

## TYMIDYLÁT SYNTÁZA A JEJÍ VÝZNAM V PREDIKTIVNÍ ONKOLOGII

### THYMIDYLATE SYNTHASE AND ITS SIGNIFICANCE IN PREDICTIVE ONCOLOGY

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

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

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

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

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

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

#### Význam prediktorů v onkologii a tymidylát syntáza jako prediktor léčebné odpovědi

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

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

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

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

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

### **Tymidylát syntáza a její funkce v buňce**

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

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

### **Tymidylát syntáza jako cílový enzym fluoropyrimidinových chemoterapeutik**

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

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

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

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

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

### **Expresí tymidylát syntázy v různých buňkách se navzájem výrazně liší**

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

### **Metody stanovení exprese tymidylát syntázy**

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

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

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

● **Stanovení exprese TS proteinu**

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

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

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

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

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

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

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

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

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

**Perspektivy prediktivní onkologie a individualizace onkologické léčby**

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

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

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

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

#### Literatura:

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

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

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

## knihy

### PRACTICAL GUIDE TO HUMAN CANCER GENETICS, SECOND EDITION

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

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

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

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

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

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

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

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

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