našich přírodních věd a našeho zdravotnictví.

Ad multos annos pane profesore, pane onkologu, pane mnohonásobný akademický funkcionáři, vážený příteli Pavle.

Jan Kovařík a Aleš Rejthar