
klinická onkologie

1/2008

ROČNÍK / VOLUME 21

15. února 2008

VDÁVÁ / PUBLISHER
ČESKÁ LÉKAŘSKÁ SPOLEČNOST
J. E. PURKYNĚ
CZECH MEDICAL ASSOCIATION
J. E. PURKYNĚ
IČO 444359

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

REDAKCE / EDITORIAL OFFICE
Masarykův onkologický ústav Brno
Žlutý kopec č. 7
656 53 Brno

Sekretář redakce / Journal coordinator
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 / Issued six times a year
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
EXCERPTED IN BIBLIOGRAPHIA
MEDICA CZECH

ČASOPIS ČESKÉ ONKOLOGICKÉ SPOLEČNOSTI
A SLOVENSKEJ ONKOLOGICKEJ SPOLEČNOSTI

THE JOURNAL OF THE CZECH AND SLOVAK
ONCOLOGICAL SOCIETIES

VÝKONNÁ REDAKČNÍ RADA
MANAGING EDITORS

VEDOUCÍ REDAKTOR
EDITOR-IN-CHIEF

REJTHAR ALEŠ

VÝKONNÝ REDAKTOR
DEPUTY EDITOR

FAIT VUK

REDAKTOŘI
ASSOCIATE EDITORS

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
EDITORIAL BOARD

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
EDITORS EMERITI

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

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

EDITORIÁL	3
Vyzvaný článek	
Fait V. Sentinelová biopsie a možnosti využití v současné onkochirurgii	5
Původní práce	
Kovářová L., Michálek J., Kýr M., Penka M., Hájek R. Srovnání vybraných markerů dendritických buněk u zdravých dárců a pacientů s monoklonální gamapatií nejasného významu či mnohočetným myelomem.	20
Ševčík L., Klát J., Gráf P., Čuřík R., Kraft O., Dančíková Z. Lymfatické mapování u karcinomu čípku děložního	26
Kazuistika	
Pavelka Z., Brichtová E., Křen L., Skotáková J., Oltová A., Šlampa P., Zitterbart K., Štěrba J. Radioterapií indukovaný glioblastom u dítěte léčeného pro meduloblastom mozečku (kasuistika a přehled literatury)	31
Aktuality v onkologii	
Novák J. Zhoubná nádorová onemocnění prsu u mladých žen v České republice 1989-2004	35
Zprávy	
Čoupková I. Zpráva z konference- v San Antonio 13.-16.12.2007	37
Informace	39
Onkologické společnosti	41

EDITORIAL	3
Invited Article	
Fait V. Sentinel node biopsy and possibilities of use in current surgical oncology	5
Original publications	
Kovářová L., Michálek J., Kýr M., Penka M., Hájek R. Comparison of dendritic cells antigens in healthy volunteers and monoclonal gammopathy and/or multiple myeloma patients	20
Ševčík L., Klát J., Gráf P., Čuřík R., Kraft O., Dančíková Z. Lymphatic mapping in cervical cancer	26
Case report	
Pavelka Z., Brichtová E., Křen L., Skotáková J., Oltová A., Šlampa P., Zitterbart K., Štěrba J. Radiotherapy induced glioblastoma in a child previously treated for cerebellar medulloblastoma	31
Report	
Čoupková I. 30th Annual San Antonio Breast Cancer Symposium 13.-16.12.2007, San Antonio, USA –	37
Notifications	39
Oncological associations	41

EDITORIÁL

Vážení přátelé, kolegyně a kolegové,

dovolte abych vám v prvním letošním čísle Klinické onkologie ještě jednou popřál dobrý rok 2008, hodně zdraví, uspokojení v práci i v soukromém životě.

Rok byl opět bohatý na události i v oblasti zdravotnictví a tedy i klinické onkologie. Rád bych vám v krátkosti připomněl některé z nich, jak byly zaznamenány při jednání výboru ČOS.

Leden:

Firma GlaxoSmithKline vyhlásila grant pro 5 mladých onkologů na dvoutýdenní odbornou stáž v zahraničí dle vlastního výběru. Grant byl realizován a v letošním roce je naděje na jeho opakování za předem blíže specifikovaných podmínek. Pro časopis Remedia bylo pod patronací výboru připraveno několik článků, lékových profilů.

Na 14. kongresu internistické společnosti byl uspořádána sekce s onkologickou tematikou.

Výbor ČOS se připojil s výzvě Ligy proti rakovině k maximální podpoře Pařížské charty.

Zemřel jeden z nestorů české onkologie primář MUDr. et RNDr. Archimiro Caha, CSc., dlouhodobý zaměstnanec nynějšího MOÚ v Brně. Výbor uctil jeho památku.

Výbor ČOS nominoval MUDr. P. Tesařovou, CSc. z VFN v Praze a MUDr. J. Tomáška z FN Brno jako členy týmu pro onkologické přípravky SÚKL v Praze.

Stále narůstá rozsah i návštěvnost na www.linkos.cz. Byl dán k dispozici propagační leták a vizitky určené pro pacienty hlavně na onkologických ambulancích.

Únor:

Bylo rozhodnuto, že do každoroční publikace Zásady cytostatické léčby budou zařazeny dvě nové kapitoly: zásady podávání růstových faktorů a zásady antiemetické léčby v onkologii.

Doc. MUDr. Konopásek byl pověřen organizací psaní odborných článků z oblasti onkologie do přílohy ZN Lékařské listy.

Výbor rozhodl, že edukační program EUNI bude podporován na stránkách linkos.

Březen:

Na tiskové konferenci ČOS za účasti členů výboru a vedoucích KOC/KOS byla na programu tato témata: výsledky jednání ČOS s VZP, zřízení internetových stránek pro pacienty, které jsou umístěny na portále www.linkos.cz, činnost a význam KOC/KOS a jejich úzká spolupráce s ostatními onkology, pracujícími mimo tato centra.

Duben:

Došlo k podepsání dohody mezi ČOS a VZP (Dohoda o vzájemném porozumění). Ta byla podkladem pro další úspěšná jednání s VZP o hrazení drahé internistické onkologické léčby (biologická léčba, hormonální terapie). Jednou z důležitých zásad je, že financování půjde za pacientem.

Po jednání s představiteli České urologické společnosti bylo dohodnuto, že léčebné standardy pro jednotlivé diagnózy by se měli vytvářet společně se všemi zainteresovanými odbornými společnostmi a konsensuálně jimi přijaty.

Cenu výboru ČOS získala kniha Klinická onkologie pro sestry autorů Vorlíčka, Abrahamové a Vorlíčkové vydaná nakladatelstvím Grada.

Doc. MUDr. Fínek, pokladník ČOS, přednesl zprávu o hospodaření společnosti. Z následující zprávy revizní komise vyplývá, že členové uvedené komise se pravidelně zúčastňovali schůzí výboru ČOS a konstatovali, že rozhodování výboru bylo v souladu s právními předpisy i se Stanovami a ostatními předpisy ČLS JEP. Revizní komise zprávu o hospodaření schválila.

Květen:

Výbor ČOS se jednomyslně usnesl na tom, že ustanovená KOC/KOS mohou provádět všechny léčebné modality a používat všechny dostupné léky. Výboru není známá geneze vzniku tzv. pneumoonkologických center, která vznikla bez vědomí ČOS.

Výbor zcela respektuje zásadní postavení chirurgie v onkologii a vnímá finanční poddimenzovanost oboru. Podporuje snahu výboru České chirurgické společnosti o nápravu v této oblasti. Jako možný dobrý příklad pro další postup v onkochirurgii může sloužit vytvoření center pracovišť pro onkologickou gynekologickou chirurgii.

Výbor projednal a schválil záměr na zavedení „Evidence ČOS pro nákladnou protinádorovou terapii“ jako další krok, který má posílit pozici odborné společnosti při jednání o plánování úhrad za protinádorovou terapii.

Byla zveřejněna zpráva volební komise o volbě členů výboru ČOS. Složení nového výboru umožňuje kontinuitu jeho činnosti.

Červen:

Ředitel VZP dr. Horák informoval předsedu ČOS o rozeslání dodatků smluv všem KOC/KOS.

Časopis Postgraduální medicína nabídl, že u příležitosti Brněnských onkologických dnů 2008 vydá číslo věnované solidním nádorům. Dr. K. Cwiertka byl výborem pověřen editováním toho čísla.

Výbor opakovaně projednával problematiku postgraduálního vzdělávání v onkologii.

Prof. Žaloudík požádal výbor o podporu při 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 souhlasil s podporou.

Září:

Doc. Dušek navrhl založení odborné sekce ČOS – Sekce epidemiologie nádorů a zdravotnické informatiky. Výbor jednohlasně souhlasil.

Doc. Dušek informoval o kauze Eurocare-4, kdy byla za Českou republiku zaslána z ÚZIS nereprezentativní data bez konzultace s ČOS. Výbor pověřuje doc. Duška jednání s ÚZIS a s autory Eurocare-4 a doporučuje požádat o zastavení exportu nereprezentativních dat a navrhnout předání nových správných dat. Zástupci výboru budou o tomto problému jednat i s 1. náměstkem ministra zdravotnictví. V budoucnosti se podobná situace nesmí opakovat.

Prof. Abrahámová informovala o jednání z rady NOR, rozhodnutí ministra zdravotnictví nebudou financovány žádné registry, mají být financována řediteli jednotlivých institucí, kde se data sbírají. Výbor se shoduje na tom, že je jednoznačně třeba zachránit sběr dat NOR.

Vztah výboru ČOS k novému česko-slovenskému časopisu Onkologie je vstřícný, bere jeho existenci na vědomí a je rád, že časopis umožňuje širokou publikační aktivitu. Výbor ČOS neuvažuje o rozšíření svých garancí na tento časopis.

Výbor ČOS schvaluje vypracované standardy nutriční péče v onkologii.

Ríjen:

Výbor souhlasí s projektem Fúze dat VZP a NOR, návrh projektu vypracuje doc. Dušek.

Doc. Hajdúch předložil návrh koncepce referenčních laboratoří, výbor tuto snahu podporuje a očekává další průběžné informace a této aktivitě.

Výbor souhlasí s tím, aby Zásady cytostatické léčby maligních onemocnění byly v pravidelných intervalech aktualizovány. Změny budou zveřejněny na www.linkos.cz a budou zaslány do zdravotních pojišťoven. Písemná verze formou brožury bude i nadále vydávána jednou ročně.

Listopad:

Výbor ČOS stanovil nezávislou komisi k vyhodnocení návrhů a rozdělení prostředků z Běhu Terryho Foxe. Členy komise byli kolegové z pracovišť, která nepodala žádnou žádost o tento grant. Výsledky rozhodnutí komise byly zveřejněny.

ČOS se hlásí k trvalé spolupráci s Ligou proti rakovině.

Výbor ČOS podporuje vznik asociace ČARO (České asociace respiračních onemocnění).

Výbor podporuje vzdělávací program pro zaměstnance farmaceutických společností, participace ČOS je možná, koordinaci zajistí prof. Petruželka.

Prosinec:

Byla uspořádána tisková konference ČOS za účasti členů výboru a vedoucích KOC/KOS a zástupce MZ. Novináři byly informováni o pozitivním jednání s VZP o úhradách léků pro onkologickou péči v KOC/KOS na rok 2008. Výbor bude jednat i s ostatními zdravotními pojišťovnami. Dále výbor novináře seznámil s kritickou situací financování NOR a ohrožení sběru dat. Výbor vyjádřil nad touto situací vážné obavy a požádal zástupce MZ o pomoc v řešení této situace. Výbor byl ubezpečen, že MZ udělá potřebné kroky k záchraně NOR.

Tolik jen připomenutí některých informací o činnosti výboru České onkologické společnosti. Podrobné zápisy ze všech jednání výboru můžete najít v časopise Klinická onkologie a na www.linkos.cz.

Výbor ČOS děkuje touto cestou vedoucímu redaktorovi prof. MUDr. Alešovi Rejtharovi, CSc. a celé redakční radě za jejich práci pro časopis Klinická onkologie.

V letošním roce 2008 bude výbor nadále usilovat o plnění Národního onkologického programu, tak jak byl v minulém volebním období ustanoven.

V Brně 6. ledna 2008

Prof. MUDr. Jiří Vorlíček, CSc.

SENTINELOVÁ BIOPSIE A MOŽNOSTI VYUŽITÍ V SOUČASNÉ ONKOCHIRURGII

SENTINEL NODE BIOPSY AND POSSIBILITIES OF USE IN CURRENT SURGICAL ONCOLOGY

FAIT V.

MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV BRNO

Sentinelová biopsie, původně vyvinutá pro maligní melanom se postupně rozšířila do dalších oblastí onkochirurgie. Standardní procedurou se stala u melanomu a karcinomu prsu, jako velmi užitečná se ukazuje v oblasti kolorektálních nádorů. Možnosti použití jsou úspěšně zkoušeny napříč celou onkochirurgií, u nádorů GIT, urologických a gynekologických nádorů, svůj význam si nachází u nádorů hlavy a krku, nitrohrudních nádorů, ale i u nádorů štítné žlázy.

Klíčová slova: sentinelová biopsie, chirurgie, melanom, nádory prsu, kolorektální nádory.

Sentinel node biopsy originally developed for melanoma has gradually extended into further fields of surgical oncology. It became a standard procedure in melanoma and breast cancer, it appears to be a very helpful method in colorectal cancer. The possibilities of use are tested throughout all of surgical oncology in gastrointestinal, urological and gynecological tumors. It's importance can be displayed even in head and neck tumor, intrathoracical tumors and in thyroid cancer.

Key Words: Sentinel Lymph Node Biopsy, Surgery, Melanoma, Breast Neoplasms, Colorectal Neoplasms.

Úvod

Biopsie sentinelové uzliny se stala jedním z nejvýznamnějších pokroků onkochirurgie posledních desetiletí.

Vychází z principů, které jsou známy již velmi dlouho, a vysvětluje a potvrzuje pozorování známá již od nepaměti. Skutečnost, že nádory, které mají tendenci k lymfatickému metastazování, obvykle metastazují určitým směrem, do určitých oblastí, není ničím novým, nakonec dala vzniknout jak, již překonané, Virchowově lokoregionální teorii metastazování publikované v roce 1860, tak i základům onkologické chirurgie, a regionálních lymfadenektomií. Kromě regionálních lymfatických oblastí, jsou již dlouhou dobu pozorovány jednotlivé uzliny, obvykle anatomicky definovatelné, které jsou postiženy nejčastěji, nebo ve zvýšené míře (např. Sorgiusova uzlina u karcinomu prsu).

Představa o lymfatické drenáži kůže vychází z prací Sapeyových, který v roce 1843 popsal metodu mapování lymfatických cest na kadaverech pomocí injekcí rtuti (1) a v roce 1874 popsal hlavní drenážní cesty do axill a třísel, a popsal vertikální a horizontální zóny, v nichž spádové oblasti mezi sebou přecházejí. (2) Tyto tzv. Sapeyovy zóny jsou dodnes používány jako hrubá orientace pro lymfatický spád. Jejich rozsah byl poněkud upraven Hagensenem, který v roce 1972 tyto zóny rozšířil na 5 cm do obou stran. (3)

Samotná technika vitálního mapování lymfatických cest byla připravena již v první polovině 20. století. Byly to především práce Graye (1939) a Kinmontha (1952), které

umožnily kontrastní radiografii, která tvoří základ většiny znalostí o průběhu lymfatických cest. Mapování modrou barvou bylo mapování zahájeno Gerotou (1950). (4)

V roce 1950 Walker prvně využil radioaktivní nosič k mapování lymfatického spádu (5), následně Sherman (1953) vypracoval techniku lymfoscitografie s intradermální aplikací koloidu. K mapování bylo původně používáno koloidu zlata ¹⁹⁸Au, (6) které se ukázalo problematickým pro vysokou radiační zátěž místa vpichu a bylo později nahrazeno vhodnějším techneciem ^{99m}Tc. (72)

Popisy „strážných“ nebo „sentinelových“ uzlin se dají vystopovat již do začátku minulého století, byly objeveny zapomenuté práce Braithwaita z roku 1923, který se pokoušel experimentálně popsat lymfatickou drenáž v mesenteriu pomocí vitálního barviva, (4) dále byla objevena práce Gouda a spol., z roku 1960 (7), který anatomickou lokalizací popsal sentinelovou uzlinu u karcinomu průšně žlázy. Sentinelovou uzlinu prvně více do povědomí onkochirurgů vnesl Cabañas, který popsal sentinelovou uzlinu (a takto ji nazval) u karcinomu penisu v roce 1977. (8)

Bez ohledu na to, kdo poprvé použil termín „sentinelová uzlina“, hlavní podíl na prosazení konceptu měl Morton a spol., který tuto techniku vypracoval do prakticky dnešní podoby a především díky metodice peroperačního mapování lymfatických cest umožnil její použití prakticky v jakékoliv lokalizaci. (9, 10, 11, 12, 13)

Technika sentinelových biopsií v našem ústavu začala být zaváděna v roce 1994, a postupně se prosadila do dia-

gnostickoterapeutických protokolů maligního melanomu a karcinomu prsu, prozatím experimentálně je zkoušena u nádorů gastrointestinálního traktu a u gynekologických malignit.

Maligní melanom

Maligní melanom je znám svým sklonem k lymfatickému metastazování, a to nejen přímým metastazováním do regionálních uzlin, jak je běžné i u jiných solidních nádorů, ale i tvorbou metastáz v průběhu lymfatických cév, klinicky známých jako satelity a intrasinální metastázy, které se u jiných malignit objevují poměrně zřídka.

Tento fakt vedl ke snahám zařadit do léčebného schématu maligního melanomu rutinní (elektivní) disekci spádové lymfatické oblasti. Tato otázka zůstala kontroverzní téměř 100 let. Několik retrospektivních studií prokazovalo lepší přežití po rutinní disekci u pacientů bez klinického postižení regionálních uzlin. (14, 15) Prospektivní randomizované studie, které měly odpovědět na otázku, zda je tato disekce pro pacienty přínosem, eventuálně pro které pacienty však nikdy neprokázaly jasný benefit disekce proti sledování. Výsledky těchto studií vedly k doporučení strategie „watch and wait“. (16, 17, 18) Určité schizma však přetrvávalo, neboť studie kromě jiného prokázaly, že pacienti s klinicky detekabilní metastázou mají po disekci pravděpodobnost dlouhodobého přežití sniženu o 20-50 % oproti pacientům s klinicky nedetekabilní mikrometázou v disekátu.

Tento přetrvávající nedostatek vedl k plánování nových studií. Jedním z problémů, který se v těchto studiích vyskytl, byl výběr správné lymfatické oblasti pro elektivní disekci, především u melanomů, lokalizovaných na trupu, kde dlouhodobé sledování pacientů prokazovalo, že se nelze spolehnout na empirické dělení dle blízkosti jednotlivých oblastí.

Pro přesnější určení lymfatického spádu probíhaly lymfoscintigrafické studie, započaté v roce 1978 Fee a spol., který používal koloidu značeného ¹⁹⁸Au a prokázal, že lymfoscintigrafie je schopna velmi přesně určit potenciální metastatický spád melanomu. (19) Jedním z produktů tohoto výzkumu bylo, že si v jejichž průběhu si D. Morton a spol. povšimli, že prakticky vždy lze na scintigrafii nalézt jednu, nebo několik málo „horkých“ uzlin. Toto zjištění pak vedlo k úvaze o peroperačním zobrazení lymfatické cesty pomocí vitálního barviva a nalezení drénující uzliny/uzlin. (20, 10) Tento postup pak byl ověřen experimentálně na zvířecím (kočičím) modelu. Techniku dále vyzkoušel na souboru pacientů. Sentinelovou uzlinu našel v 194 z 237 vyšetřovaných oblastí (81 %) s 40 pozitivními nálezy (21 %). Současně po následných profylaktických disekcích našel pouze 2 pozitivní uzliny při nepřítomnosti pozitivivity v sentinelové uzlině. (9, 10, 11, 13)

Nelze pochopitelně opominout paralelu s výzkumem Cabañase, který k podobným závěrům u karcinomu penisu dospěl již o zhruba 20 let dříve, a který byl do nedávna považován za původce názvu sentinelová uzlina. (8) Nověji byla znovuobjevena práce Goulda a spol., kteří tento název použili již v roce 1960 u karcinomu průšního žlázy. (7)

Jak Gould, tak Cabañas však k určení sentinelové uzliny pro určitou oblast použili anatomickou lokalizaci.

Novátorství a zásadní přínos Mortona a spol. byl tedy především v použití funkčního peroperačního mapování, které umožnilo následné použití v prakticky každé lokalizaci tumoru.

Funkčnost metody byla opakovaně ověřena a dále zdokonalena použitím peroperační gamma sondy (21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30) pro zpřesnění i zjednodušení vyhledávání sentinelové uzliny. Po srovnání výhod jednotlivých metod je v současné době doporučována k vyhledávání sentinelových uzlin vždy kombinace obou metod.

Sentinelová biopsie byla původně vyvinuta jako minimálně invazivní technika, umožňující se vyhnout elektivní lymfadenektomii, se všemi jejími nepříznivými důsledky, u pacientů, bez postižení lymfatických uzlin. Velmi brzy se ukázalo, že možnosti sentinelové biopsie nejsou jenom zde, ale že také dokáže výrazně zlepšit přesnost uzlinového stagingu, což vedlo k tomu, že tato metoda začala být postupem doby zajímavá i v oblastech, kde rozhodnutí o nutnosti lymfadenektomie je podružným problémem (např. nádory kolorekta). (31, 32, 33).

Metodika vyhledávání sentinelové uzliny u maligního melanomu

Vyhledávání sentinelových uzlin u melanomu je metoda logická a dobře pochopitelná, a na první pohled i velmi jednoduchá. Jak však ukazují výsledky mnoha center včetně našeho, ke svému zvládnutí vyžaduje určitý čas (počet případů) i dobrou znalost chirurgie lymfatických metastáz včetně techniky radikálních disekcí jednotlivých lymfatických oblastí. Metoda by tedy měla být používána pouze v centrech s dostatečnou erudicí a množstvím pacientů a dostatečným technickým i personálním vybavením.

Indikace

Hlavní indikací k sentinelové biopsii je kožní maligní melanom s potenciálem lymfatického metastazování. Tento potenciál postrádají melanomy in situ (LMM, lentigo maligna melanom, M. Dubreuilh) a superficiální melanomy (SSM).

U nodulárních melanomů, superficiálních melanomů s nodularitou a akrolentiginosních melanomů je jednoznačně určení hranice obtížnější, obvykle se za hranici, kdy se riziko lymfatického metastazování významně zvyšuje, považuje tloušťka melanomu dle Breslow nad 1mm. (pT2 a více), tato hranice však není striktní a snižuje se až k 0,5mm.

V našem ústavu považujeme za indikaci k sentinelové biopsii v případě již odstraněné morfy hranici 1,0mm, s možností snížení u pacientů s vysokým rizikem nebo velmi mladých. V případě klinicky diagnostikovaných morfů, pak jakoukoliv klinickou známku nodularity nebo rozsáhlejší regrese. (34, 35)

Kontraindikace k sentinelové biopsii jsou povětšinou relativní, obvykle se jedná o velmi vysoký věk, vysoké riziko operace při relativně malém riziku diseminace, relativní kontraindikací jsou i stavy po velmi širokých excisích a především po lalokových plastikách, kdy je přesnost nálezu odpovídající sentinelové uzliny výrazně snížena, po-

dobně je relativní kontraindikací stav po lymfangoitidách nebo kožních zánětech blízké oblasti.

Lymfoscintigrafie

Lymfoscintigrafie probíhá na pracovišti nukleární medicíny pomocí ^{99m}Tc -koloidů. (^{99m}Tc je radionuklid s energií 140 Kev a poločasem rozpadu 6 hod.) Podle zvyklostí pracoviště je možno zvolit jednodenní nebo dvoudenní protokol – tedy lymfoscintigrafie i chirurgické řešení v jeden den, nebo lymfoscintigrafie první den a chirurgický zákrok druhý den.

Naše pracoviště dává z organizačních důvodů přednost jednodennímu protokolu. Oba protokoly jsou hodnoceny co do úspěšnosti stejně, jednodenní protokol má slabinu v relativně velkém radiačním pozadí, tedy menším kontrastu aktivních uzlin, dvoudenní protokol naopak může při horší kvalitě koloidu způsobovat označení i uzlin druhého řádu a tedy větší operační poškození pacienta a zátěž patologa, z pohledu chirurga pak může být problémem i nižší aktivita sentinelových uzlin.

Jednodenní protokol klade zvýšené nároky na organizaci práce a koordinaci činnosti oddělení nukleární medicíny a chirurga, optimální je při existenci pracoviště nukleární medicíny a chirurgie v jednom zařízení.

^{99m}Tc -koloid (preparát Nanocoll, koloid o velikosti částic 80nm) o aktivitě do 100 MBq v objemu 0,2ml se aplikuje intradermálně nebo subkutánně do okolí tumoru z jednoho nebo více vpichů podle velikosti morfy, následně je pomocí gamakamery sledován transport radiofarmaka lymfatickým řečištěm a jeho vychytávání v sentinelové uzlině nebo uzlinách. Transport je rychlý, v řádu minut je radionuklid deponován v regionální mízni uzlině, díky velikosti částic v ní setrvává hodiny, i když je pozorován i transport do vyšších etází. Přibližná poloha sentinelové uzliny je zakreslena na kůži. V případě, že nádor je lokalizován na „rozvodí“ mezi jednotlivými lymfatickými povodími, není neobvyklý záchyt dvou a více sentinelových uzlin v různých lymfatických povodích (např. obě axilly i obě inguiny při lokalizaci tumoru uprostřed zad).

Po zakreslení lokalizace sentinelové uzliny na kůži a popisu průběhu vyhledávání, odchází pacient na chirurgické oddělení a následuje chirurgický zákrok.



Obrázek 1: Aplikace patentní modří intradermálně k melanomu

Chirurgická fáze

Chirurgické vyhledání sentinelové uzliny probíhá za kombinace metody peroperačního mapování (barvení) a radionavigovaného vyhledávání, samostatně se v současné době tyto metody používají pouze v případech kompletní selhání druhé metodiky, nebo ve zcela specifických případech (například drobný melanom v obličeji, bez reexcise jizvy – použití barvení by mělo za následek dlouho přetrvávající tetováž).

Pro obě metody vyhledávání platí, že odstranění uzliny by mělo být co nejšetrnější, uzlina by měla být kompletní a bez zhmoždění. Kromě uzlin detekovaných barvivem a/ nebo radionavigací je vždy vhodné odstranit i případné uzliny jakkoliv makroskopicky suspektní.

Lokalizace sentinelových uzlin

Lokalizace sentinelových uzlin lze rozdělit na typické a atypické až raritní.

Typickými lokalitami, kde se nachází většina sentinelových uzlin pro trupové a končetinové melanomy jsou axilly a inguiny. Méně častou lokalitou, ovšem nikoliv raritní je lokalizace v oblasti zevních ilických uzlin. Velmi vzácnou lokalizací je pak popliteální oblast. U trupových melanomů je zvláštní, ale předvídatelnou lokalitou mezisvalová oblast lopatky – tato oblast je zajímavá kromě jiného tím, že při lymfoscintigrafii z pouze jedné projekce lze tuto uzlinu nesprávně lokalizovat do axilly.

Za zvláštní lokalizace považujeme také případy, kdy poměrně dobře lateralizovaná morfa (především na trupu) je drenovaná do kontralaterální oblasti.

Za raritní považujeme uzliny lokalizované zcela mimo obvyklá centra, například v podkoží trupu mimo lopatku, uzliny intramammární, eventuálně uzliny ležící při průběhu v. brachialis na paži – u melanomů lokalizovaných na předloktí.

Pro oblast hlavy a krku, ale i v některých případech pro horní část hrudníku jsou spádovými krční a nadklíčkové uzliny.

Lokalizaci sentinelové uzliny lze sice ve většině případů klinicky předvídat, vzácnější, vzácné i raritní lokalizace uzlin jsou však natolik časté, že na klinický úsudek se nelze spoléhat a předoperační lymfoscintigrafii je nutno považovat za *conditio sine qua non*. (36, 37) V této souvislosti stojí za zdůraznění velmi častá lokalizace melanomu mezi lopatkami nebo uprostřed zad, tedy stav kdy na základě empirie nelze lymfatický spád odhadnout.

Vyhledávání pomocí barviva

Prvním krokem je aplikace vitálního barviva do bezprostředního okolí melanomu nebo jizvy po excisi.

Teoreticky lze použít patentní modř nebo isosulfanovou modř, v našich podmínkách je dostupná pouze patentní modř, která má však výhodu v intenzivnějším zbarvení a lepším průniku. Následuje kožní incise při okraji lymfatické oblasti, určené lymfoscintografií, pokud možno v místě nejpravděpodobnějšího průběhu lymfatického kolektoru.

Postupně, opatrnou preparací je nutno nalézt zbarvený lymfatický kolektor, tento se obvykle nachází pod úrovní

Scarpovy fascie, nicméně není to absolutním pravidlem. Po nalezení je nutno kolektor sledovat směrem do lymfatické oblasti, po první zbarvenou uzlinu, kterou je nutno odstranit. Je nutno zdůraznit expozici kolektoru od okraje lymfatické oblasti po uzlinu, nelze se spolehnout na prosté nalezení zbarvené uzliny, neboť barvivo přechází do dalších uzlin a zbarvená uzlina nemusí být nutně sentinelová.

Posléze je nutno zkontrolovat, zda se nebarví další kolektor a eventuálně proces opakovat. (9, 38)



Obrázek 2: Zbarvená sentinelová uzlina s přívodným lymfatickým v tříšle

Vyhledávání pomocí radionavigace

Vyhledávání pomocí radionavigace využívá skutečnosti, že při správně zvolené velikosti částic radiokoloidu jsou tyto v lymfatické uzlině zachyceny a nepronikají dále, tedy že je výrazný rozdíl v aktivitě sentinelové uzliny a okolí včetně dalších uzlin. Není nutno (a ani nelze) sledovat lymfatický kolektor. Předoperačně je nutno vyhledat přibližnou lokalizaci sentinelové uzliny přes kůži pro nejvhodnější zvolení kožního řezu. Kožní řez lze zvolit přímo nad uzlinou, nicméně je vhodnější jej volit tak, aby jizva nepůsobila problémy při případné disekci této oblasti. Po proniknutí kůži je nejvhodnější postupovat tupou preparací přímo kolmo k depu maximální aktivity, za průběžné kontroly směru. Zde je velmi zásadní role asistence, neboť se operuje obvykle z velmi malého řezu, a mezi kontrolami směru je nutno zachovat ránu ve stejném postavení, i drobný posun háku může znamenat preparaci jiným, nesprávným směrem. Po nalezení uzliny je zapotřebí tuto opatrně odstranit, po odstranění je nutno znovu zkontrolovat její aktivitu ex vivo, sentinelová uzlina může být někdy méně nápadná uzlina ležící za touto uzlinou. Aktivita sentinelové uzliny ex vivo by měla být desetinásobná oproti aktivitě pozadí. Následně je nutno zkontrolovat, zda není v oblasti další uzlina s vysokou aktivitou, pokud je, je nutno ji také odstranit.

Vyhledávání kombinací metod

Jedná se o nejpoužívanější metodu, s nejvyšším procentem úspěšnosti a s nejnižší falešnou negativitou, a tedy v současnosti o jedinou, kterou lze doporučit k rutinnímu používání. (39) Metoda je kombinací obou přístupů a tedy záleží na okolnostech,

kteřý převažuje. Vzhledem k tomu, že rychlejší a na preparaci méně náročná je metodika radionavigační, obvykle její přístup převažuje, pravidlem je však preparace takovým způsobem, který umožní vizualizaci a preparaci nabarveného lymfatického uzla.

Z čistě technického pohledu je výhodou i to, že odstraňovaná uzlina je obvykle zbarvená, a existuje tedy lepší vizuální kontrola.

Patologické zpracování

Standardní technika

Barvívem označená, nativně (bez fixativa) dodaná lymfatická uzlina se zorientuje podle nejdelší osy a změří. Je-li o lymfatickou uzlinu o maximální tloušťce cca 3–4 mm a délce do 15 mm, je fixována vcelku.

Je-li uzlina objemnější, pak se v podélné ose rozdělí žiletkovým nožem řezem zastihujícím hilus obvykle na dvě stejné poloviny za účelem docílení optimální difúze fixačního roztoku, doporučovaná tloušťka řezu pro správnou difúzi fixativa za standardních podmínek by neměla přesáhnout 3–4 mm.

Další zpracování sentinelové uzliny následuje po fixaci neutrálním formalínem v časovém odstupu cca 20–24 hodin: uzlina se dělí v paralelně orientovaných řezech podél nejdelší osy, přičemž tloušťka jednotlivých řezů je v rozmezí 1–2 mm. Tyto řezy jsou pro zachování přesné orientace v lymfatické uzlině číslovány ve směru od jednoho okraje k druhému. Nejčastěji se získají z jedné sentinelové lymfatické uzliny tímto způsobem 2–4 řezy pro další histologické zpracování. Jedná-li se o větší lymfatickou uzlinu, jejíž podélný rozměr přesahuje 15 mm, je rozčleněn každý paralelní řez příčně na dvě části (značené a, b). Celá lymfatická uzlina je beze zbytku kompletně zpracována včetně perinodální tukové tkáně.

Po standardním zpracování v autotechnikonu jsou jednotlivé paralelní řezy zalaty do parafinových bloků. Z každého parafinového bloku se v první fázi hodnocení prohlížejí 3 standardní řezy, krájené v rozmezí 10–20 mikrometrů, o síle řezu 2–4 mikrometry, v základním barvení hematoxylinem-eosinem. V případě negativního, nebo nejasného nálezu se provádí na dalším následném řezu v každém parafinovém bloku imunohistochemické barvení s protilátkou Melan A. Pouze v indikovaných případech – nejasná reakce, agregáty neových buněk aj. – se využívá dalších protilátek, zvl. HMB-45, eventuálně S100P, Ki67. Je-li v lymfatické uzlině makroskopicky jednoznačně patrná metastáza, uzlina se zpracovává standardním způsobem podle její velikosti, obvykle 2 řezy, barvení hematoxylin-eosin.

Za pozitivní nález se považuje detekce 1 a více morfologicky nebo imunohistochemicky korelujících buněk v sentinelové lymfatické uzlině.

V případě, že výše uvedený způsob nenalezne metastázu, doplňuje se kompletní prořezání všech bloků po 100 μm s řezem a barvením hematoxylinem eosinem z každého plátku a imunohistochemickým barvením Melan A a S100 z každého pátého řezu.

Nadstandardní a experimentální metody

Metoda a koncept sentinelové uzliny znamená i poměrně velkou výzvu a příležitost pro výzkum v oblasti patologie a souvisejících oblastech zpracování tkání.

Bez ohledu na samotnou techniku jsou téměř všechny metody zaměřeny na co nejpřesnější vyhledávání mikrometastáz. (40)

Relativně nejjednodušším postupem je extenzivnější vyšetření uzliny. Je prokázáno, že čím tenčí jsou plátky, na které je uzlina rozdělena, tím větší je pravděpodobnost záchytu mikrometastázy – v podstatě je menší pravděpodobnost, že řez mikrometastázu může minout.

Ke zvýšení pravděpodobnosti záchytu mikrometastázy klasickým postupem lze využít další zúžení extenzivně vyšetřované oblasti (určení jakési „sentinelové oblasti“ v sentinelové uzlině). Každý, kdo se sentinelovými biopsiemi zabývá, zná velmi dobře situace, kdy je zbarven pouze jeden pól uzliny, eventuálně lze detekovat vyšší aktivitu v jedné oblasti větší uzliny, tyto oblasti jsou pochopitelně oblastí, kde lymfa ze spádové oblasti prvně vniká do uzliny, a zde je zcela v souladu s konceptem sentinelové uzliny vyšší pravděpodobnost záchytu metastáz. Určení oblasti pomocí vitálního barviva není vhodné, neboť se pohybuje poměrně rychle a difusí proniká dále i během transportu na patologii. Podobný problém je s radionuklidem, i když zde existuje jistá možnost využít autoradiografie.

Jedna z možností jak dále zpřesnit výsledky byla navržena Haighem, který doporučuje do běžného lymfatického barviva přidávat karbonové částice, které se vychytávají v lymfatické uzlině. V tomto případě pak patolog může doplnit další potvrzení o tom, že vyšetřovaná uzlina je skutečně sentinelovou. (41) Tento postup není šířeji přijat, kromě jiného i pro problémy, které s sebou nese použití karbonových barviv.

Další možností je využívání většího spektra imunohistochemických vyšetření, včetně možnosti in situ hybridizací. (42)

Kvalitativně jinou možností je vyšetření metodikou reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) na přítomnost mRNA, charakteristické pro metastatický melanom. Nejčastěji je využívána mRNA pro tyrosinázu, která se vyskytuje především v metastatickém melanomu (43), ale i v névocytech a Schwannových buňkách. Výhodou tohoto postupu je extrémně vysoká citlivost metody, klinické studie odpovídají tomu, že skutečně pacienti s RT-PCR pozitivní sentinelovou uzlinou mají vyšší pravděpodobnost relapsu, nevýhodou je to, že část uzliny, využitá pro toto vyšetření nemůže být vyšetřena histologicky, a tedy neexistuje morfologický korelát. Další nevýhodou je to, že pozitivní reakci mohou vykazovat i fragmenty buněk, které nemají metastatický potenciál a pochopitelně i nenádorové buňky, které mají přítomnu tuto molekulu, konkrétně u tyrosinázy naevové buňky, které jsou v uzlinách nezdědkou přítomny (a dokonce mohou někdy být místem vzniku melanomu přímo v uzlině).

Samostatnou problematikou pak může být hodnocení rozsahu metastatického postižení v sentinelové uzlině, které opět může mít, a zdá se, že i skutečně má, vliv na prognózu pacienta.

Hodnocení výsledků a klinický dopad

Stav sentinelové uzliny určuje s vysokou přesností stav regionálních lymfatických uzlin a je schopna zachytit uzlinové regionální metastázy s nejvyšší přesností. Vyšší přesnost detekce regionálních metastáz má pochopitelně

vliv i na celkové zpřesnění stagingu a prognózy pacienta. V této souvislosti je nutno zdůraznit, že ačkoliv je stav regionálních uzlin jedním z nejdůležitějších prognostických faktorů, není jediným, a tedy negativní nález v sentinelové uzlině neznámá automaticky dobrou prognózu, a není schopen vyloučit haematogenní metastazování.

Pozitivita sentinelové uzliny, bez ohledu na samotnou velikost metastázy (jakkoliv může být zajímavá) je vždy indikací ke kompletní disekci (lymfadenektomii) příslušné lymfatické oblasti. Je třeba zdůraznit, že právě pacienti, u nichž je sentinelovou biopsií odhalena klinicky latentní metastáza, a tedy podstoupí disekci, z metody sentinelové biopsie nejvíce profitují.

Potřebnost disekce postižené lymfatické oblasti v případě pozitivní sentinelové uzliny nebyla kontrolována randomizovanou studií, nicméně přímo vyplývá z dříve proběhlých randomizovaných studií s elektivní disekcí. Tyto studie nikdy přesvědčivě neprokázaly přínos elektivní disekce při přítomnosti klinicky nedetekabilních metastáz. Některé studie však prokázaly jasný přínos jak v době přežití, tak v bezpříznakovém období, u pacientů s latentními uzlinovými metastázami ve srovnání s pacienty, kteří disekci podstoupili až při klinické manifestaci uzlinových metastáz. (16, 44)

Jistým problémem může být pozitivní nález v atypicky uložené uzlině mimo regionální uzliny, v těchto řídkých případech je nutno postupovat individuálně.

Pozitivita sentinelové uzliny dále znamená posun (upstaging) v klasifikaci nádoru a tedy je významným faktorem při indikaci adjuvantní systémové terapie. (34, 35)

Relativně raritní jsou případy histologicky nejednoznačných nádorů, u nichž stav sentinelové uzliny může pomoci určit charakter léze, jedná se někdy i o nejasné pigmentové tumory v dětském věku.

Doporučení pro praxi

Koncept sentinelové biopsie byl sice prvně zaveden u karcinomu penisu, nicméně teprve zavedení, nebo spíše znovobjevení pro maligní melanom, učinilo z této techniky významný fenomén současné onkochirurgie. Znamenalo i určitý posun v chápání dynamiky nádorového onemocnění i vysvětlení některých problémů minulosti. (Například tzv. „skip metastázy“) Jako každý pokrok, přinesl i některé nové otázky – jednou z nich je třeba to, kdy lze shluk nádorových buněk již skutečně pokládat za metastázu.

Tyto změny se kromě jiného odrazily i v nové TNM klasifikaci, která s diagnostikou sentinelových uzlin již přímo počítá.

Technika a vyšetřování sentinelových uzlin vyžaduje odpovídající vybavení i zkušenost. Z toho vyplývá nutnost jisté centralizace. Pacient s důvodným podezřením na melanom by měl být vždy odeslán na specializované pracoviště, které nabízí i sentinelové biopsie. Velká část melanomů je však diagnostikována až histologicky po odstranění nesupponované pigmentové morfy. Zde je důrazným doporučením tyto morfy zásadně neodstraňovat s velkým „bezpečnostním“ lemem a především při potvrzení melanomu, a to i v případě nekompletní exscize, nedoresekovávat, ale odeslat na specializované pracoviště.

Aplikace sentinelové biopsie u jiných malignit

Sentinelová biopsie se ukazuje jako velmi logické a funkční vyšetření, které umožňuje minimalizovat poškození pacienta při maximu získaných informací a při zachování radikality. Pochopitelně se velmi brzy po zavedení u melanomu začaly objevovat snahy metodu zavést i u jiných typů nádorů. Metoda byla vyzkoušena prakticky u všech běžnějších typů solidních nádorů s lymfatickým šířením. Ve většině případů je metoda funkční, pochopitelně jsou rozdíly v možnostech technických, v možnostech interpretace výsledků a tedy i v celkovém významu metody v jednotlivých oblastech. (44)

Jiné kožní nádory

Kožní nádory jsou poměrně pestrá skupina nádorů, s rozdílným biologickým chováním i terapeutickými odpověďmi.

Indikací k sentinelové biopsii u jiných kožních nádorů jsou především agresivnější typy spinocelulárního kožního karcinomu u mladších pacientů (typickým příkladem mohou být spinocelulární karcinomy vzniklé v terénu psoriázy, obzvláště po terapii cytostatiky), eventuálně raritní nádory s nejasným biologickým chováním, kde údaj o případném lymfatickém metastazování může být zásadním přínosem i pro určení typu nádoru. Zde je nutno zmínit především některé juvenilní pigmentové nádory nebo blue naevy s histologicky nejasným biologickým chováním. Jako indikace k sentinelové biopsii bývají dále uváděny adnexální kožní karcinomy a karcinom z Merkelových buněk. (45, 46, 47)

Vcelku logické je použití u jiných kožních nádorů, které mají pravidelné lymfatické metastazování. V úvahu přichází na prvním místě spinocelulární karcinom. Jeho metastatický potenciál je však ve většině případů poměrně malý, navíc typicky se objevuje spíše ve značně pokročilém věku. K sentinelové biopsii tedy obvykle indikujeme pouze případy nádorů u mladším věku, u nádorů s průměrem nad 2 cm, u pacientů imunoprimovaných nebo při invazi nádoru do hlubokých struktur.

Podobný postoj je třeba zaujímat u adnexálních kožních nádorů.

Za téměř obligátní indikaci je považován karcinom z Merkelových buněk, který je znám častým lymfatickým metastazováním. Gupta et al. vypracoval metaanalýzu publikovaných případů kombinovanou s vlastními zkušenostmi. U 122 pacientů bez klinické přítomnosti uzlinového postižení sentinelová biopsie odhalila v 39 případech (32 %) uzlinové metastázy, po 3 letech bylo procento relapsů u pacientů s pozitivní uzlinou trojnásobné oproti pacientům s uzlinou negativní. U pacientů s pozitivitou a s následnou adjuvantní terapií uzlinového postižení bylo 3leté bezpříznakové období 51 %, oproti 0 % u pacientů bez další léčby, u pacientů s negativní sentinelovou uzlinou pak rozdíl v bezpříznakovém 3letém období byl nesignifikantní (90 % versus 70 %). Sentinelovou biopsii u karcinomu z Merkelových buněk je tedy vhodné považovat za standardní řešení. (47)

Sentinelová biopsie u nemelanomových nádorů kůže po technické stránce odpovídá malignímu melanomu. Její interpretace je podobná, pozitivita znamená indikaci k disekci posti-

žené regionální lymfatické oblasti, může být indikací k adjuvantní chemoterapii. U karcinomu z Merkelových buněk pak kromě disekce oblasti je vhodné i její ozáření.

Karcinom prsu

Karcinom prsu patří ve vyspělých zemích k nejčastějším onkologickým onemocněním žen. Každé zlepšení léčebných výsledků, ale i snížení výskytu nežádoucích účinků je tedy společensky a ekonomicky velmi zajímavé. Možnost v příznivých případech opustit obligátní disekci axilly byla proto nesmírně lákavá a těsně po prvních úspěších sentinelových biopsií u melanomu se objevily pokusy aplikovat metodu u karcinomu prsu. (48, 49) Tyto prokázaly vhodnost tohoto postupu a v současnosti je karcinom prsu nejčastější indikací pro sentinelovou biopsii vůbec. (111)

Indikace

Indikací pro sentinelovou biopsii u karcinomu prsu jsou v současné době verifikované invazivní a high grade intraduktální karcinomy prsu o velikosti do 4 cm, s ultrasonograficky negativním nálezem v axille, bez známek vzdálené disseminace. Jak ukazují vícečetné studie, velikost tumoru nemusí být limitujícím faktorem pro sentinelovou biopsii. (50, 51, 52, 53)

Původní předpoklady, že tumory v různých částech prsu jsou drénovány do různých uzlin, se nepotvrdily a tedy i multicentrický výskyt není v současnosti považován za kontraindikaci k sentinelové biopsii. (54, 55, 56, 57, 58, 59, 60)

Použití sentinelové biopsie u duktálního karcinomu in situ (DCIS), afekce, která by neměla zakládat metastázy je určitým způsobem kontroverzní, nicméně filosofie použití je v těchto případech vedena klinickou zkušeností, která ukazuje, že při průkazu DCIS z punkční biopsie je v nezanedbatelném počtu případů v definitivním histologickém vyšetření celého preparátu zachycena invaze. Výsledkem sentinelové biopsie v těchto případech zjednodušuje další rozhodování, navíc mnohdy je nutné pro DCIS použít poměrně rozsáhlé resekce i mastektomie, kdy by následná sentinelová biopsie již nebyla možná a pacientka by musela podstoupit disekci axilly. (61)

Zvláštní kapitolou jsou možnosti použití v kombinaci s neo-adjuvancí, tato indikace prozatím není všeobecně přijatá, ale dosavadní výsledky ukazují funkčnost i v těchto případech. (62), byť přesnost je zjevně o něco nižší.

Technika

Sentinelová biopsie u karcinomu prsu je po technické stránce velmi podobná postupu u maligního melanomu. Rozdíl je v technice aplikace radiokoloidu a barviva. Zatímco u melanomu je aplikace jednoznačně vhodná intradermálně do bezprostředního okolí tumoru, u karcinomu prsu přetrvávají jisté rozpory o nejvhodnějším způsobu aplikace. (63, 64)

Technika se poměrně rychle rozšířila a v současné době je používána většinou pracovišť, která se systematictější chirurgií karcinomu prsu zabývají. (65, 66, 67, 68, 69, 70)

Nejlogičtější, a pravděpodobně i nejsprávnější je aplikace do bezprostředního okolí tumoru, intraparenchymatálně.

Další možností je aplikace intradermálně nad tumor. Výhodou je rychlejší a výraznější označení sentinelové uzliny v axille, hlavní nevýhodou je větší možnost minulé extraaxilárního spádu. Ukazuje se, že ve většině případů je prakticky celý prs drénován do stejných uzlin, bez ohledu na umístění tumoru a tedy další možností je aplikace periareolárně. Tento postup opět má extraaxilární (tedy především parasternální uzliny), je však možností pro použití u multicentrických nádorů.

Randomizovaná studie Povoski et. al, která srovnává metody aplikace, u 414 pacientek, s nejlepším výsledkem u intradermální aplikace (především co do rychlosti a jistoty nálezu), nález extraaxilárních uzlin byl méně častý, nicméně ne statisticky významně. (71)

Stejně jako u melanomu, vzhledem k tomu, že pozitivita sentinelové uzliny je indikací k disekci, existuje u karcinomu prsu jistý rozpor o vhodnosti peroperačního vyšetření sentinelové uzliny. Některé instituce dávají přednost peroperačnímu vyšetření, ať již formou otiskové cytologie, nebo rozpůlením uzliny a vyšetřením zmrzlého řezu. Nutností je pochopitelně následné doplnění definitivního sériového zpracování uzliny. Výhodou tohoto postupu je okamžitý výsledek, a tedy možnost doplnění disekce axilly v jedné době. Udává se, že až 80 % metastáz v sentinelové uzlině může být nalezeno tímto postupem. (72) Nevýhody tohoto postupu jsou jak v menší přesnosti zmrzlého řezu i cytologie, větší náročnosti pro patologa, ale i v tom, že především zmrzlým řezem je možno znehodnotit část uzliny. K jasnému rozhodnutí je nutno vždy vyčkat na definitivní výsledek, který se může od původního nálezu lišit.

Tento problém řeší přístup. Vialeho, který peroperačně sériově prořezává celou uzlinu včetně imunohistochemických barvení. Tento postup skutečně je schopen dodat definitivní nález během operace, kompletní vyšetření však znamená intenzivní hodinovou práci několika patologů. (73)

Jiné, včetně našeho ústavu, dávají přednost kompletnímu definitivnímu zpracování a eventuálnímu doplnění disekce v druhé době. Odpadají tím výše zmíněné problémy, nevýhodou je pochopitelně nutnost doplňování disekcí v druhé době. Hlavní výhoda je ovšem v organizační rovině a v plánování operativy. Při použití peroperačního vyšetření je nutno k běžnému operačnímu času přičíst dobu nutnou k vyšetření a při pozitivním nálezu pak disekci. Operační čas se pak stává zcela neodhadnutelným.

Interpretace

Karcinom prsu je na rozdíl od maligního melanomu radio i chemosenzitivní a tedy sentinelovou biopsií lze zde chápat především jako stagingovou proceduru. Pozitivita sentinelové uzliny by tedy nemusela nutně znamenat jednoznačnou indikaci k disekci.

Dosavadní strategie na většině pracovišť v těchto případech s disekcí jednoznačně počítá, do budoucna zde ale velmi pravděpodobně nastane posun. (74) Důkazem je publikovaný nomogram pro stanovení nutnosti disekce (75), který je v současné době opakovaně validován na mnoha pracovištích, validační studie v současné době probíhá i v MOÚ. (76, 77, 78).

Pozitivita sentinelové uzliny nicméně jednoznačně znamená indikaci adjuvantní systémové terapie.

Dalším přínosem sentinelové biopsie u karcinomu prsu je zohlednění možné extraaxilární lymfatické drenáže, která byla od doby ústupu od superradikálních mastektomií prakticky úplně opomíjena.

Současný stav

Postavení techniky sentinelové biopsie u karcinomu prsu lze charakterizovat jako metodu, která se víceméně stává standardem. Prozatím existují jisté rozpory v některých indikacích, především u větších tumorů, dále při multifokalitě a multicentricitě, další spornou indikací je stav po neoadjuvantní chemoterapii. (62). Na základě literárních i vlastních zkušeností je možno konstatovat, že většina původních kontraindikací pro sentinelovou biopsii prsu postupně odpadá, a do budoucna bude možno nabízet tuto techniku všem pacientkám bez makroskopicky prokazatelných uzlinových metastáz.

Jistým problémem zůstává standardizace postupu se zajištěním srovnatelné kvality na všech pracovištích, v současné době řešený tvorbou závazných doporučení.

Gynekologické malignity

V gynekologické oblasti mají sklon k lymfatickému metastazování karcinomy vulvy, karcinomy čípku děložního a děložního těla. Problematika relativně vzácného karcinomu vulvy je díky své anatomické lokalizaci velmi podobná nádorům penisu a kůže, epidemiologicky výrazně závažnější nádory čípku a těla děložního jsou naopak v jistých ohledech specifické.

Karcinom vulvy

Standardem terapie časného karcinomu vulvy je široká lokální exscize a jedno nebo oboustranná inguinofemorální disekce. Existuje shoda v tom, že disekce je nutná u pacientek s klinicky přítomnými metastázami. Při klinicky a paraklinicky nedetekabilních metastázách zůstává 20 % pravděpodobnost postižení lymfatických uzlin. Tedy až 80 % pacientek s klinicky nedetekabilními metastázami disekci podstoupí zbytečně. Disekce inguiny přitom patří mezi lymfadenektomie s největší pooperační morbiditou, ať již časnou (obtížné, mnohdy sekundární hojení, serosní sekrece, infekty), tak dlouhodobou (otoky, neuropatie). Snaha o zavedení techniky sentinelových biopsií v této oblasti je plně na místě, hlavním problémem jsou relativně malé počty pacientek a tedy pomalé ověřování.

Technika v podstatě odpovídá technice u maligního melanomu, tedy peritumorální intradermální nebo intramucosální aplikace jak radiofarmaka, tak následně barviva, předoperační lymfoscintigrafie a vyhledání uzliny nejlépe s kombinací metod.

Vzhledem k jednoduchosti lymfatického systému v této oblasti je křivka učení velmi příznivá, úspěšnost vyhledávání je prakticky 100 %, falešná negativita se pohybuje kolem 3 %. (79)

Zavedení této metody jako standardu by bylo poměrně logickým krokem, nicméně vzhledem k všeobecně malým počtům případů je její potvrzení spíše vzdálené.



Obrázek 3: Parasternální sentinelová uzlina u karcinomu prsu

Karcinom čípku děložního

Standardním postupem u karcinomu čípku děložního v I. stádiu je radikální hysterectomie s lymfadenektomií. Radikální hysterectomie s lymfadenektomií je poměrně velkou a časově náročnou operací, a tedy možnost opuštění lymfadenektomie v indikovaných případech je poměrně lákavá, i když negativní následky této lymfadenektomie nejsou tak výrazné, jako v jiných oblastech. Navíc, karcinom čípku děložního není výjimečný i u velmi mladých žen, které ještě plánují graviditu. Možnost přesného lymfatického stagingu bez nutnosti radikální operace je z tohoto pohledu ještě zajímavější.

Samotná detekce sentinelových uzlin u karcinomu čípku je možná za pomoci barviva, radiofarmaka (nebo kombinace). Samotná detekce je možná z laparotomie i laparoskopicky (80), pokud je používáno barvivo, je nutné jej aplikovat až po zpřehlednění terénu, tedy až po založení kapnoperitonea a zavedení laparoskopických nástrojů, nebo po laparotomii a eventuálním uvolnění srůstů. Úspěšnost nálezu se pohybuje dle použité techniky a pracoviště od 80 do 95 %, falešná negativita je prozatím vysoká, až kolem 15 %. (81, 82)

Jakkoliv je technika prozatím ve stavu, kdy ji lze doporučit pouze jako experimentální, a prozatím nelze doporučovat při negativním nálezu opuštění disekce, možnost fertilitu zachovávajícího řešení však vede některé autory k tomu, že tuto možnost, za předpokladu zevrubného informování pacientky, již klinicky využívají. (82)

Karcinom endometria

Karcinom endometria patří mezi nejčastější nádory u žen vůbec, je častější u postmenopausálních pacientek, typicky v 6. a 7. decenniu, velmi často (až typicky) za přítomnosti obezity, diabetu a dalších přidružených onemocnění, výrazně znesnadňujících chirurgické řešení. Standardní léčbou lokoregionálního onemocnění je radikální hysterectomie s oboustrannou adnexektomií, peritoneální laváží a pánevní lymfadenektomií. Kontroverzní je role paraaortální lymfadenektomie. Podle literárních údajů se přibližně 50 % postižených lymfatických uzlin nachází v oblasti pánve, ale postižení pelvických a paraaortálních uzlin současně se vyskytuje až ve 30 % případů.

Kompletní pelvická a paraaortální lymfadenektomie je

spojena s prodloužením operačního výkonu, větší krevní ztrátou, vyšší frekvencí operačních a pooperačních komplikací ve smyslu krvácení, poranění cév a močového traktu, ileosního stavu a lymfedému. Ve snaze o minimalizaci uvedených komplikací u často polymorbidních a obézních pacientek je snaha definovat pacientky s pozitivitou high-risk faktorů, u kterých je indikován kompletní operační výkon včetně paraaortální lymfadenektomie. Mezi prognostické faktory vysokého rizika patří G3, hluboká invaze myometria, postižení lymfatických uzlin, prorůstání nádoru do čípku, serosní papilární a clear-cell karcinom. I přes racionální selekci, u více než poloviny high-risk pacientek nejsou nakonec metastaticky postižené lymfatické uzliny nalezeny. (83, 84)

Snaha o využití sentinelové biopsie v této oblasti je tedy pochopitelná, techniky jsou prozatím ve vývoji. K detekci je možno použít jak barvení vitálním barvivem, tak radioizotopem, relativně největší jsou rozdíly ve způsobu aplikace.

První byly pokusy aplikovat patentní modř subserosně do myometria, ať již laparoskopicky nebo laparotomicky (85, 86, 87, 80, 88), s úspěšností nálezu zhruba 63 %, při kombinaci aplikace subserosně do oblasti fundu a cervixu se úspěšnost zvýšila na 83 %. (20, 89) Při aplikaci kombinace barviva a radiokoloidu do oblasti cervixu se úspěšnost zvýšila až na 100 %, metoda však není považována za vhodnou pro nerespektování anatomického uložení tumoru. Další možností je transcervikální aplikace do myometria, úspěšnost nálezu při použití této metody je 79 %. (90) V současnosti je považována za nejvhodnější aplikace hysteroskopickou cestou, peritumorálně, při použití této metody lze dosahovat až 100 % úspěšnosti nálezu, autoři udávají současně i nulovou falešnou negativitu. (91, 92, 93)

Metoda prozatím vyžaduje další dopracování a validaci, nicméně i v této oblasti ji lze považovat za minimálně slibnou.

Urologické malignity

Karcinom penisu

Karcinom penisu patří u nás mezi poměrně vzácné nádory, nejčastěji se jedná o spinocelulární karcinomy. Jak chování, tak terapii této malignity lze zhruba přirovnat k agresivní formě spinocelulárního kožního karcinomu.

V terapii časného stádia se uplatňuje především chirurgické odstranění primárního nádoru, ať již omezené, nebo i kompletní amputací. Při prokázaném postižení regionálních lymfatických uzlin je indikována disekce inguin. Diskutována byla opakovaně elektivní disekce, s podobnými výsledky jako u kožních nádorů.

Historie sentinelových biopsií u karcinomu penisu je spojena s jménem Cabañase, který je považován za jednoho z otců celého konceptu sentinelové biopsie. Na základě průzkumu 100 případů pokročilejších tumorů za využití lymfangiogramů, anatomických disekcí a mikroskopických studií, byl schopen označit sentinelovou uzlinu, která byla definována anatomickou polohou při v. epigastrica superficialis inferior. Následně udělal 46 sentinelových biopsií touto metodou (s následnou disekcí), u 15 pacientů byla sentinelová uzlina pozitivní.

Z těchto 15 pacientů, u 12 byla tato uzlina jedinou pozitivní. Jeho doporučením bylo tedy odstranění pouze této jediné uzliny bilaterálně, a při negativitě další chirurgickou terapii nedoporučoval. (8)

Vzhledem k poměrně vágní definici sentinelové uzliny, ale i díky relativní exotičnosti onemocnění tato technika poněkud zapadla a nebyla šířeji přijata.

Po vzkříšení pojmu sentinelové uzliny Mortonem byla metoda u karcinomu penisu opět znovu zavedena, nyní již pochopitelně s využitím lymfoscintigrafie a peroperačního mapování vitálním barvivem.

Existují dvě větší studie, Horenblasova s 55 pacienty, s disekcí pouze u 11 pacientů s pozitivní sentinelovou uzlinou a s jedním regionální relapsem u pacienta s negativní sentinelovou uzlinou po 22 měsících (94), a Valdes Olmosova se 77 pacienty, úspěšností nálezu 97 %. 22 % sentinelových uzlin bylo pozitivních, po 28 měsících se objevily 2 regionální relapsy u pacientů s negativní sentinelovou uzlinou. (95)

Naše zkušenosti v této topice jsou pochopitelně pouze minimální, celkem se jednalo o 3 pacienty ve velmi dlouhém časovém období, tedy vyhledávání bylo u dvou pouze pomocí barvení po lymfoscintigrafii, jednou se jednalo o kombinaci, uzliny byly vždy nalezeny bilaterálně a lokalizaci odpovídaly Cabañasově popisu. Uzliny byl vždy negativní, pacienti jsou ve sledování.

Metoda u karcinomu penisu je logická a funkční, vzhledem k relativně malým počtům pacientů a studií je prozatím považována za experimentální.

Karcinom močového měchýře

Karcinom močového měchýře velikosti T2 a více má poměrně vysokou schopnost zakládat lymfatické metastázy. Do možností jeho terapie patří především chirurgické odstranění, nejčastěji formou radikální cystectomie, provázené pánevní lymfadenektomií.

Pánevní lymfadenektomie je dobře propracována a její přítomnost při radikální cystectomii zásadně nemění funkční výsledky operace. Zavedení sentinelové biopsie na první pohled tedy nepřináší jednoznačný zisk, zvláště v situaci, kdy samotné uzliny jsou před odstraněním měchýře poměrně obtížně přístupné.

Metoda nicméně je ve zkoušení a přináší poměrně zajímavé poznatky.

K aplikaci radioaktivního koloidu i barviva je používána aplikace peritumorosně cestou cystoskopie. Využívána je lymfoscintigrafie, samotné vyhledávání je pak peroperační s využitím sondy i barviva. Publikované studie vždy zahrnovaly i současnou standardní lymfadenektomii. Úspěšnost nálezů je cca 85-87 %, hlášena je prozatím poměrně vysoká falešná negativita (19 %), z klinického pohledu je zajímavý poměrně vysoký podíl sentinelových uzlin, nalezených mimo oblast standardního rozsahu lymfadenektomie. (96, 97, 98)

Karcinom prostaty

Pánevní lymfadenektomie u karcinomu prostaty může být součástí radikální prostatektomie u lokalizovaných tumorů, eventuálně jí může předcházet, s výhodou v laparoskopické podobě. Nález pozitivních uzlin při této lymfadenektomii

pak může znamenat odstoupení od radikální prostatektomie a volbu méně traumatizující paliativní terapie. Využití sentinelové biopsie pak může pochopitelně nejen zmenšit rozsah lymfadenektomie, ale také zpřesnit staging. (99)

Samotná technika se prozatím vyvíjí, obvykle se využívá aplikace radiokoloidu pod sonografickou kontrolou, s následnou lymfoscintografií, a vyhledáváním pomocí gamma sondy, lépe v laparoskopické modifikaci. Prozatímní výsledky ukazují poměrně vysokou úspěšnost nálezu, cca 89 %. Poměrně vysoké procento sentinelových uzlin, cca 45 % se vyskytuje v oblastech mimo obvyklou profylaktickou disekci. Sensitivita vyšetření regionálních uzlin se za použití sentinelové biopsie může zvýšit oproti konvenční lymfadenektomii z 81 % na cca 96 %. (100, 101)

Metodu u karcinomu prostaty je nutné prozatím také považovat za experimentální, nicméně především pro variabilitu lymfatické drenáže může být výrazným přínosem především pro staging.

Nádory gastrointestinálního traktu

Karcinom jícnu

Podobně jako u jiných tumorů i u karcinomu jícnu je prokázáno, především japonskými autory, že resekce spojené s rozšířenou lymfadenektomií vedou k lepším léčebným výsledkům. Tato rozšířená lymfadenektomie však kromě výrazného prodloužení operační doby znamená i zvýšenou pooperační morbiditu i dlouhodobé problémy.

Pochopitelnou snahou je i v této indikaci použít sentinelové biopsie jako klíče k tomu, kteří pacienti mohou z rozšířené lymfadenektomie benefitovat, ale i jako vodítko pro indikaci adjuvantní terapie.

Vzhledem k tomu, že pro vizualizaci je zapotřebí mobilizace jícnu, je barvení vitálním barvivem téměř nepoužitelné. Je tedy nutnou použít aplikace radiokoloidu endoskopickou technikou, samotná drenáž může být do oblasti cervikální, thoracální i abdominální, tedy je vhodné doplnění lymfoscintigrafie předoperačně a dle této samotná explorace. K vyhledání uzlin lze s výhodou využít endoskopických operačních technik a endoskopické scintilační sondy. (102, 103, 104)

Předběžné výsledky ukazují, že sentinelová biopsie je schopna ukázat stav regionálních uzlin v 69-100 %. Většina studií je poměrně malých s poměrně heterogenním stavem pacientů, takže definitivní zhodnocení této metody u karcinomu jícnu prozatím není možné, je doporučeno ji považovat za experimentální, vhodnou pro studie. (105)

Karcinom žaludku

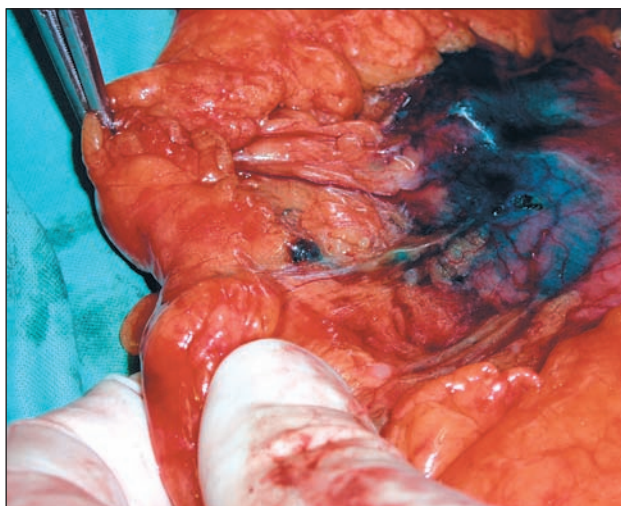
Stav lymfatických uzlin je u karcinomu žaludku nejdůležitějším prognostickým faktorem pro přežití. (106) Při přítomnosti lymfatických metastáz je jako nejvhodnější přístup doporučována resekce s rozšířenou lymfadenektomií (D2 resekce). Vyšetření stavu uzlin předoperačně je poměrně nepřesné, Hloubka invaze tumoru také není jednoznačným prediktorem postižení uzlin, T1 tumory mají až v 15 % postiženy lymfatické uzliny a dokonce T1a nádory, postižující pouze mukosu, mají 2 % pravděpodobnost postižení regionálních uzlin.

Sentinelová biopsie u karcinomu žaludku byla popsána skupinou v John Wayne Institute v roce 2000. Sentinelová

biopsie je používána k zlepšení stagingu a jako vodítko k indikaci rozšíření lymfadenektomie. Jelikož více než 38 % karcinomů žaludku metastazuje prvně do jiných než perigastrických uzlin, stává se sentinelová uzlina vítaným vodítkem k plánování rozsahu jak lymfadenektomie, tak i samotné resekce. Vzhledem k tomu, že u operací pro karcinom žaludku je odložená lymfadenektomie prakticky nemožná, je pro hodnocení stavu uzliny vhodné použití peroperačního vyšetření. Toto vyšetření může ve vhodných případech zjednodušit operaci i snížit pooperační morbiditu, spojenou s lymfadenektomií. Sentinelová biopsie i u karcinomu žaludku může pochopitelně zlepšit i výběr pacientů pro adjuvantní terapii, jejímž hlavním indikačním kritériem je i zde postižení regionálních uzlin. (107, 108, 109, 110).

Technicky je nejčastěji používána peroperační aplikace barviva, použití radiokoloidu je pochopitelně možné a výhodné, při jeho použití je možná i předoperační aplikace cestou gastroscopie. (111) Vyhledávání uzliny je pochopitelně možné jak laparotomickou, tak i laparoskopickou cestou. (112)

Úspěšnost nálezů je hlášena od 94-100 % se sensitivitou cca 85 %. Metodu je nutno v této indikaci považovat za stále experimentální, probíhají multicentrické studie k validaci. (113, 114, 115)



Obrázek 4: Sentinelová uzlina u karcinomu žaludku

Karcinom tračníku

Přesnost lymfatického stagingu u kolorektálního karcinomu je závislá na počtu vyšetřených lymfatických uzlin. Zvyšování počtu vyšetřených uzlin u pacientů s negativními uzlinami souvisí se zlepšeným přežitím a snížením počtu relapsů. (116, 117, 118) Vysvětlení tohoto fenoménu tkví v tom, že čím více uzlin je vyšetřeno, tím je větší pravděpodobnost zachycení, byť i velmi malých, metastáz. Tento efekt migrace stádia může zlepšovat přežití dokonalejším výběrem pacientů pro adjuvantní terapii, včetně těch, u nichž by méně extensivní vyšetření metastázy neprokázalo. Adjuvantní terapie kolorektálního karcinomu u pacientů s lymfatickou metastázou prokazuje benefit i v oblasti přežití. Tedy nedokonalý staging může mít poměrně dramatický efekt na přežití pacienta. Určitou možností je i aplikace adjuvantní terapie u II. stádia (tedy

lokálně pokročilejší tumor bez metastázy v uzlině), nicméně skutečně jednoznačnou indikací je pouze pozitivita uzliny.

Použití a technika sentinelových biopsií u nádorů colon je nejlépe prostudovanou oblastí po nádorech prsu a melanomu.

Vzhledem k tomu, že nejsou známy žádné zásadní problémy, které by byly spojeny rozsahem lymfadenektomie u resekci tračníku, důvodem k použití sentinelové biopsie je primárně identifikace uzlin s největší pravděpodobností metastatického postižení pro co nejpřesnější staging. (119, 120, 121, 122, 123, 110)

Technika identifikace se pochopitelně poněkud liší od techniky u melanomu. K identifikaci uzliny lze opět použít jak vitálního barviva, tak radiokoloidu, popsáno je také použití fluoresceinu při UV osvětlení operačního pole. (124) Vzhledem k tomu, že ve většině případů je možno přímým pohledem sledovat cestu od tumoru až k uzlině v celém rozsahu, obvykle se dává přednost použití vitálního barviva. Barvivo je možno aplikovat peroperačně subserosně do okolí tumoru (0,5.1ml), (ať již při otevřené operaci nebo laparoskopicky) nebo kolposkopicky. Barvivo postupuje obvykle velmi rychle, a během 30–60 sekund dosahuje sentinelovou uzlinu. K jejímu vyhledávání je třeba vizualizovat lymfatický kolektor v celém rozsahu až k uzlině. Uzlinu je možno odstranit a odeslat patologovi samostatně, nebo v preparátu jasně označit stehy nebo klipy. Samotná resekce pak probíhá standardním způsobem, vždy by měly být odstraněny všechny zbarvené uzliny (sentinelový řetězec). Jakkoliv je resekce standardní, umístění sentinelové uzliny může rozsah resekce částečně modifikovat v případech, kdy sentinelová uzlina je mimo obvyklou oblast resekce mesenteria, (až 8 % případů). (125)

Existuje i alternativní možnost detekce sentinelové uzliny, popsaná Wongem, tzv. ex vivo mapování. (126) Tuto techniku lze použít jak primárně, tak v případech neúspěchu peroperačního mapování. Technika využívá skutečnosti, že při resekci colon je odstraněn tumor i s lymfatickou spádovou oblastí v jednom celku. Metoda je aplikována na resekát, do okolí tumoru se subserosně aplikuje vitální barvivo, obvykle v několikanásobné dávce (1-2ml). Barvivo je pak sledováno stejným způsobem a stejně je označena sentinelová uzlina. (127)

Již první práce o sentinelové biopsii u karcinomu colon popisovaly vysokou úspěšnost a přesnost od 70 do 100 %. (124) V současnosti většina autorů udává úspěšnost nad 90 % a přesnost přibližně 90 %. Předběžné výsledky prospektivní multicentrické studie pod vedením John Wayne Cancer Institute prokazují 100 % úspěšnost s 88 % sensitivitou. Tato studie pak prokazuje upstaging při cíleném vyšetření 24 %. Tato hodnota pak ukazuje množství pacientů se zvýšeným rizikem relapsu a vhodností adjuvantní terapie, kteří by nebyli konvenčním vyšetřením identifikováni. (128, 129)

Karcinom rekta

Sentinelová biopsie u karcinomu rekta je podobná tračníku, jak v technice, tak v cílech. Problémy vznikají především při extraperitoneálním uložení tumoru, kdy je nutno prvně přerušit mesocolon. Úspěšnost vyhledávání může být až 91 %, nicméně problémy může působit zhusta po-

užívaná neoadjuvantní chemoradioterapie a radioterapie, v těchto případech úspěšnost klesá až na 40 %. (130)
Techniku u karcinomu rekta je nutno považovat za pomocnou, a v žádném případě ji nelze považovat za náhradu za totální mesorektální exscisi.

Další topiky

Nádory hlavy a krku

Jakkoliv v oblasti nádorů hlavy a krku, konkrétně nádorů příušní žlázy, byl pravděpodobně termín sentinelová uzlina prvně použita (7), zůstává sentinelová biopsie v této oblasti stále spíše v počátečním stádiu.

Podobně jako u jiných nádorů s vyjádřeným lymfatickým metastazováním, i u převážně spinocelulárních karcinomů v této oblasti, je stav lymfatických uzlin hlavním prognostickým faktorem, a potažmo i hlavním indikačním kritériem pro adjuvantní terapii.

Zobrazovací vyšetření jsou schopna klinicky nehmáté uzlinové metastázy detekovat cca v 70 % případů. Tedy téměř 30 % riziko okultních regionálních metastáz je důvodem pro standardní používání elektivní krční disekce. Velmi závažné důsledky radikálních krčních disekcí (dalo by se říci disekci sentinelových oblastí) na topografickoanatomickém podkladě, které jsou schopny okultní metastázy detekovat s poměrně vysokou přesností a výrazně nižší morbiditou.

Možnost selektivních disekcí s relativně malou morbiditou a současně velmi složitý lymfatický systém v oblasti hlavy a krku, vedly k tomu, že pravidelnější používání sentinelových biopsií v této oblasti je zaváděno výrazně pomaleji.

K úspěšnému vyhledávání sentinelových uzlin v této oblasti je naprosto nezbytností lymfoscintigrafie, použití peroperační scintilační sondy a lépe i peroperační aplikace lymfotropního barviva. V této oblasti je také nutno očekávat výrazně delší křivku učení, než ve většině jiných oblastí.

Prozatímní výsledky proběhlých studií prokazují až 97 % úspěšnost nálezu sentinelové uzliny, s falešnou negativitou kolem 4 % (až 20 %). (131, 132, 133)

Karcinom štítné žlázy

Klinicky nedetekabilní uzlinové metastázy u karcinomu štítné žlázy jsou poměrně časté. Jejich prognostický význam je však značně variabilní, podle histologického typu a věku pacienta. U pacientů vysokého rizika, především diferencovaného karcinomu u pacientů nad 45 let věku a u medulárního karcinomu, je stav regionálních uzlin z hlediska prognózy a plánování terapie zajímavý, a odstranění postižených uzlin může mít terapeutický efekt.

Špičková pracoviště proto u těchto pacientů kromě lobektomie či thyreoidektomie doplňují centrální a horní mediastinální krční disekci (level VI a VII). Tato disekce zahrnuje i pretracheální, paratracheální a prelaryngeální uzliny. Ačkoliv tento rozsah disekce zahrnuje většinu běžných lymfatických metastáz z této oblasti, jsou popisovány variace v lymfatické drenáži mimo tyto oblasti. (134, 135)

Přidání identifikace sentinelové uzliny kromě jiného v těchto případech především umožňuje identifikaci lymfatického spádu mimo centrální oblast krku. Případná možnost vynechání disekce v případech negativity by pak pochopitelně mohla snížit výskyt hypoparthyroidismu a poškození n. recurrens, které jsou při disekcích častější.

Prozatím bylo publikováno několik spíše pilotních studií, které prokazují, že stav sentinelové uzliny je schopen předikovat stav dalších uzlin v oblasti s přesností 80-100 %. Úspěšnost nálezu je kolem 90 %. (136, 137, 135)

K vyhledávání je možno použít opět jak barvivo, tak radiokoloid, s aplikací do maligního uzlu, použití radiokoloidu je ztíženo blízkostí uzlin místu aplikace a tedy tzv. „shine-through“ fenoménu.

Sentinelová biopsie u karcinomu štítné žlázy není a pravděpodobně dlouho nebude standardem, prozatím je spíše chápána jako doplňující metoda, která je schopna zpřesnit výsledky standardní disekce.

Bronchogenní karcinom

Nemalobuněčný bronchogenní karcinom, je přes svoji vysokou incidenci operován v relativně malém počtu. Operabilní nádory však mají poměrně velkou šanci na dlouhodobé přežití.

Standardem chirurgické léčby je lobektomie, provázená disekcí mediastinálních uzlin. Přes poměrně dobrou prognózu časného, operabilního tumoru, je procento relapsů u T1 N0 pacientů 20-50 %. Navíc, pětileté přežití výrazně kolísá podle pracoviště, a tedy pravděpodobně souvisí z rozsahem lymfadenektomie.

Jakkoliv je mediastinální lymfadenektomie považována za zlatý standard jak pro terapii, tak pro staging, existují jisté rozpory o její nutnosti a rozsahu.

Z důvodů jak případného opuštění kompletní lymfadenektomie, tak z důvodu možnosti extenzivního vyšetření uzliny s největší možností lymfatické metastázy je i v této oblasti zkoušena sentinelová biopsie. (138, 139, 140)

První zpráva o této technice pochází od Little a spol. z roku 1999, s použitím isosulfanové modři s původní úspěšností pouze 46 %, (141) další zprávy pak referují i o použití radiokoloidu a kombinace. Úspěšnost většiny autorů se pohybuje od 80-100 %, hlášeny jsou velmi nízké falešné negativity.

Paradoxně problematičtější metodou je vyhledávání pomocí radiokoloidu, což je způsobenou anatomickou lokalizací procesu. Zatímco aplikace modři probíhá peroperačně a sledování zbarveného lymfatika respektuje anatomii, aplikace radiokoloidu musí probíhat předoperačně transthorakální punkcí nebo bronchoskopicky, včetně možných komplikací, a směřování pomocí sondy nemusí vždy respektovat anatomii. (139)

Metodiku u bronchogenního karcinomu je opět nutno považovat za experimentální.

Závěr

Sentinelová biopsie se stala prakticky standardní součástí diagnostiky a terapie maligního melanomu a karcinomu prsu, i když trvají spory o některé indikace, a především přináší některé nové otázky pro interpretaci, typickou otázkou je jak hodnotit, a jak reagovat na mikrometastázy nebo dokonce nález izolovaných buněk, podobnou otáz-

kou je pak interpretace například nálezů při hodnocení pomocí PCR. Nadále trvá postup metody do dalších oblastí, jak rozšiřováním spektra indikací v zavedených oblastech (DCIS u prsu, stavy po neoadjuvanci etc.), ale i snaha o zavedení v dosud málo probádaných oblastech, příkladem může být v poslední době dutina ústní (142)

Stav sentinelové uzliny umožňuje s vysokou přesností určit stav regionálních uzlin a tak vyčlenit pacienty, kteří mohou mít prospěch z regionální disekce a naopak vypustit regionální disekci u pacientů, pro které by znamenala pouze zhoršení kvality života.

Stav sentinelové uzliny je možno považovat za prognostický faktor, jedná se v podstatě o velmi přesně určený stav

uzlin, ukazuje se, že jistou prognostickou hodnotu má nejen samotné postižení uzliny, ale i velikost postižení.

Pravděpodobnost postižení sentinelové uzliny je v mnoha topikách přímo závislá na velikosti tumoru, velikost tumoru je pochopitelně samostatným, velmi silným prognostickým faktorem, především u pacientů s negativní uzlinou, při pozitivitě sentinelové uzliny již velikost tumoru v prognóze obvykle není podstatná, stav sentinelové uzliny je však ve většině topik indikací k podání adjuvantní systémove terapie, a tuto potřebu je sentinelová biopsie schopna prokázat s vyšší přesností než běžné disekce.

Podpořeno výzkumným záměrem MZOMOU 2005

Literatura

- Sappey MPC. Injection, preparation et conservation des vaisseaux lymphatic. Thesis. Paris, 1843.
- Sappey MPC. Anatomie, physiologie, pathologie des vaisseaux lymphatiques consideres chez l'homme at les vertebres. In A. DeLahaye, E. Lecrosnier (eds.). Paris, 1874.
- Haagensen CD, Frond CR, Berger FP, Slanetz CA Jr., Weinberg, JA. Lymphatics of the trunk. In Haagensen, CD. (ed.) The lymphatics in cancer. Philadelphia: WB Saunders, 1972, p. 437-458.
- Uren RF, Thompson JF, Howman-Giles R. The history of lymphatic mapping. In Nieweg O, et al. (eds.) Lymphatic mapping and probe applications in oncology. New York: M. Dekker, 2000, p.23-41.
- Walker, L. Localization of radioactive colloids in lymph nodes. J Lab Clin Med. 1950; 36:440-449.
- Sherman AI, Ter-Pogossian M, Tocus EC. Lymph node concentration of radioactive colloidal gold following interstitial injection. Cancer. 1953; 6:1238-1243.
- Gould, EA., Winship T, Philbin PH, Kerr HH. Observations on a „sentinel node“ in cancer of the parotid. Cancer. 1960 Jan-Feb;13:77-8.
- Cabanas R M. An approach for the treatment of penile carcinoma. Cancer. 1977; 39: 456- 466.
- Morton DL, Wen DR, Wong JH, Economou JS, Cagle LA, Storm FK, Foshag LJ, Cochran AJ. Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. Arch Surg. 1992 Apr;127(4):392-9.
- Morton DL., Wen D. R., Cochran A.J. Pathophysiology of regional lymph node metastases in early melanoma studied by intraoperative mapping of the cutaneous lymphatics (abstract). Second International Conference on Melanoma. 1989: 131.
- Morton DL, Wen DR, Cochran AJ. Pathophysiology of regional lymph node metastases in early melanoma studied by intraoperative mapping of the cutaneous lymphatics (abstract). Second International Conference on Melanoma. 1989: 131.
- Morton DL, Cagle L, Wong J. Intraoperative lymphatic mapping and selective lymphadenectomy: technical detail of a new procedure for clinical stage I melanoma. Annual Meeting of the Society Surgical Oncology, May 1990, Washington, D.C.
- Morton DL, Wen DR, Cochran A. Intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. The Melanoma Letter. 1992; 10:14.
- Drepper H, Köhler C, Bastian B, et al. Benefit of elective node dissection in subgroups of melanoma patients. Cancer; 1993; 72(3), s.741749.
- Milton GW, Shaw HM, McCarthy WH, Pearson L, Balch CM, Soong SJ. Prophylactic lymph node dissection in clinical stage I cutaneous malignant melanoma: results of surgical treatment in 1319 patients. Br J Surg. 1982 Feb;69(2):108-11.
- Cascinelli N, Morabito A, Santinami M, MacKie RM, Belli F. Immediate or delayed dissection of regional nodes in patients with melanoma of the trunk: a randomised trial. WHO Melanoma Programme. Lancet. 1998 Mar 14;351(9105):793-6.
- Sim FH, Taylor WF, Ivins JC, Pritchard DJ, Soule EH. A prospective randomized study of the efficacy of routine elective lymphadenectomy in management of malignant melanoma. Preliminary results. Cancer. 1978 Mar;41(3):948-56.
- Veronesi U, Adamus J, Bandiera DC, et al. Inefficacy of immediate node dissection in stage I melanoma of the limbs. N Engl J Med. 1977; 297(12): 627-630.
- Fee HJ, Robinson DS, Hample WF, Graham, LS, Holme, EC, Morton, DL. The determination of lymph shed by colloidal gold scanning in patients with malignant melanoma: a preliminary study. Surgery. 1978; 84: 626-632.
- Holub Z, Jabor A, Kliment L. Comparison of two procedures for sentinel lymph node detection in patients with endometrial cancer: a pilot study. Eur J Gynaecol Oncol. 2002;23(1):53-7.
- Albertini JJ, Cruse CW, Rapaport D, Wells K, Ross M, DeConti R, Berman CG, Jared K, Messina J, Lyman G, Glass F, Fenske N, Reintgen DS. Intraoperative radio-lympho-scintigraphy improves sentinel lymph node identification for patients with melanoma. Ann Surg. 1996 Feb;223(2):217-24.
- Alex JC, Krag DN. Gamma-probe guided localization of lymph nodes. Surg Oncol. 1993;2(3):137-43.
- Alex JC, Weaver DL, Fairbank JT, Rankin BS, Krag DN. Gamma-probe-guided lymph node localization in malignant melanoma. Surg Oncol. 1993 Oct;2(5):303-8.
- Kamath D, Rapaport D, DeConti R, Cruse CW, Wells K, Glass F, Messina J, Fenske N, Brobeil A, Berman C, Puleo C, Reintgen D. Redefining cutaneous lymphatic flow: the necessity of preoperative lymphoscintigraphy in the management of malignant melanoma. J Fla Med Assoc. 1997 Mar;84(3):182-7.
- Kraft, O. Detekce a biopsie sentinelových uzlin u maligního melanomu. Čes. Radiol., 203, roč.57, č. 5, s. 295-298.
- Kraft, O. Problematika detekce a biopsie sentinelové uzliny u maligních melanomů a karcinomu prsu. Čas. Lék. Čes., 2004, roč.143, s. 396-400.
- Krag DN, Meijer SJ, Weaver DL, et al. Minimal-access surgery for staging of malignant melanoma. Arch Surg. 1995;130(6): 654-658.
- Morton DL, Thompson JF, Essner R, Elashoff R, Stern SL, Nieweg OE, Roses DF, Karakousis CP, Mozzillo N, Reintgen D, Wang HJ, Glass EC, Cochran AJ. Validation of the accuracy of intraoperative lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for early-stage melanoma: a multicenter trial. Multicenter Selective Lymphadenectomy Trial Group. Ann Surg. 1999 Oct;230(4):453-63; discussion 463-5.
- Morton DL, Wen DR, Foshag LJ, Essner R, Cochran A. Intraoperative lymphatic mapping and selective cervical lymphadenectomy for early-stage melanomas of the head and neck. J Clin Oncol. 1993 Sep;11(9):1751-6.
- Morton, DL, Wen DR, Foshag LJ, Essner R, Cochran A. Intraoperative lymphatic mapping and selective cervical lymphadenectomy for early stage melanomas of the head and neck. J Clin Oncol. 1993;11:17511756.

31. Fait, V., Chrenko, V., Papírková, D. Biopsie sentinelové uzliny v diagnostice a léčbě zhoubných nádorů. Zdravotnické noviny, příl. Lékařské listy, 2001, roč. 50, č. 46, s. 23-26.
32. Fait, V., Chrenko, V., Šefr, R., Žaloudík, J. Biopsie sentinelové uzliny v chirurgické léčbě nádorů. Sanquis, 2003, roč. 26, s. 30-32.
33. Fait, V., Žaloudík, J., Pačovský, Z. Mapování lymfatických uzlin a biopsie sentinelové uzliny - nový přístup k problematice lymfadenektomií. Rozhledy v chirurgii, 1995, roč. 74, č. 8, s. 425-428.
34. Fait, V., Chrenko, V., Žaloudík, J. Sentinelová lymfadenektomie u kožního maligního melanomu - krátkodobé výsledky a prognostický význam. Rozhledy v chirurgii, 1998, roč. 77, č. 10, s. 466-473.
35. Fait, V., Pačovský, Z., Chrenko, V., Žaloudík, J. Mapování lymfatických uzlin a sentinelová biopsie u maligního melanomu: stručný přehled a první zkušenosti. Klinická onkologie, 1995, roč. 8, č. 3, s. 67-69.
36. Uren RF, Howman-Giles R, Thompson JF, McCarthy WH. Exclusive lymphatic drainage from a melanoma on the back to intra-abdominal lymph nodes. Clin Nucl Med. 1998 Feb;23(2):71-3.
37. Uren RF, Howman-Giles RB, Shaw HM, Thompson JF, McCarthy WH. Lymphoscintigraphy in high-risk melanoma of the trunk: predicting draining node groups, defining lymphatic channels and locating the sentinel node. J Nucl Med. 1993 Sep;34(9):1435-40.
38. Nieweg OE, Jansen L, Kroon BB. Technique of lymphatic mapping and sentinel node biopsy for melanoma. Eur J Surg Oncol. 1998 Dec;24(6):520-4.
39. Kapteijn BA, Nieweg OE, Liem I, Mooi WJ, Balm AJ, Muller SH, Peterse JL, Valdes Olmos RA, Tanis PJ, Hoefnagel CA, Jansen L, Nieweg OE, Meinhardt W, Horenblas S. Penile lymphoscintigraphy for sentinel node identification. Eur J Nucl Med. 2001 May;28(5):581-5.
40. Messina JL, Glass LF. Pathologic examination of the sentinel lymph node. J Fla Med Assoc. 1997 Mar;84(3):153-6.
41. Haigh PI, Lucci A, Turner RR, Bostick PJ, Krasne DL, Stern SL, Morton DL. Carbon dye histologically confirms the identity of sentinel lymph nodes in cutaneous melanoma. Cancer. 2001 Aug 1;92(3):535-41.
42. Morton DL, Hoon DS, Cochran AJ, Turner RR, Essner R, Takeuchi H, Wanek LA, Glass E, Foshag LJ, Hsueh EC, Bilchik AJ, Elashoff D, Elashoff R. Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for early-stage melanoma: therapeutic utility and implications of nodal microanatomy and molecular staging for improving the accuracy of detection of nodal micrometastases. Ann Surg. 2003 Oct;238(4):538-49.
43. Bostick PJ, Morton DL, Turner RR, Huynh KT, Wang HJ, Elashoff R, Essner R, Hoon DS. Prognostic significance of occult metastases detected by sentinel lymphadenectomy and reverse transcriptase-polymerase chain reaction in early-stage melanoma patients. J Clin Oncol. 1999 Oct;17(10):3238-44.
44. Cascinelli N, Belli F, Santinami M, Fait V, Testori A, Ruka W, Cavaliere R, Mozzillo N, Rossi CR, MacKie RM, Nieweg O, Pace M, Kirov K. Sentinel lymph node biopsy in cutaneous melanoma: The WHO Melanoma Program experience. Ann Surg Oncol. 2000; 7(6):469-474.
45. Messina JL, Reintgen DS, Cruse CW, Rappaport DP, Berman C, Fenske NA, Glass LF. Selective lymphadenectomy in patients with Merkel cell (cutaneous neuroendocrine) carcinoma. Ann Surg Oncol. 1997 Jul-Aug;4(5):389-95.
46. Wagner JD, Evdokimow DZ, Weisberger E, Moore D, Chuang TY, Wenck S, Coleman JJ 3rd. Sentinel node biopsy for high-risk nonmelanoma cutaneous malignancy. Arch Dermatol. 2004 Jan;140(1):75-9.
47. Gupta SG, Wang LC, Penas PF, Gellenthin M, Lee SJ, Nghiem P. Sentinel lymph node biopsy for evaluation and treatment of patients with Merkel cell carcinoma: The Dana-Farber experience and meta-analysis of the literature. Arch Dermatol. 2006 Jun;142(6):685-90.
48. Giuliano AE, Kirgan DM, Guenther JM, Morton DL. Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for breast cancer. Ann Surg. 1994; 220: 391-398.
49. Krag DN, Weaver DL, Alex JC, Fairbank JT. Surgical resection and radiolocalization of the sentinel lymph node in breast cancer using a gamma probe. Surg Oncol. 1993 Dec;2(6):335-9; discussion 340.
50. Albertini JJ, Lyman GH, Cox C, Yeatman T, Balducci L, Ku N, Shivers S, Berman C, Wells K, Rappaport D, Shons A, Horton J, Greenberg H, Nicosia S, Clark R, Cantor A, Reintgen DS. Lymphatic mapping and sentinel node biopsy in the patient with breast cancer. JAMA. 1996 Dec 11;276(22):1818-22.
51. Bedrosian I, Reynolds C, Mick R, Callans LS, Grant CS, Donohue JH, Farley DR, Heller R, Conant E, Orel SG, Lawton T, Fraker DL, Czerniecki BJ. Accuracy of sentinel lymph node biopsy in patients with large primary breast tumors. Cancer. 2000 Jun 1;88(11):2540-5.
52. Chung MH, Ye W, Giuliano AE. Role for sentinel lymph node dissection in the management of large (> or = 5 cm) invasive breast cancer. Ann Surg Oncol. 2001 Oct;8(9):688-92.
53. Wong SL, Chao C, Edwards MJ, Tuttle TM, Noyes RD, Carlson DJ, Laidley AL, McGlothlin TQ, Ley PB, Brown CM, Glaser RL, Pennington RE, Turk PS, Simpson D, McMasters KM. Accuracy of sentinel lymph node biopsy for patients with T2 and T3 breast cancers. Am Surg. 2001 Jun;67(6):522-6.
54. 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.
55. Knauer 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.
56. Goyal A, Newcombe RG, Mansel RE: Sentinel lymph node biopsy in patients with multifocal breast cancer. Eur J Surg Oncol 2004. 30 475-479.
57. 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.
58. Schrenk P, Wayand W: Sentinel-node biopsy in axillary lymph-node staging for patients with multicentric breast cancer. Lancet 2001, 357:122.
59. 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
60. Coufal O., Biopsie sentinelové uzliny u multifokálních a multicentrických karcinomů prsu. Klinická onkologie 2007;20(4):283-286.
61. Zavagno G, Carcoforo P, Marconato R, Franchini Z, Scalco G, Burelli P, Pietrarota P, Lise M, Mencarelli R, Capitanio G, Ballarin A, Pierobon ME, Marconato G, Nitti D. Role of axillary sentinel lymph node biopsy in patients with pure ductal carcinoma in situ of the breast. BMC cancer, 2005 vol. 5 pp. 28.
62. Fait, V., Chrenko, V., Gatěk, J. Sentinelová biopsie u karcinomu prsu a neoadjuvantní chemoterapie. Klinická onkologie, 2005, roč. 18, č. 3, s. 77-79.
63. Pavlišta, D., Dudorkinová, D., Novotný, J., K problematice vyšetření sentinelových lymfatických uzlin u karcinomu prsu. Čes. Gynek., 2005, roč. 70, č. 3, s. 197-200.
64. Pavlišta, D., Eliška, O. Mapa povrchových lymfatických uzlin prsu jejich vztah k sentinelové uzlině. Čes. Gynek., 2005, roč. 70, č. 3, s. 192-197.
65. Červinka, V., Šťastný, K., Havlíček, K., Vyháňková, I., Vaňásek, J., Pavlíková, E., Rothrockel, P., Hácová, M., Nechvátal, L. Naše zkušenosti s detekcí sentinelové uzliny. Rozhl. Chir., 2004, roč. 83, č. 6, s. 217-220.
66. Gatěk, J., Bakala, J., Dudešek, B., Duben, J., Hnátek, L., Dvořáčková, J. Biopsie sentinelové uzliny v chirurgické léčbě karcinomu prsu, prospektivní studie. Čes. Gynek. 2003, roč. 68, č. 1, s 6-10.
67. Haid A. Sentinel Node Biopsie beim Mammakarzinom. Technik und Indikation - Standard of Care. Übersichtsarbeit. Rozhl. Chir., 2005, roč. 84, č. 3., s 117-23.
68. Hruška, J. Biopsie sentinelové uzliny na našem pracovišti. Rozhl. Chir., 2002, 81, č. 4, s. 170-171.
69. Chromý, M., Haloun, K., Louda, V., Šabata, L. Biopsie sentinelové uzliny ve stadiu karcinomu prsu. Radiačně navigovaná chirurgie sentinelové uzliny. Rozhl. Chir., 2000, roč. 79, č. 3, s. 102-107.
70. Strnad, P., Rob, L., Zuntová, A., Chod, J., Halaška, M. Biopsie sentinelové lymfatické uzliny u karcinomu prsu v praxi. Čes. Gynek., 2005, roč. 70, č. 4, s. 291-295.
71. Povoski SP, Olsen JO, Young DC, Clarke J, Burak WE, Walker MJ, Carson WE, Yee LD, Agnese DM, Pozderac RV, Hall NC, Farrar WB. Prospective Randomized Clinical Trial Comparing Intradermal, Intraparenchymal, and Subareolar Injection Routes for Sentinel Lymph Node Mapping and Biopsy in Breast Cancer. Ann Surg Oncol. 2006 Nov;13(11):1412-1421.

72. Schrenk P, Konstantiniuk P, Wölfl S, Bogner S, Roka S, Pöstlberger S, Selim U, Urbania A, Beghard B, Rudas M, Tausch Ch. Intraoperační vyšetření zmrazeného řezu sentinelové uzliny u rakoviny prsu. *Rozhl. Chir.*, 2005, roč.84, č.5, s. 217-222.
73. Veronesi U, Zurrida S, Mazzarol G, Viale G. Extensive frozen section examination of axillary sentinel nodes to determine selective axillary dissection. *World J Surg.* 2001 Jun;25(6):806-8.
74. Fait V, Chrenko V, Žaloudík J, Talač R, Pačovský Z. Axilární staging - současnost a perspektiva. *Miniinvasivní terapie*, 1998, roč.3, č.4, s.25.
75. Van Zee KJ, Manasseh DM, Bevilacqua JL, Boolbol SK, Fey JV, Tan LK, Borgen PI, Cody HS, Kattan MW. A nomogram for predicting the likelihood of additional nodal metastases in breast cancer patients with a positive sentinel node biopsy. *Ann Surg Oncol* (2003) vol. 10 (10) pp. 1140-51
76. Soni et al. Evaluation of a breast cancer nomogram for prediction of non-sentinel lymph node positivity. *Eur J Surg Oncol* (2005) vol. 31 (9) pp. 958-64.
77. Lambert et al. Validation of a breast cancer nomogram for predicting nonsentinel lymph node metastases after a positive sentinel node biopsy. *Annals of surgical oncology : the official journal of the Society of Surgical Oncology* (2007) vol. 14 (8) pp. 2422-3
78. Alran et al. Validation and limitations of use of a breast cancer nomogram predicting the likelihood of non-sentinel node involvement after positive sentinel node biopsy. *Annals of surgical oncology : the official journal of the Society of Surgical Oncology* (2007) vol. 14 (8) pp. 2195-201
79. Rob L., Robová H., Pluta M., Strnad P., Kačírek J., Chmel R., Teslík L., Škapa P., Táborská K. Detekce sentinelových uzlin u karcinomu vulvy - metody a technika. *Čes. Gynek.*, 2006, roč.71, č. 4., s. 298-301.
80. Holub Z, Jabor A, Lukac J, Kliment L. Laparoscopic detection of sentinel lymph nodes using blue dye in women with cervical and endometrial cancer. *Med Sci Monit.* 2004 Oct;10(10):587-91.
81. Barranger E, Fay S, Cortez A, Uzan S, Darai E. Value of sentinel node biopsy in uterine Cancers. *Gynecol Obstet Fertil.* 2004 Sep; 32(9): 694-702.
82. Rob L., Charvát M., Robová H., Strnad P., Pluta M., Schlegerová D. Identifikace sentinelových lymfatických uzlin u časných stádií cervikálních karcinomů. *Čes. Gynek.*, 2004, roč.69, č.4, s 273-277.
83. Pelosí E, Arena V, Baudino B, Bello M, Giusti M, Gargiulo T, Palladin D, Bisi G. Pre-operative lymphatic mapping and intraoperative sentinel lymph node detection in early stage endometrial cancer. *Nucl Med Commun.* 2003 Sep;24(9):971-5.
84. Pilka R., Kudela M., Koranda P., Lubušský D. Možnosti detekce sentinelových uzlin u žen s karcinomem endometria - pilotní studie. *Čes. Gynek.*, 2001, roč.66, č. 6, s. 427-431.
85. Burke TW, Levenback C, Tornos C, Morris M, Wharton JT, Gershenson DM. Intraabdominal lymphatic mapping to direct selective pelvic and paraaortic lymphadenectomy in women with high-risk endometrial cancer: results of a pilot study. *Gynecol Oncol.* 1996 Aug;62(2):169-73.
86. Fersis N, Gruber I, Relakis K, Friedrich M. Sentinel node identification and intraoperative lymphatic mapping. First results of a pilot study in patients with endometrial cancer. *Eur J Gynaecol Oncol.* 2004, 25(3): 339-342.
87. Gargiulo T, Giusti M, Bottero A, Leo L, Brokaj L, Armellino F, Palladin L. Sentinel Lymph Node (SLN) laparoscopic assessment early stage in endometrial cancer. *Minerva Ginecol.* 2003 Jun;55(3):259-62.
88. Holub Z, Kliment L, Lukac J, Voracek J. Laparoscopically-assisted intraoperative lymphatic mapping in endometrial cancer: preliminary results. *Eur J Gynaecol Oncol.* 2001;22(2):118-21.
89. Niikura H., Okamura C., Utsunomiya H., Yoshinaga K. Sentinel lymph node detection in patients with endometrial cancer. *Gynecol Oncol.* 2004, 92(2): 669-674.
90. Dzvínčuk P., Pilka R., Kudela M., Koranda P. Detekce sentinelových lymfatických uzlin pomocí 99mTc-nanokoloиду u karcinomu endometria. *Čes. Gynek.*, 2006, roč. 71, č. 3, s. 231-236.
91. Feranec R., Otevřel P., Frgala T., Dörr A. Mapování lymfatických uzlin u pacientek s karcinomem endometria. *Klinická onkologie*, 2007, roč. 17 (v tisku).
92. Maccauro M, Lucignani G, Aliberti G, Villano C. Sentinel lymph node detection following the hysteroscopic peritumoral injection of (99m)Tc-labelled albumin nanocolloid in endometrial cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2005 May;32(5):569-74.
93. Raspagliesi F, Ditto A, Kusamura S, Fontanelli R. Hysteroscopic injection of tracers in sentinel node detection of endometrial cancer: a feasibility study. *Am J Obstet Gynecol.* 2004;191(2): 435-439.
94. Horenblas S, Jansen L, Meinhardt W, Hoefnagel CA, de Jong D, Nieweg OE. Detection of occult metastasis in squamous cell carcinoma of the penis using a dynamic sentinel node procedure. *J Urol.* 2000 Jan;163(1):100-4.
95. Valdes Olmos RA, Tanis PJ, Hoefnagel CA, Jansen L, Nieweg OE, Meinhardt W, Horenblas S. Penile lymphoscintigraphy for sentinel node identification. *Eur J Nucl Med.* 2001 May;28(5):581-5.
96. 096 Liedberg F, Chebil G, Davidsson T, Gudjonsson S, Mansson W. Intraoperative sentinel node detection improves nodal staging in invasive bladder cancer. *J Urol.* 2006 Jan;175(1):84-8; discussion 88-9.
97. 097 Malmstrom PU, Ren ZP, Sherif A, de la Torre M, Wester K, Thorn M. Early metastatic progression of bladder carcinoma: molecular profile of primary tumor and sentinel lymph node. *J Urol.* 2002 Nov;168(5):2240-4.
98. Sherif A, De La Torre M, Malmstrom PU, Thorn M. Lymphatic mapping and detection of sentinel nodes in patients with bladder cancer. *J Urol.* 2001 Sep;166(3):812-5.
99. Wawroschek F, Vogt H, Weckermann D, Wagner T, Harzmann R. The sentinel lymph node concept in prostate cancer - first results of gamma probe-guided sentinel lymph node identification. *Eur Urol.* 1999 Dec;36(6):595-600.
100. Rudoni M, Sacchetti GM, Leva L, Inglese E, Monesi G, Minocci D, Frea B. Recent applications of the sentinel lymph node concept: preliminary experience in prostate cancer. *Tumori.* 2002 May-Jun;88(3):S16-7.
101. Wawroschek F, Vogt H, Wengenmair H, Weckermann D, Hamm M, Keil M, Graf G, Heidenreich P, Harzmann R. Prostate lymphoscintigraphy and radio-guided surgery for sentinel lymph node identification in prostate cancer. Technique and results of the first 350 cases. *Urol Int.* 2003;70(4):303-10.
102. Kato H., Miyazaki T., Nakajima M et al. Sentinel Lymph Nodes with Technetium -99m Colloidal Rhenium Sulfide in patients with esophageal carcinoma. *Cancer* 2003;98(5):932-939.
103. Neoral C., Auješský R., Král V., Klein J., Bohanes T., Vrba R., Koranda P. Technika získání sentinelových uzlin u tumorů v oblasti distálního jícnu a žaludku. *Rozhl. Chir.* 2005, roč.84, č. 6., s. 307-309.
104. Neoral, Č., Auješský R., Vrba R., Bohanes T., Král V., Klein J., Koranda P., Geierová M. Sentinelová uzlina u karcinomu distálního jícnu a kardiie. *Klinická onkologie*, 2006, roč. 19, č. 6, s.305 - 309.
105. Lamb PJ, Griffin SM, Burt AD, Lloyd J, Karat D, Hayes N. Sentinel node biopsy to evaluate the metastatic dissemination of oesophageal adenocarcinoma. *Br J Surg.* 2005 Jan;92(1):60-7.
106. Siewert JR, Bottcher K, Stein HJ, Roder JD. Relevant prognostic factors in gastric cancer: ten-year results of the German Gastric Cancer Study. *Ann Surg.* 1998 Oct; 228(4):449-61.
107. Kitagawa Y, Fujii H, Kumai K, Kubota T, Otani Y, Saikawa Y, Yoshida M, Kubo A, Kitajima M. Recent advances in sentinel node navigation for gastric cancer: a paradigm shift of surgical management. *J Surg Oncol.* 2005 Jun 1;90(3):147-51.
108. Kitagawa Y, Fujii H, Mukai M, et al. The validity of the sentinel node concept in gastrointestinal cancers. *Nippon Geka Gakkai Zasshi.* 2000 Mar;101(3):315-9.
109. Kitagawa Y, Fujii H, Mukai M, Kubota T, Ando N, Watanabe M, Ohgami M, Otani Y, Ozawa S, Hasegawa H, Furukawa T, Kumai K, Ikeda T, Nakahara T, Kubo A, Kitajima M. The role of the sentinel lymph node in gastrointestinal cancer. *Surg Clin North Am.* 2000 Dec;80(6):1799-809.
110. Thorn M. Lymphatic mapping and sentinel node biopsy: is the method applicable to patients with colorectal and gastric cancer? *Eur J Surg.* 2000;166(10):755-8.
111. Zulfikaroglu B, Koc M, Ozmen MM, Kucuk NO, Ozalp N, Aras G. Intraoperative lymphatic mapping and sentinel lymph node biopsy using radioactive tracer in gastric cancer. *Surgery.* 2005 Nov;138(5):899-904.
112. Kitagawa Y, Ohgami M, Fujii H, Mukai M, Kubota T, Ando N, Watanabe M, Otani Y, Ozawa S, Hasegawa H, Furukawa T, Matsuda J, Kumai K, Ikeda T, Kubo A, Kitajima M. Laparoscopic detection of sentinel lymph nodes in gastrointestinal cancer: a novel

- and minimally invasive approach. *Ann Surg Oncol*. 2001 Oct;8(9 Suppl):86S-89S.
113. Hiratskuka M, Miyashiro I, Ishikawa O, et al. Application of sentinel node biopsy to gastric cancer surgery. *Surgery*. 2001 Mar;129(3):335-40.
 114. Ichikura T, Chochi K, Sugawara H, Yaguchi Y, Sakamoto N, Takahata R, Kosuda S, Mochizuki H. Individualized surgery for early gastric cancer guided by sentinel node biopsy. *Surgery*. 2006 Apr;139(4):501-7.
 115. Kitagawa Y, Kubota T, Otani Y, et al. Clinical significance of sentinel node navigation surgery in the treatment of early gastric cancer. *Nippon Geka Gakkai Zasshi* 2001 Oct; 102(10):753-7.
 116. Coufal, O., Svobodník, A., Žaloudík, J., Šefr, R., Fait, V., Dušek, L., Dorociak, F. Faktory ovlivňující vyšetřování mizních uzlin v resekcích karcinomů kolon a rekta. *Klinická onkologie*, 2004, roč.17, č. 3, s. 96-100.
 117. Coufal, O., Žaloudík, J., Svobodník, A., Šefr, R., Penka, I., Kaplan, Z., Tomášek, J., Fait, V. Respektujeme standard klasifikace stadia kolorektálního karcinomu po kurativní resekcí? *Rozhl. Chir.*, 2003, roč.82, č.1, s. 17-24.
 118. Coufal, O., Žaloudík, J., Svobodník, A., Šefr, R., Penka, I., Kaplan, Z., Tomášek, J., Fait, V. Standardní klasifikace kolorektálních karcinomů - realita nebo iluze? *Klinická onkologie*, 2002, roč.15, č.6, s. 219-225.
 119. Joosten JJ, Strobbe LJ, Wauters CA, Pruszczynski M, Wobbes T, Ruers TJ. Intraoperative lymphatic mapping and the sentinel node concept in colorectal carcinoma. *Br J Surg*. 1999 Apr;86(4):482-6.
 120. Kaplan, Z., Šefr, R., Fait, V., Coufal, O. Význam peroperační identifikace a zhodnocení sentinelové biopsie u kolorektálního karcinomu: review. *Rozhledy v chirurgii*, 2002, roč.81, č.8, s.450 - 453.
 121. Šefr, R., Coufal, O., Penka, I., Fait, V., Kaplan, Z., Ondrák, M., Fabián, P., Žaloudík, J. Metoda lymfatického mapování a biopsie sentinelové uzliny u karcinomu tračnicku. *Klinická onkologie*, 2005, roč.18, č.1, s.10-14.
 122. Šefr, R., Fait, V., Penka, I., Coufal, O. Mapování lymfatické biopsie sentinelové uzliny u vybraných karcinomů trávicího ústí. *Rozhledy v chirurgii*, 2002, roč.81, č.9, s.454-458.
 123. Šefr, R., Penka, I., Coufal, O., Vagundová, M., Fait, V., Kaplan, Z., Staniček, J., Žaloudík J. Biopsie sentinelové uzliny u kolorektálního karcinomu - pilotní studie. *Rozhl. Chir.*, 2003, roč.82, č.9, s. 486-91.
 124. Saha S, Dan AG, Bilchik AJ, Kitagawa Y, Schochet E, Choudhri S, Saha LT, Wiese D, Morton D, Kitajima M. Historical review of lymphatic mapping in gastrointestinal malignancies. *Ann Surg Oncol*. 2004 Mar;11(3 Suppl):245S-9S.
 125. Stojadinovic A, Allen PJ, Protic M, Potter JF, Shriver CD, Nelson JM, Peoples GE. Colon sentinel lymph node mapping: practical surgical applications. *J Am Coll Surg*. 2005 Aug;201(2):297-313.
 126. Wong JH, Steineman S, Calderia C, Bowles J, Namiki T. Ex vivo sentinel node mapping in carcinoma of the colon and rectum. *Ann Surg*. 2001 Apr;233(4):515-21.
 127. Tuech JJ, Pessaux P, Di Fiore F, Nitu V, Lefebvre B, Colson A, Michot F. Sentinel node mapping in colon carcinoma: in-vivo versus ex-vivo approach. *Eur J Surg Oncol*. 2006 Mar;32(2):158-61.
 128. Bilchik AJ, DiNome M, Saha S, Turner RR, Wiese D, McCarter M, Hoon DS, Morton DL. Prospective multicenter trial of staging adequacy in colon cancer: preliminary results. *Arch Surg*. 2006 Jun;141(6):527-33.
 129. Saha S, Seghal R, Patel M, Doan K, Dan A, Bilchik A, Beutler T, Wiese D, Bassily N, Yee C. A multicenter trial of sentinel lymph node mapping in colorectal cancer: prognostic implications for nodal staging and recurrence. *Am J Surg*. 2006 Mar;191(3):305-10.
 130. Braat AE, Oosterhuis JW, Moll FC, de Vries JE, Wiggers T. Sentinel node detection after preoperative short-course radiotherapy in rectal carcinoma is not reliable. *Br J Surg*. 2005 Dec;92(12):1533-8.
 131. Alex JC, Sasaki CT, Krag DN, Wenig B, Pyle PB. Sentinel lymph node radiolocalization in head and neck squamous cell carcinoma. *Laryngoscope*. 2000 Feb;110(2 Pt 1):198-203.
 132. Mrzena, L., Betka, J., Plzák, J., Stárek, I., Křížová, H., Kodetová, D. Peroperační identifikace a biotické vyšetření sentinelové uzliny u nádorů hlavy a krku. *Otorinolaryng. a Foniatr.*, 2005, roč.54, č.3, s. 119-128.
 133. Mrzena, L., Betka, J., Stárek, I., Táborská, K., Kodetová, D., Křížová, H. Biopsie sentinelové uzliny u pacientů s karcinomem ústní dutiny a orofaryngu. *Čas. Lék. Čes.*, 2006, roč.145, s.393-398.
 134. Kelemen PR, Van Herle AJ, Giuliano AE. Sentinel lymphadenectomy in thyroid malignant neoplasms. *Arch Surg*. 1998 Mar;133(3):288-92.
 135. Pelizzo MR, Boschini IM, Toniato A, Bernante P, Piotto A, Rinaldo A, Ferlito A. The sentinel node procedure with Patent Blue V dye in the surgical treatment of papillary thyroid carcinoma. *Acta Otolaryngol*. 2001 Apr;121(3):421-4.
 136. Dixon E, McKinnon JG, Pasiaka JL. Feasibility of sentinel lymph node biopsy and lymphatic mapping in nodular thyroid neoplasms. *World J Surg*. 2000 Nov;24(11):1396-401.
 137. Haigh PI, Giuliano AE. Sentinel lymph node dissection for thyroid malignancy. *Recent Results Cancer Res*. 2000;157:201-5.
 138. Bohanes, T., Klein, J., Král, V., Neoral, Č., Tichý, T. Detekce sentinelové uzliny u plicního karcinomu pomocí patentní modří a její klinický význam. *Rozhl. Chir*. 2004, roč. 83, č. 6, s. 210-216.
 139. Jedlička, V., Čapov, I., Pešťál, A., Stašek, T., Wechsler, J. Detekce sentinelové uzliny a její význam v chirurgické léčbě nemalobuněčného karcinomu plic - přehled. *Rozhl. Chir.*, 2003, roč. 82, č. 5, s 273-277.
 140. Klein, J., Bohanes, T., Král, V., Neoral, Č., Tichý, T., Škarda, J., Hajdúch, M. Technika biopsie sentinelové uzliny při resekcí plic pro karcinom. *Klinická onkologie*, 2001, roč.14, č. 5. s.170-173.
 141. Little AG, De Hoyos A, Kirgan DM, Arcomano TR, Murray KD. Intraoperative lymphatic mapping for NSCLC: the sentinel node technique. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1999;117:220-4.
 142. Nováková V, Kepřtová P. Význam biopsie sentinelové lymfatické uzliny u dlaždicobuněčných karcinomů v oblasti hlavy a krku. *KLINICKÁ ONKOLOGIE*, 20, 2007, 4, 287 - 293.

Korespondenční adresa:
 Doc.MUDr.Vuk Fait, CSc
 Masarykův onkologický ústav Brno
 Žlutý kopec č.7656 53 BRNO

Přijato / Accepted: 15.12.2007

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.
 The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.
 The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE „uniform requirements“ for biomedical papers.

SROVNÁNÍ VYBRANÝCH MARKERŮ DENDRITICKÝCH BUNĚK U ZDRAVÝCH DÁRCŮ A PACIENTŮ S MONOKLONÁLNÍ GAMAPATIÍ NEJASNÉHO VÝZNAMU ČI MNOHOČETNÝM MYELOMEM

COMPARISON OF DENDRITIC CELLS ANTIGENS IN HEALTHY VOLUNTEERS AND MONOCLONAL GAMMOPATHY OF UNDETERMINED SIGNIFICANCE AND/OR MULTIPLE MYELOMA PATIENTS

KOVÁŘOVÁ L¹, MICHÁLEK J^{1,2}, KÝR M.^{1,2}, PENKA M¹, HÁJEK R^{1,3}

¹ ODDĚLENÍ KLINICKÉ HEMATOLOGIE – LABORATOŘ EXPERIMENTÁLNÍ HEMATOLOGIE A BUNĚČNÉ IMUNOTERAPIE (LEHABI), FN BRNO, PMDV, JIHLAVSKÁ 20, 625 00 BRNO

² I. DĚTSKÁ INTERNÍ KLINIKA, FN BRNO, PDM, ČERNOPOLNÍ 9, 625 00 BRNO

³ INTERNÍ HEMATOONKOLOGICKÁ KLINIKA, FN BRNO, PMDV, JIHLAVSKÁ 20, 625 00 BRNO

Souhrn:

Východiska: Dendritické buňky DB jsou účinné antigen-prezentující buňky s možným uplatněním na poli imunoterapie, kdy je ovšem zásadní jejich funkční stav – tedy schopnost vyvolat protinádorovou odpověď. Typ studie a soubor: V *in vitro* studii byla na souboru 10 zdravých dárců, 14 pacientů s monoklonální gamapatií nejasného významu a 14 pacientů s mnohočetným myelomem sledována schopnost vyžrán dendritických buněk. **Metody a výsledky:** Po kultivaci adherentních monocytárních prekurzorů DB periferní krve s IL-4 a GM-CSF v bezsérových či autologních podmínkách a stimulaci pomocí lidského CD40Ligandu byly srovnány rozdíly v expresi významných povrchových znaků, chemokininových receptorů a produkce IL-12p70. Bylo zjištěno, že hodnoty sledovaných markerů jsou v bezsérových podmínkách srovnatelné u všech 3 skupin bez i po stimulaci CD40L. Autologní sérum, v kontrastu se zdravými kontrolami, negativně ovlivňuje DB pacientů, kdy dochází ke snížení exprese vybraných povrchových markerů. Produkce IL-12p70 byla ve všech případech nízká. Srovnáním hladiny IL-6 v séru pacientů a zdravých dárců nebyly nalezeny rozdíly mezi jednotlivými skupinami. **Závěry:** Kultivace DB v bezsérových podmínkách má srovnatelné výsledky u kontrol i pacientů, přestože stimulace CD40L nestačí k plnému vyžrán DB. Předběžně ukazujeme negativní působení autologního séra pacientů na expresi vybraných markerů, které není jednoznačně závislé na hladině IL-6.

Klíčová slova: dendritické buňky, monoklonální gamapatie nejasného významu, mnohočetný myelom, flowcytometrie.

Summary:

Backgrounds: Dendritic cells (DCs) are highly specialized antigen-presenting cells, which can be used for immunotherapy trials. Functionally normal DCs play a critical role in the activation and potentiation of antitumor antigen-specific responses. **Design and Subjects:** Maturation of DCs from 10 healthy donors, 14 monoclonal gammopathy of undetermined significance patients and 14 multiple myeloma patients was tested in an *in vitro* study. **Methods and Results:** DCs were generated from adherent mononuclear precursors of peripheral blood and cultured in presence of IL-4 and GM-CSF with human CD40Ligand stimulation. Serum-free or autologous serum conditions were used and expression of significant surface antigens, chemokines receptors and production of IL-12p70, were compared. We found no difference between groups under serum-free conditions with or without CD40L stimulation. Under autologous conditions we found negative effect on patients DCs manifested by reduction of some markers. The production of IL-12p70 was low and no difference in serum IL-6 levels between individual groups was found. **Conclusion:** Under serum free conditions there was no difference between healthy volunteers, MGUS and patients, but CD40L stimulation did not lead to the full maturation of DCs. Autologous patient serum had negative influence on DCs, with no definite dependence on the IL-6 level.

Key words: dendritic cells, monoclonal gammopathy of undetermined significance, multiple myeloma, flow cytometry

Úvod

Dendritické buňky (DB) jsou účinné antigen-prezentující buňky vyznačující se schopností stimulovat naivní T-lymfocyty a iniciovat tak imunitní odpověď prostřednictvím cytotoxických T lymfocytů (Banchereau 1998). DB jsou stále intenzivně zkoumány právě pro tuto svou funkci, s cílem využití v oblasti imunoterapie, kdy zralé DB slouží jako součást vakcín v klinických studiích

(Brossart 2001). Limitací účinku takovýchto vakcín je funkčnost DB, a to zejména u mnohočetného myelomu (MM), kde existují kontroverzní tvrzení o možných defektech v imunitním systému nemocných (Brown 2001, Hayashi 2003). Nevýrazná odpověď na imunoterapii u pacientů ukazuje na nutnost porozumění možným defektům tak, aby bylo následně dosaženo efektivní léčby. DB vznikají z různých hematopoetických pre-

kurzorů diferencujících do myeloidního či lymfoidního typu DB, ale mohou vznikat také z monocytů (Romani 1994). V kulturách s IL-4 a GM-CSF jsou monocyty schopny diferenciaci do nezralých myeloidních (DB CD11c⁺ typ), které mají vysokou schopnost pohltit a zpracovat endogenní Ag a naopak nízkou schopnost aktivovat T-lymfocyty. Pohlcení Ag však nestačí k úplnému vyžrání DB, jsou nutny ještě přídatné signály (Barton 2002). DB jsou schopny rozpoznávat signály nebezpečí také skrze Toll-like receptory (TLR) (Medzhitov 2001). Odpovědí na rozdílné maturační stimuly jako jsou bakteriální a virové částice, zánětlivé cytokiny či specifické interakce T lymfocytů je diferenační proces vedoucí k množství změn morfologických, fenotypických a funkčních. V průběhu maturace se postupně snižuje exprese zánětlivých chemokinů a jejich receptorů (např. CCR6), naopak roste produkce konstitutivních chemokinů a exprese CCR7 receptoru (Brossart 2001). Zralé DB se vyznačují vysokou mírou exprese MHC třídy I/II (zejména HLA-DR), kostimulačních molekul (CD40, CD80, CD86) a produkují bioaktivní IL-12p70, klíčový cytokin pro indukci cytotoxických T lymfocytů a tedy pro vznik protinádorové imunitní odpovědi typu Th1. Proces maturace je zakončen interakcí a ligací membránového markeru CD40 na aktivovaných DB s CD40Ligandem exprimovaným T lymfocytů (Rosenzweig 2002). Aktivace nezralých DB rozpustným CD40 ligandem (CD40L) vede k jejich diferenciaci a vzniku zralých CD83⁺ DB se sníženým počtem molekul účastnicích se pohlcení Ag. Signalizace přes CD40L u DB vede také k produkci cytokinů, chemokinů a stupňuje jejich migraci a přežívání. Prekurzory DB, u kterých je z jakýchkoliv příčin inhibováno vyžrávání, mohou pohltit Ag, nicméně je narušena řada dalších interakcí, zejména s T-lymfocytů, které v konečné fázi vedou k neschopnosti DB vyvolat silnou imunitní odpověď. Bylo zjištěno, že % exprese kostimulačních molekul CD80 a CD86 na povrchu efektorových buněk periferní krve pacientů s MM se neliší počtem od zdravých kontrol. Tyto molekuly jsou nezbytným „druhým signálem“ pro aktivaci T-lymfocytů, účastní se také při signalizaci přežití, apoptózy, anergie a mohou být ovlivněny celou řadou cytokinů. Snížení jejich exprese je připisováno TNF-β1 a IL-10 a za zvýšení odpovídá CD40L a IFNγ (Schultz 1996). Mnohočetný myelom je malignita charakterizovaná expanzí plazmocytů produkujících specifický Id protein, využitelný jako antigen asociovaný s nádorem. Naopak monoklonální gamapatie nejasného významu (MGUS) je prekanceróza s nízkým zastoupením patologických plazmocytů, která není léčena, nýbrž pouze monitorována pro možný přechod onemocnění do MM. Srovnání těchto dvou nemocí, na základě profilu povrchových markerů dendritických buněk zatím nebylo publikováno a může přinést další informaci o vlastnostech DB v závislosti na diagnóze. IL-6 je jedním z cytokinů účastnicích se proliferace a diferenciaci myelomových buněk, zatímco TNFβ a IL-10 jsou přímo produkovány maligními plazmocytů, a jeho vysoké sérové hladiny korelují s agresivní nemocí a špatnou prognózou pacientů (Ratta 2002, Brown 2004). Proto jsme v této práci, kromě

základních markerů DB, monitorovali také hladinu sérového IL-6 u všech tří skupin, abychom zjistili jakou úlohu hraje jeho možná přítomnost v kultuře DB.

Materiál a metody

Soubor vzorků: Za účelem získání prekurzorů DB byly využity jednak buffy-coaty zdravých dárců krve (kontroly - K) získaných na Transfuzní stanici FN Brno (10 vzorků, průměrný věk 32,7 let) a dále 20 ml heparinizované periferní krve neléčených pacientů s MGUS (14 pacientů, průměrný věk 55let) či nově diagnostikovaných neléčených pacientů s MM (14 pacientů, průměrný věk 54,9 let), která byla po získání informovaného souhlasu pacienta odebrána na ambulanci Interní hematologické kliniky FN Brno. Dále byly od zdravých dárců a pacientů získány vzorky sér periferní krve, které byly zamrazeny jednak pro pozdější pro analýzu hladiny sérového IL-6 (celkem 21 zdravých kontrol, 14 pacientů s MGUS, 19 pacientů s MM) či po inaktivaci jako přídavek do kultur DB.

Separace mononukleárních buněk periferní krve (MNBPK): MNBPK byly izolovány z buffy-coatu nebo periferní krve gradientovou centrifugací na Histopaque a poté byly několikrát omyty studeným PBS při nízkých otáčkách, aby došlo k odstranění trombocytů. Ve světelném mikroskopu byla zanalyzována vitalita a buněčnost pomocí trypanové modře.

Kultivace DB: DB byly generovány dle schématu běžně užívaného na našem pracovišti. MNBPK v Xvivo-10 obohaceném o DNase (80 U/ml) a glutamin (0,06 %) byly nasazeny na desky s buněčností 3,3x10⁶ bb/ml. Po 2h kultivaci v atmosféře 5 % CO₂ a 37°C byly odstraněny neadherentní prekurzory opatrným dvojím omytím teplým PBS. Adherentní buňky byly dále kultivovány v Xvivo-10 s IL-4 (1000 U/ml) a GM-CSF (800 U/ml) po dobu 6 dnů, přičemž 3. den kultivace byla vyměněna ½ média za čerstvé s plnou koncentrací cytokinů a 6. den bylo přidáno maturační činidlo - lidský CD40Ligand (huCD40L, Sigma) v koncentraci 1ug/ml. Kultivace byla prováděna v bezsérových podmínkách, pouze u experimentů sledujících vliv autologního séra na maturaci DB bylo použito přídavku inaktivovaného autologního séra (10 %).

Vytěžení DB: Po 24h stimulaci byly DB uvolněny z destiček pomocí studeného PBS, propláchnuty a dále uchovávány v chladu do další analýzy.

Imunofenotypizace: Vzorky MNBPK a vytěžených DB byly analyzovány s využitím následujících monoklonálních protilátek: mouse IgG1-FITC/IgG1-PE/IgG1-PC5, CD1a-PE, CD3-FITC, CD11c-PE, CD14-FITC, CD80-PE, CD83-PC5, CD86-PE, HLA-DR-FITC (Immunotech, Marseille, France), CCR6-PE (R&D, Minneapolis, USA), CD123-PE, CCR7-PE (Becton-Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA). Po 30 min. inkubaci v chladu byly buňky promyty a resuspendovány ve studeném PBS, zafixovány 1 % paraformaldehydem a analyzovány. Mrtvé buňky a debris byly vyděleny z analýzy na základě rozptylu světla a kontrola gate byla provedena pomocí propidium jodidu (PI). Analýza byla provedena na přístroji FC500 Cytomics (Beckman Coulter, Hialeah, FL, USA).

Stanovení sérových hladin IL-6 a hladin IL-12p70

v supernatantu kultur pomocí ELISA: K analýze IL-6 byla využita zamražená séra zdravých dárců a pacientů, která byla uchovávána při -30°C do doby analýzy, kdy byla dle návodu zpracována prostřednictvím kitu HuIL-6 ELISA (Biosource, California, USA). Supernatanty kultur DB byly nejprve zbaveny centrifugací buněčné příměsi, poté zamrazeny a uchovávány do doby analýzy při -30°C. Pro zhodnocení bioaktivního IL-12p70 byl použit kit HuIL-12p70 ELISA (Biosource, California, USA).

Statistické hodnocení: Cílem analýzy bylo srovnání hodnot vybraných znaků dendritických buněk u zdravých jedinců a u pacientů s MGUS či MM. Pro deskriptivní účely byly v analýze použity základní statistické grafy (kategorizované sloupcové diagramy) a statistické tabulky. U spojitých parametrů byly vypočteny základní statistické ukazatele (průměr, medián, SD a příslušné kvantily). Rozdíly mezi všemi 3 skupinami současně („overall“) byly testovány neparametrickou anovou (pro nepárové - Kruskal-Wallis, pro párové - Friedman). Pokud byl rozdíl mezi skupinami signifikantní, testoval se rozdíl mezi jednotlivými dvojicemi skupin (pro nepárové - Mann-Whitney, pro párové - Wilcoxon). Tam kde „overall“ rozdíl nebyl signifikantní není další testování opodstatněné. Všechny testy byly neparametrické vzhledem k nestejným rozptylům a odlehkým hodnotám, hladina významnosti $\alpha=0,05$.

Výsledky

Kultivace DB v bezsérových podmínkách

Po 7-denní kultivaci mononukleárních prekurzorů v bezsérových podmínkách bez přídavku stimulans, jsme dle očekávání zjistili, že získané buňky oproti vstupnímu hodnocení snížily expresi monocytárního znaku CD14, exprimovaly znak myeloidních DB CD11c (vzestup průměrně z 5,8 % při vstupním hodnocení na 84,8 %) a naopak nebyla prokázána exprese znaku lymfoidních DB CD123 (při vstupu průměrně 0,3 % a pokles na 0,1 %). V kultuře byly objeveny také zbytkové lymfocyty (CD3⁺ průměrně poklesly ze vstupních 55,4 % na 12,1 %) a průměrně 10 % buněk snížilo FS a bylo PI⁺. Hodnoceny byly buňky s vyšší granularitou a velikostí než lymfocyty, tyto exprimovaly ve vysoké míře kostimulační molekulu CD86 a antigen prezentující molekulu HLA-DR. Dále buňky exprimovaly kostimulační molekulu CD80, exprese chemokininových receptorů CCR6 pro nezralé DB a CCR7 pro zralé DB byla nízká. Expresce markeru nezralosti DB CD1a vzrostla oproti vstupnímu hodnocení (obr. č.1), nicméně nedosáhla hodnot očekávaných u nezralých DB. Po 7-denní kultivaci nebyly nalezeny žádné statisticky významné rozdíly v expresi povrchových markerů mezi jednotlivými skupinami. Rozdíly v expresi markerů mezi jednotlivými skupinami (K, MGUS, MM) při vstupním hodnocení jsou zdůvodnitelné prováděnou separací MNBPK, při které může dojít ke kontaminaci erytrocyty a tedy k relativnímu snížení exprese markerů. Je také nutno připomenout, že variabilita výsledků je do značné míry dána variabilitou DB jednotlivých osob, a to bez přihlídnutí k jejich zdravotnímu stavu.

Kultivace DB v bezsérových podmínkách se stimulací CD40L

U DB kultivovaných 24h s CD40L byla exprese znaku CD14 opět snížena oproti vstupnímu hodnocení, zastoupení buněk s nižším FS a pozitivitou na PI se zvýšilo na průměrně 15 % všech buněk, také zde byly přítomny zbytkové T lymfocyty (průměrně 9,4 % CD3⁺). Expresce CD11c na populaci předpokládaných DB byla opět vysoká (průměrně 86,9 %) a CD123⁺ bb téměř nepřítomny (průměrně 0,1 %). Expresce markerů CD86 a HLA-DR byla obdobně vysoká jako u nestimulovaných DB. Vzrostla exprese CD80 i CD83, také exprese CCR6, CCR7 a CD1a (obr. č.1). Mezi jednotlivými skupinami (K, MGUS, MM) nebyl nalezen statisticky významný rozdíl v expresi zmiňovaných markerů, pouze znak CD1a v overall analýze vykazoval statisticky významný rozdíl ($p=0,041$), nicméně v následné analýze nebyl prokázán významný rozdíl. Oproti nestimulovaným DB u kontrol byly nalezeny statisticky významné změny v expresi markerů CD83 ($p=0,03$), CD86 ($p=0,03$) a CD1a ($p=0,02$). Pro MGUS byly nalezeny významné změny u markerů CD83 ($p=0,001$), CD80 ($p=0,001$), CCR6 ($p=0,018$) a CCR7 ($p=0,008$). Pro MM u markerů CD83 ($p=0,001$), CD80 ($p=0,001$), CD86 ($p=0,008$) a CCR7 ($p=0,009$).

Kultivace DB v autologních podmínkách se stimulací CD40L

Samostatnou skupinu tvoří DB kultivované s přídavkem autologního séra, u nichž byl srovnán vliv CD40L na maturaci DB. Takto byli zhodnoceni 3 zdraví dárce a po 3 pacientech s MGUS a MM - statistická analýza tedy nebyla na tak malém souboru provedena. Nicméně na obr. č. 1 je zřejmé, že autologní sérum zdravých dárců a pacientů neovlivnilo expresi HLA-DR ani CD86. Expresce znaků CD80, CD83, CD1a, CCR6 a CCR7 byly v autologních podmínkách u zdravých dárců vyšší než v bezsérových podmínkách a naopak u pacientů došlo ke snížení exprese těchto znaků.

Stanovení sérových hladin IL-6

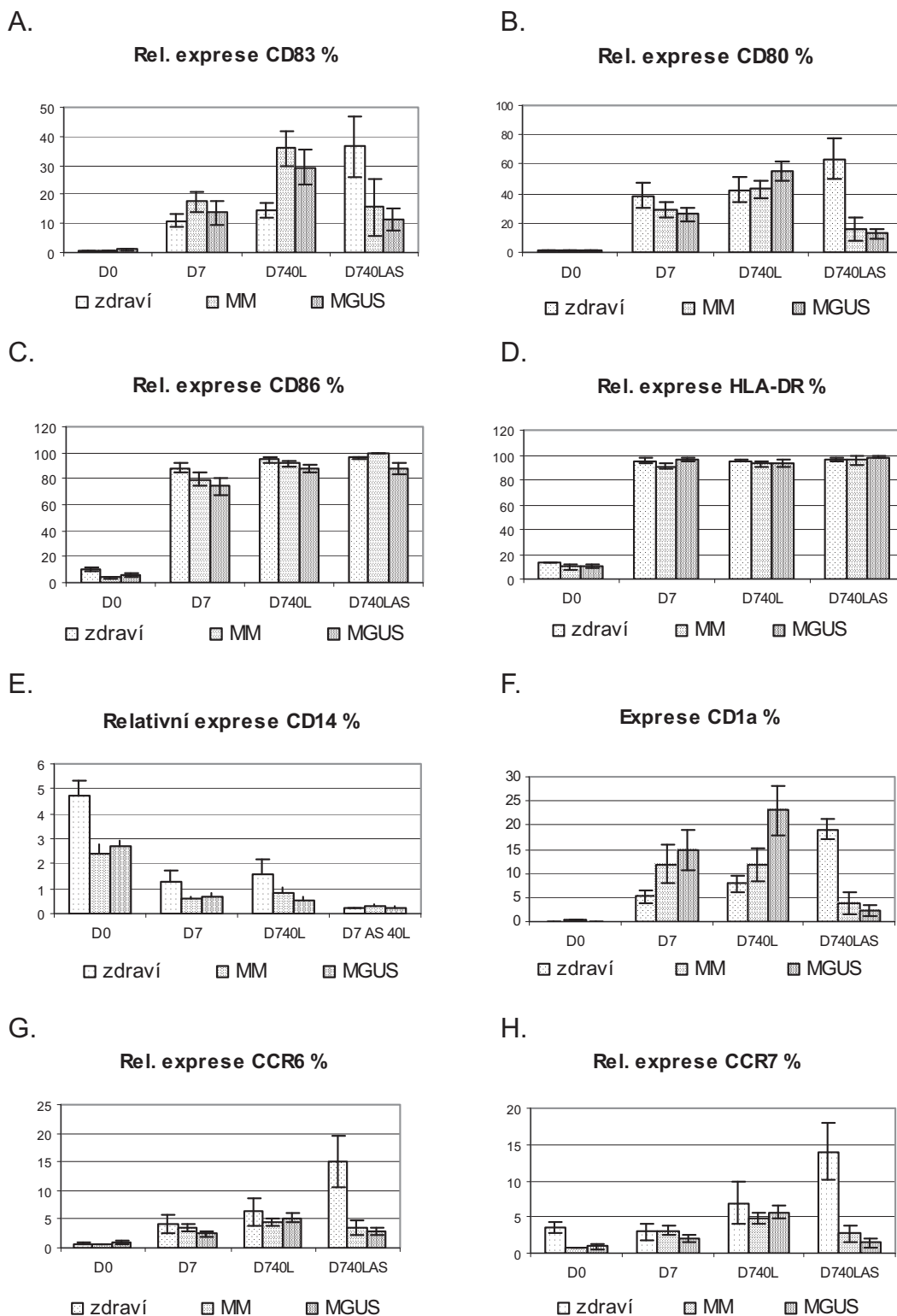
Jelikož byly analyzovány DB získané z periferní krve, zhodnotili jsme pomocí ELISA hladiny IL-6 v séru periferní krve, abychom zjistili, zda-li tento cytokin patří mezi hlavní inhibitory vyžívání DB. Zjištěné hodnoty (medián) byly velice variabilní (K 1,7 pg/ml; MGUS 3,1 pg/ml; MM 1,9 pg/ml) a skupiny mezi sebou nevykazovaly statisticky významný rozdíl.

Stanovení hladin IL-12p70 v supernatantech kultur

Hodnoceny byly supernatanty kultur DB a to vstupně (po 2h adherenci, den 0), při výměně média ve 3. den kultivace a dále při ukončení pokusu. Hodnocením supernatantů ze dne 0 a 3 jsme zjistili, že se hladiny IL-12p70 pohybovaly v naprosté většině případů pod detekčním limitem testu. Nicméně také při hodnocení supernatantů ze 7 dne byly hladiny IL-12p70 nízké a často pod detekčním limitem testu: bez přihlídnutí k typu sledované skupiny bylo zjištěno pro nestimulované DB průměrně 0,24 pg/ml IL-12p70; pro stimulaci CD40L v bezsérových podmínkách 0,57 pg/ml; pro stimulaci CD40L v autologních podmínkách 0,57 pg/ml. Tyto výsledky bereme pouze jako předběžné s nutností opakování testu pomocí ELISA kitu jiné firmy.

původní práce

Obrázek č. 1: Relativní exprese jednotlivých markerů u studovaných skupin v závislosti na dni kultivace (%). Zobrazeny jsou průměrné hodnoty markerů se směrodatnou odchylkou. D0 – počátek kultivace, D7 – 7. den kultivace bez stimulace, D7 40L – 7. den kultivace po stimulaci CD40L, D7 40L AS – 7. den kultivace po stimulaci CD40L v autologních podmínkách. K- zdravé kontroly, MGUS - pacienti s monoklonální gamapatií nejasného významu, MM - pacienti s mnohočetným myelomem.



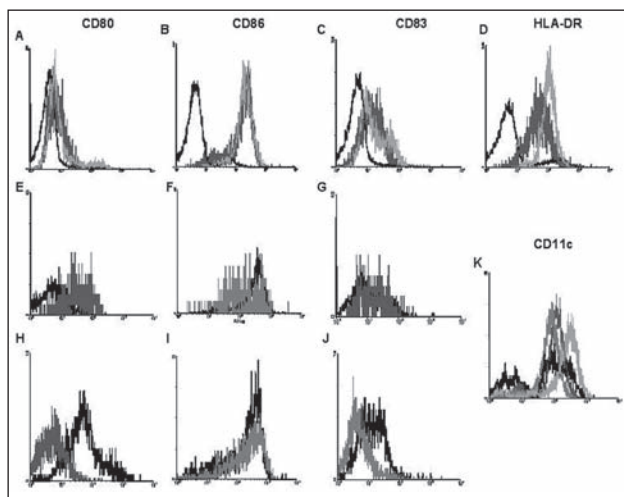
Diskuse

Zprávy o úplné funkčnosti DB u MM jsou poněkud rozporuplné. Monoklonální gamapatie nejasného významu, předcházející ve většině případů MM, z tohoto hlediska zatím nebyla sledována. U myelomových pacientů se stabilní nemocí však po stimulaci trimerickým lidským ligandem huCD40LT v podmínkách 10 % fetálního séra nedocházelo ke zvýšení exprese kostimulační molekuly CD80 na DB, a to v důsledku inhibice přítomnými TGF- β 1 a IL-10 (Brown 2001). Podobnou inhibicí DB zprostředkovávají také VEGF a IL-6, kdy u DB kultivovaných se sérem pacientů s MM následně docházelo pouze ke slabé aktivaci T-lymfocytární imunitní odpovědi, naopak přidání neutralizujících protilátek tento inhibiční efekt odstranilo (Hyayashi 2003). Další pracovní skupina srovnávala DB kultivované z CD14⁺ monocytů s DB purifikovanými z periferní krve pacientů s MM a zjistila, že pouze DB periferní krve vykazují nižší expresi HLA-DR, CD80 a i nižší schopnost stimulace T lymfocytů ve srovnání se zdravými dárci (Ratta 2002).

Pro prvotní zjištění rozdílů v expresi povrchových markerů DB jsme využili záměrně bezsérové podmínky, jelikož standardně používané AB sérum může vést k inhibici diferenciaci DB, jak zjistila Lyakh a kol., která sledovala expresi monocytárního markeru CD14 a znaku zralých DB CD83 po stimulaci různými cytokiny (2000). V nepřítomnosti autologního séra jsme neočekávali rozdíl mezi zdravými dárci a pacienty, poněvadž prekurzory DB se vyvíjely bez přítomnosti možných inhibičních faktorů, což se potvrdilo. Námi získané nezralé DB exprimovaly většinu markerů popisovaných v literatuře (vysoká exprese CD86

a HLA-DR, proměnlivá exprese CD80, snížená exprese CD14). Neočekávaně nízká exprese znaku CD1a byla popsána také u nezralých DB zdravých dárců a pacientů s rakovinou plic (Pedersen 2005) a možná souvisí s druhem prekurzorů použitých pro kultivaci (monocyty vs. MNBPK), kdy monocyty mohou zřejmě časněji tvořit nezralé DB a tedy exprimovat ve vyšší míře znak CD1a. Případně by mohlo v kulturách docházet ke spontánní maturaci DB bez zvýšení exprese CD83 současně provázené snížením exprese CD1a. Exprese chemokinových receptorů CCR6 a CCR7 byla nízká, což odpovídalo nízké expresi CD1a a CD83. Také produkce IL-12p70 byla nízká, nicméně toto přičítáme spíše neadekvátně vybranému testu, poněvadž literárně uváděná produkce cytokinu IL-12p70 je prokazatelná již v kulturách nezralých DB (Pedersen 2005) a také v předchozích experimentech naší skupiny byla prokázána zvýšená produkce tohoto cytokinu při srovnávání různých maturačních směsí (Büchler 2003). Jak bylo zjištěno, stimulace CD40L vede spíše k diferenciaci monocytů do zralých DB než k indukci nezralých či aktivovaných DB do zralých (Rosenzwajg 2002). V souladu s tímto tvrzením jsme našim případem zjistili, že samotný CD40L ve zvolených podmínkách nestačí k plné maturaci, neboť nebylo dosažené vysoké exprese markeru zralých DB CD83 ani chemokinového receptoru CCR7, který je zodpovědný za migraci DB do lymfatických tkání. Stimulací se ovšem exprese těchto markerů zvýšila, stejně jako se zvýšila exprese kostimulační molekuly CD80, která je spolu s CD86 zásadní v aktivaci T lymfocytů. Exprese CCR6 rovněž nevýrazně stoupla, což je v souladu s dostupnou literaturou (Rosenzwajg 2002). Exprese CD1a byla nejvyšší u MM, což by odpovídalo snížené schopnosti myelomových buněk vyžít. Produkce IL-12p70 byla mírně zvýšena, přesto však platí nutnost opakovaní ELISA s jiným kitem, ačkoliv nízké hladiny mohou vypovídat o nedostatečné stimulaci DB pomocí CD40L. Studium dalších stimulans či případně jejich směsí předpokládáme možnost dosažení vyššího % zralých DB, přičemž je publikováno, že různé směsi stimulans mohou vyvolávat rozdílnou (navzájem nekorelující) expresi markerů široce využívaných ke stanovení zralých DB (např. CCR7 vs. IL-12p70) (Pedersen 2005).

Kultivace DB v autologních podmínkách, tedy s přidavkem vlastního inaktivovaného séra, se u zdravých dárců projevila výrazným nárůstem exprese markerů nezralých i zralých DB (zejména exprese CD83), což by mohlo vypovídat o nezbytnosti autologního séra pro získání kvalitních DB, ovšem pouze u zdravých dárců. Při srovnání s DB pacientů s MM či MGUS, nalezený výrazný pokles vybraných markerů vypovídá o přítomnosti sérových inhibičních faktorů, které zásadním způsobem ovlivňují kvalitu DB, zejména expresi kostimulační molekuly CD80. Je zajímavé, že tato inhibice byla nalezena již na úrovni MGUS, která není řazena do hematologických onemocnění. V literatuře je popsáno ovlivnění inhibičních vlastností séra pomocí protilátek, což by ovšem vyžadovalo přesné stanovení obsahu a druhu inhibitorů v séru pacientů. Např. Brown a kol. zjistili, že pro klinické použití nevhodný neutralizující anti-TGF β by mohl



Obrázek č. 2: Charakterizace kultivovaných DB v závislosti na dni či typu kultury - změna exprese vybraných markerů. (A-D) Pacient s MGUS v bezsérových podmínkách: černá linie - vstupní histogram, tmavě šedá linie - 7. den kultivace, světle šedá linie, 7. den kultivace po stimulaci CD40L. (E-F) Zdravý dárc: černá linie - stimulace CD40L v bezsérových podmínkách, šedá linie - stimulace CD40L v autologních podmínkách. (H-J) Pacient s MM: černá linie - stimulace CD40L v bezsérových podmínkách, šedá linie - stimulace CD40L v autologních podmínkách. (K) Nárůst exprese CD11c v průběhu kultivace v bezsérových podmínkách: černá linie - vstup, tmavě šedá linie - 3. den kultivace, světle šedá linie - 7. den kultivace, velmi světlá šedá linie - 7. den kultivace po stimulaci CD40L.

být v budoucnu nahrazen IL-12 či IFN γ , které také dovedou neutralizovat nízkou expresi CD80 po stimulaci CD40L, navíc bez změny v zastoupení myeloidních a lymfoidních krevních DB (2004). Byl také sledován vliv přídatku IL-6 ke kultuře CD34⁺ prekurzorů, projevující se zvýšenou expresí CD14 a sníženou expresí CD1a. Neutralizací pomocí anti-IL-6 se obnovil původní fenotyp CD14⁺CD1a⁺ (Ratta 2002). Při analýze použitého séra jsme se zaměřili pouze na IL-6, který koreluje s agresivitou choroby a se špatnou prognózou pacientů, nicméně v séru periferní krve nebyl nalezen výrazný rozdíl v hladině IL-6 mezi jednotlivými hodnocenými skupinami, přestože se jednalo o neléčené pacienty. Což nás vede k domněnce, že tento cytokin není jediným inhibítozem vyžívání DB, ale působí v komplexu s dalšími. Pro úplnost dodáváme, že hladina IL-6 nebyla sledována v séru kostní dřene, neboť jsme se zabývali DB získanými z MNBPK a tedy ovlivněnými periferní krví.

Závěr

Kultivací DB jsme zjistili, že v bezsérových podmínkách jsou rozdíly v expresi povrchových markerů nezralých či CD40L stimulovaných DB mezi skupinou zdravých dárců a pacientů s MGUS a MM bez statisticky významných rozdílů, což je základní předpoklad pro terapeutické využití a funkčnost DB u pacientů. Předpokládáme, že samotný CD40L není dostatečný pro diferenciaci nezralých DB do plně zralých, jelikož nedošlo k výraznému zvýšení exprese markerů zralých DB. V podmínkách autologního séra lépe prospívají DB zdravých dárců, zatímco u pacientů se výrazně snižuje exprese CD80, CD83, CD1a, CCR6 a CCR7. IL-6 tvoří zřejmě jen jeden z komplexu mnoha inhibičních faktorů séra periferní krve, ne však zásadní, který se v tomto procesu uplatňuje.

Podporováno grantem MZČR NR/8081-3 a MŠMT LC 06027

Literatura:

1. Banchereau J, Steinmann RM. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* 1998; 392:245-252
2. Brossart P, Wirths S, Brugger W, Kanz L. Dendritic cells in cancer vaccines. *Exp Hematol*. 2001; 29:1247-1255
3. Brown RD, Pope B, Murray A, Esdale W, Sze DM, Gibson J, Ho PJ, Hart D, Joshua D. Dendritic cells from patients with myeloma are numerically normal but functionally defective as they fail to up-regulate CD80 (B7-1) expression after huCD40LT stimulation because of inhibition by transforming growth factor-beta1 and interleukin 10. *Blood*. 2001 Nov 15; 98(10): 2992-2998
4. Hayashi T, Hideshima T, Akiyama M, Raje N, Richardson P, Chauhan D, Anderson KC. Ex vivo induction of multiple myeloma-specific cytotoxic T lymphocytes. *Blood*. 2003 Aug 15;102(4):1435-1442.
5. Romani N, Gruner S, Brang D, Kampgen E, Lenz A, Trockenbacher B, Konwalinka G, Fritsch PO, Steinman RM, Schuler G. Proliferating dendritic cell progenitors in human blood. *J Exp Med*. 1994 Jul 1;180(1):83-93
6. Barton GM, Medzhitov R. Control of adaptive immune responses by Toll-like receptors. *Curr Opin Immunol*. 2002 Jun;14(3):380-383
7. Medzhitov R. Toll-like receptors and innate immunity. *Nat Rev Immunol*. 2001 Nov;1(2):135-145
8. Rosenzwajg M, Jourquin F, Tailleux L, Gluckman JC. CD40 ligation and phagocytosis differently affect the differentiation of monocytes into dendritic cells. *J Leukoc Biol*. 2002 Dec;72(6):1180-1189
9. Schultz J, Nadler L, Gribben J. B7-mediated costimulation and immune response. *Blood Rev*. 1996;10:111-127
10. Ratta M, Fagnoni F, Curti A, Vescovini R, Sansoni P, Oliviero B, Fogli M, Ferri E, Della Cuna GR, Tura S, Baccarani M, Lemoli RM. Dendritic cells are functionally defective in multiple myeloma: the role of interleukin-6. *Blood*. 2002 Jul 1;100(1):230-237
11. Brown R, Murray A, Pope B, Sze DM, Gibson J, Ho PJ, Hart D, Joshua D. Either interleukin-12 or interferon-gamma can correct the dendritic cell defect induced by transforming growth factor beta in patients with myeloma. *Br J Haematol*. 2004 Jun;125(6):743-748
12. Lyakh LA, Koski GK, Telford W, Gress RE, Cohen PA, Rice NR. Bacterial lipopolysaccharide, TNF-alpha, and calcium ionophore under serum-free conditions promote rapid dendritic cell-like differentiation in CD14⁺ monocytes through distinct pathways that activate NK-kappa B. *J Immunol*. 2000 Oct 1;165(7):3647-3655
13. Pedersen AE, Thorn M, Gad M, Walter MR, Johnsen HE, Gaardsdal E, Nikolajsen K, Buus S, Claesson MH, Svane IM. Phenotypic and functional characterization of clinical grade dendritic cells generated from patients with advanced breast cancer for therapeutic vaccination. *Scand J Immunol*. 2005 Feb;61(2):147-156
14. Büchler T, Hájek R, Bourková L, Kovářová L, Musilová R, Bulíková A, Doubek M, Svobodník A, Mareschová I, Váňová P, Tůzová E, Vidláková P, Vorlíček J, Penka M. Generation of antigen-loaded dendritic cells in a serum-free medium using different cytokine combinations. *Vaccine* 2003;21:877-882

Korespondenční adresa:

Mgr. Lucie Kovářová,
OKH-LEHABI, FN Brno, PMDV, Jihlavská 20, 625 00 Brno
email: lkovarova@fnbrno.cz,
tel: 532232632, fax: 53223

Došlo / Submitted: 6. 9. 2007
Přijato / Accepted: 20. 11. 2007

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy. The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů. The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE „uniform requirements“ for biomedical papers.

LYMFATICKÉ MAPOVÁNÍ U KARCINOMU ČÍPKU DĚLOŽNÍHO

LYMPHATIC MAPPING IN CERVICAL CANCER

ŠEVČÍK L¹., KLÁT J¹., GRÁF P¹., ČUŘÍK R²., KRAFT O³, JALŮVKOVÁ Z.¹

¹ PORODNICKO-GYNEKOLOGICKÁ KLINIKA FN OSTRAVA

² ÚSTAV PATOLOGIE FN OSTRAVA

³ KLINIKA NUKLEÁRNÍ MEDICÍNY FN OSTRAVA

Souhrn

Východiska: Cílem studie bylo ověřit možnost předoperačního znázornění sentinelových uzlin (SLN) lymfoscintigrafií a možnost peroperační detekce SLN po kombinovaném značení lymfotropním barvivem a radioaktivním koloidem u pacientek s časným stádiem cervikálního karcinomu. **Typ studie a soubor:** Klinická prospektivní studie. Od května 2004 do listopadu 2006 bylo do studie zařazeno 106 pacientek s časným stádiem karcinomu čípku děložního, u kterých byla provedena radikální operace dle Wertheima-Meigse. **Metody a výsledky:** Pacientky byly rozděleny podle velikosti nádoru do tří skupin. Po aplikaci techneciem značeného koloidu byla předoperačně provedena statická scintigrafie, peroperačně byly SLN detekovány vizuálně po aplikaci lymfotropního barviva a měřením radioaktivity ruční gamasondou. SLN byly zpracovány ultramikrostagingovou technikou s využitím imunohistochemického vyšetření. Celkově bylo detekováno 309 SLN, průměrný počet SLN na pacientku byl 2,9 uzlin. Úspěšnost scintigrafie byla 82,4 % na pacientku, resp. 62,3 % na stranu.

Úspěšnost peroperační detekce byla 94,3 % na pacientku, resp. 84,4 % na stranu a je závislá na objemu tumoru. Metastatické postižení lymfatických uzlin bylo zjištěno u 39 pacientek (36,8 %). Mikrometastatické postižení lymfatických uzlin jsme zaznamenali u 15 pacientek (14,2 %). Senzitivita byla 93,9 % a negativní prediktivní hodnota 97,0 %. Falešnou negativitu SLN jsme zaznamenali ve 2 případech (5,1 %).

Závěr: Kombinovaná peroperační detekce SLN lymfotropním barvivem a techneciem značeným koloidem je vhodná a přesná metoda ke stanovení lymfogenního šíření u stádia IA2- IB1 cervikálního karcinomu.

Klíčová slova: karcinom čípku děložního, sentinelová uzlina, radikální chirurgická léčba

Background and Aims:

The aim of the study is to analyze the feasibility of intraoperative sentinel lymph nodes (SLN) detection using gamma detection probe and blue dye in patients with cervical cancer.

Design and Subjects: Prospective clinical study. 106 patients with cervical cancer were included into the study in the period from May 2004 to November 2006. **Methods and Results:** Patients were divided into three groups according to the tumor volume. Lymphoscintigraphy was performed following an injection of 99m Tc-labeled nanocolloid and intraoperatively the SLN were identified visually after marking of lymphatic vessels with blue dye and further detected using a handheld gamma detection probe. The SLN were histologically and immunohistochemically analyzed.

Total number of 309 SLN with an average of 2.9 per patient were identified. The SLN detection rate was 94.3 % per patient, 84.4 % per side, and depended on the tumor volume. Metastatic disease was detected in 39 patients (36.8 %) and micrometastatic disease in 15 patients (14.2 %). Sensitivity and negative predictive value calculated were 93.9 % and 98.0 %, false negative rate reached 5.1 %.

Conclusions: Intraoperative detection of SLN using combination of technecium-99-labeled nanocolloid and blue dye represents a feasible, safe and accurate technique to identify lymphatic spreading in stages IA2-IB1 of cervical cancer.

Key words: uterine cervical cancer, sentinel lymph node biopsy, radical surgery

Úvod

Standardem léčby časných stádií cervikálního karcinomu je radikální chirurgická léčba se systematickou pánevní lymfadenektomií, která zvyšuje morbiditu a je u většiny pacientek nadbytečná, neboť pozitivita uzlin u nádorů menších než 2 cm je v rozmezí od 0-15 %, u nádorů velikosti 2-4 cm je přítomna v 15-30 % [1].

Stav lymfatických uzlin je nejdůležitějším prognostickým faktorem časných stádií cervikálního karcinomu, přičemž všechny předoperační zobrazovací metody včetně CT, MRI i PET CT pro průkaz positivity lymfatických uzlin

(LN) selhaly. Z tohoto důvodu je od roku 1999 studován u karcinomu čípku děložního koncept SLN a lymfatického mapování, který se stal již standardem léčby u melanomu a slibné výsledky jsou také u karcinomu prsu a vulvy.

Poznání stavu regionálních lymfatických uzlin je důležité pro vybrání léčebného postupu, pro který stále platí, že by léčebné modality neměly být kombinovány, neboť kombinace radikální chirurgické léčby s radioterapií výrazně zvyšuje morbiditu a nezvyšuje celkové přežívání pacientek.

Koncept lymfatického mapování vychází z předpokladu, že v případě lymfogenního šíření nádoru se metastázy

objeví nejdříve v SLN, takže její pozitivita je důkazem lymfogenního šíření a naopak v případě negativy SLN je lymfogenní šíření nádoru vyloučeno.

Materiál a metody

V období od května 2004 do listopadu 2006 bylo do studie zařazeno 106 pacientek s časným stádiem karcinomu čípku děložního, splňujících vstupní kritéria zařazení do souboru. Kritériem pro vyřazení ze souboru bylo peroperační zjištění prorůstání tumoru do parametrií. V těchto případech bylo od radikální chirurgické léčby upuštěno, byly extirpovány pouze SLN, případně zvětšené uzliny. Diagnóza karcinomu byla ve všech případech histologicky verifikována před operací, všechny pacientky zařazené do studie podepsaly informovaný souhlas. Průměrný věk žen studovaného souboru činil 48,8 let (24-79). Histologicky se jednalo v 88 případech o spinocelulární karcinom, v 15 případech o adenokarcinom a ve 3 případech o adenoskvamozní karcinom. U 40 pacientek byla provedena konizace k určení histopatologického stádia nemoci. U 13 pacientek s klinicky a sonograficky diagnostikovaným stádiem onemocnění FIGO IB2 byla aplikována neoadjuvantní chemoterapie v režimu high dose (DDP 75mg/m², IFO 1,75g/m²) v celkové délce 3 cyklů aplikované v intervalu 10 dnů. (Tab.1)

Tabulka 1. Charakteristika souboru.

Stadium	N	%
IA2	5	4,7
IB1<2 cm	51	48,1
IB1>2 cm	32	30,2
IB2	13	12,3
IIA	5	4,7
Histologický typ		
spino	88	83,0
adeno	15	14,2
jiné	3	2,8
Diferenciace		
G1	51	48,1
G2	32	30,2
G3	23	21,7
Lymfangioinvaze		
L1	81	76,4
Lo	25	23,6
Růstový vzorec		
endo	84	79,2
exo	22	20,8
Konizace		
ano	40	37,7
ne	66	62,3

Předoperační detekce

Předoperační statická scintigrafie byla provedena u 102 pacientek, z technických důvodů nebyla provedena u 4 pacientek. Detekce SLN byla provedena za 30 - 60 minut po peritumorózní aplikaci radiokoloidu.

U prvních 23 pacientek jsme používali dvoudenní protokol značení SLN s aplikací radiofarmaka 16 - 19 hodin před operací. V dalším období jsme používali jednodenní protokol s aplikací radiofarmaka 2 hodiny před operací. Aplikace radiokoloidu byla provedena spinální 25-gauge jehlou ze 4 vpichů do lůžka tumoru, u pacientek po předchozí konizaci bez zjevného makroskopického rezidua do 4 kvadrantů čípku děložního. Z radiofarmak byl u prvních 17 pacientek

použit preparát NANOCOLL (99mTc nanokoloid lidského sérového albuminu firmy Nycomed Amersham Sorin Saluggia, Itálie), u dalších pacientek byl použit preparát SENTISCINT (koloid sérového lidského albuminu značený 99mTc, firmy FJC National Research Institute for Radiobiology and Radiohygiene, Budapešť, Maďarsko) v dávce 40 až 120 MBq.

Peroperační detekce

Na operačním sále v celkové anestézii byla z dolní střední laparotomie otevřena dutina břišní a po aspekci vnitrobřišních orgánů s vyloučením šíření nádorového procesu mimo dělohu bylo otevřeno retroperitoneum bez preparace paravezikální a pararektální fosy. Poté byly stejným způsobem jako při aplikaci radiokoloidu aplikovány 4 ml patentní modři PATENT BLUE V, (firmy Guerbert, Roissy CdG Cedex, Francie). SLN byly identifikovány vizuálně sledováním lymfatických cév od tumoru k první lymfatické uzlině a měřením radioaktivity ruční kolimační gamasondou. K radionavigaci byly používány tři typy gamasond, gamasonda NEO 2000 firmy Neoprobe Corporation Dublin, Ohio, USA, gamasonda EUROPROBE firmy Euromedical, Le Chesnay, Francie nebo sonda DI SURPRO firmy Delong instruments, Brno, Česká republika. Po identifikaci a exstirpaci SLN byla dokončena systematická pánevní lymfadenektomie a radikální hysterektomie dle Wertheima-Meigse v radikalitě Piver II-III. SLN byly pečlivě označeny, byl zaznamenán jejich počet, pozitivita jednotlivých způsobů značení a lokalizace. V našem souboru jsme nezaznamenali žádnou komplikaci související s aplikací vyšetřovacích látek. Pokles saturace hemoglobinu kyslíkem na pulzním oxymetru po aplikaci patentní modři neměl klinický korelát s aktuálním stavem pacientky. V časném pooperačním období jsme zaznamenali dvě komplikace, nesouvisející s metodami mapování SLN.

Histopatologické zpracování

Peroperační histologické vyšetření uzlin na zmrzlo jsme neprováděli, SLN byly zpracovány až po zalití do parafinových bločků ultramikrostagingovou technikou. Při histopatologickém zpracování byl popsán počet uzlina, jejich velikost ve třech rovinách. SLN byla krájena v paralelních řezech v dlouhé ose od konvexity k hilu ploténky v šířce nepřesahující 1 mm, dále byla postupně prokrájena ve čtyřech sériových 2 - 4 μm tenkých řezech postupně barvených hematoxylin-eosinem, imunohistochemicky s protilátkami proti cytokeratinu (Monoclonal Mouse Antihuman cytoceratine AE1/AE3, DAKO, Carpinteria, CA), metodou PAS a jedním řezem nebarveným pro případ nutnosti provedení dodatečných imunohistochemických vyšetření. Jednotlivé úrovně krájení byly od sebe vzdáleny 50 μm a každá SLN byla prokrájena celá.

Výsledky

Předoperační detekce

Předoperační scintigrafie nezobrazila SLN u 18 pacientek (17,6 %), detekována byla u 84 pacientek (82,4 %), u 43 pacientek (51,2 %) oboustranně a u 41 pacientek (48,8 %) jen na straně jedné. Úspěšnost statické předoperační scintigrafie byla 82,4 % na pacientku, respektive 62,3 % na stranu. Senzitivita byla 83,3 %, specificita 33,3 %, pozitivní prediktivní hodnota 95,2 %, negativní prediktivní hodnota 11,1 % a přesnost 80,4 %.

Peroperační detekce

U studovaného souboru bylo peroperačně detekováno 309 SLN, vpravo 173, vlevo 136 uzlin. Průměrný počet SLN na pacientku byl 2,9 uzlin, na pravou stranu 1,6 uzliny a na levou stranu 1,3 uzliny.

SLN byly identifikovány v 48,8% v oblasti supraobturatorní fosy, v 18,8 % v oblasti zevních ilických cév, v 9,4 % v oblasti vnitřních ilických cév, v 8,7 % v oblasti společných ilických cév, v 4,9 % v oblasti interilické, v 4,9 % v oblasti sakrální a v 4,2 % v parametriích. V oblasti infraobturatorní fosy jsme SLN v našem souboru detekovali jen v jednom případě (0,3 %).

Úspěšnost peroperační detekce jsme vyhodnotili pro jednotlivé vyšetřovací metody a pro kombinaci metod.

Vizuálně modrým zbarvením lymfatických uzlin s identifikací lymfatických cév byly SLN detekovány u 87 pacientek (82,1 %), u 19 pacientek (17,9 %) byla detekce neúspěšná. Oboustranně se SLN detekovaly u 68 pacientek (78,2 %), u 19 pacientek (21,8 %) jen jednostranně. Úspěšnost detekce byla při použití této metody 82,1 % na pacientku, resp. 73,1 % na stranu. Senzitivita detekce SLN při užití barviva byla 90,0 %, negativní prediktivní hodnota 95,0 % a přesnost 96,5 %.

Radionavigací ruční gamasondou byly SLN detekovány u 93 pacientek (87,7 %), u 13 pacientek (12,3 %) byla detekce neúspěšná. Oboustranně se SLN detekovaly u 72 pacientek (77,4 %), u 21 pacientek (22,6 %) jen jednostranně. Úspěšnost detekce touto metodou byla 87,7 % na pacientku, resp. 77,8 % na stranu. Senzitivita byla 93,5 %, negativní prediktivní hodnota 96,9 % a přesnost 97,8 %. (Tab.2)

Při kombinaci obou vyšetřovacích metod byly SLN detekovány u 100 pacientek, úspěšnost detekce byla 94,3 % na pacientku, resp. 84,4 % na stranu. U 79 pacientek (79 %) se SLN detekovaly oboustranně a u 21 pacientek (21 %) jen jednostranně. U 6 pacientek (5,6 %) byla detekce SLN neúspěšná. Senzitivita pro kombinované užití radiokoloidu a patentní modři byla ve 93,9 %, negativní prediktivní hodnota 97,0 % a přesnost 98,0 %.

Při využití kombinované metody zobrazení došlo ke zvýšení úspěšnosti detekce oproti značení barvivem o 12,4 % na pacientku, resp. o 11,3 % na stranu a o zvýšení úspěšnosti detekce oproti radionavigaci o 6,6 % na pacientku i na stranu. Oboustranná detekce SLN byla úspěšná u 79 pacientek, což znamená zvýšení úspěšnosti detekce o 10,2 % oproti vizuální detekci, resp. 6,6 % oproti radionavigaci.

Úspěšnost detekce SLN byla závislá na objemu tumoru. U stádií IA2-IB1 a stádia IIA objemově malých nádorů byla SLN detekována v 96,8 % na pacientku resp. 87,1 % na stranu, u stádia IB2 byla SLN diagnostikována v 76,9 % na pacientku, resp. 65,4 % na stranu. Rozdíl v úspěšnosti detekce mezi oběma skupinami je 19,9 % na pacientku, resp. 21,7 % na stranu. (Tab.3.)

Histopatologické zpracování

Metastatické postižení lymfatických uzlin bylo zjištěno u 39 pacientek (36,8 %), u kterých byla na podkladě tohoto negativního prognostického faktoru indikována adjuvantní léčba.

Falešnou negativitu SLN jsme v našem souboru při kombinaci obou peroperačních metod lymfatického mapování zaznamenali ve 2 případech (5,1 %). Při radionavigační metodě detekce SLN by byla falešná negativita u dvou pacientek (5,1 %), při užití lymfotropního barviva by byla falešná negativita u 3 pacientek (7,7 %).

Diskuze

V dnešní době neexistuje vhodná zobrazovací metoda, která by byla schopna stanovit pozitivitu regionálních lymfatických uzlin, měnící klinické stádium nemoci z FIGO IB na histopatologické stádium FIGO IIIB, které je důvodem k indikaci adjuvantní léčby. Metastatické postižení regionálních lymfatických uzlin je přitom nejdůležitějším prognostickým faktorem přímo ovlivňujícím rekurenci a přežívání pacientek. Delgado [1] ve své studii prokázal tříleté bezpříznakové období u pacientek bez postižení lymfatických uzlin v 85,6 % případů, oproti 74,4 % případů u pacientek s pozitivními uzlinami. Pětiletý interval přežití se snižoval s počtem postižených uzlin. Zatímco u pacientek s jednou pozitivní uzlinou byl pětiletý interval přežití 62 %, u dvou pozitivních uzlin již byl 36 %, resp. 20 % u tří pozitivních uzlin. U pacientek s pěti a více pozitivními uzlinami nepřežila žádná pacientka. V naší studii se stádium nemoci z důvodu positivity lymfatických uzlin změnilo ve 36,8 % případů.

Radikální operace dle Wertheima-Meigse v radikalitě PIVER II-III je dosud zlatým standardem léčby časných stádií cervikálního karcinomu. Odhlédneme-li od morbiditu spojené se samotnou chirurgickou léčbou, kombinace léčebných modalit výrazně zvyšuje procento komplikací léčby. Pokud bychom byli schopni předoperačně nebo peroperačně prokázat lymfatické šíření nádoru vyšetřením sentinelové uzliny, mohli bychom od chirurgické léčby ustoupit, indikovat primární chemoradioterapii a tím snížit komplikace léčby a morbiditu pacientek.

Identifikace, exstirpace a ultramikrostagingové zpracování SLN umožní podrobnější histopatologické a imunohistochemické vyšetření SLN, které není možné pro svou časovou i ekonomickou náročnost provést u všech odebraných uzlin. V naší studii jsme pro detekci SLN používali vždy laparotomický přístup, neboť po exstirpaci SLN následovala radikální operace. Abychom mohli zavést koncept lymfatického mapování do léčebného protokolu cervikálního karcinomu, musíme prokázat vysokou úspěšnost detekce SLN a nízkou falešnou negativitu.

Úspěšnost detekce SLN kolísá v literatuře v závislosti na použité technice mapování, na charakteristice použité látky, způsobu a časování aplikace od 55,5-100 % [2,3,4,5,6,7]. Dvoudenní protokol používají Buist a Niikura [8,11], 3-6 hodin před operací van Dam [10] a interval do hodiny Plante a Rob [12,5]. Výhodou užití barviva je hlavně možnost vizuální kontroly, při užití radiokoloidu jsou detekovány uzliny i v méně častých lokalizacích, které by mohly při vizuálním vyhledávání uniknout. Počet získaných SLN při používání radionavigace závisí na velikosti částic koloidu. U koloidu s menšími partikulami je rychlejší průnik do dalších uzlin, které vykazují vysokou radioaktivitu [13,11]. V naší studii jsme zpočátku používali dvoudenní protokol a radiokoloid s menší velikostí partikulí, později

Tabulka 2. Úspěšnost značení sentinelové uzliny dle použité techniky mapování.

Metoda	N	Oboustranně	Jednostranně	Detekce na pacientku		Detekce na stranu		Falešná negativita
Hot+blue	106	79	21	100	94,4 %	179	84,4 %	2
Hot	106	72	21	93	87,7 %	165	77,8 %	2
Blue	106	68	19	87	82,1 %	155	73,1 %	3

Tabulka 3. Závislost úspěšnosti detekce na velikosti nádoru.

Skupina	N	Detekce SLN		Detekce SLN oboustranná	Detekce SLN jednostranná	Detekce na stranu %	Falešná negativita
IA2	5	5	100,0 %	3	2	80,0 %	0
IB1 < 2cm	51	50	98,0 %	39	11	87,2 %	0
IB1 > 2cm	32	30	93,7 %	25	5	85,9 %	2
IB2	13	10	76,9 %	7	3	65,4 %	0
IIA	5	5	100,0 %	5	0	100,0 %	0
Celkem	106	100	94,3 %	79	21	84,4 %	2
Celkem bez IB2	93	90	96,8 %	72	18	87,1 %	2

jsme přešli na jednodenní protokol a radionuklid s většími částicemi a prokázali jsme vyšší úspěšnost detekce u koloidu s většími částicemi.

Předoperační scintigrafie vykazuje v naší studii menší úspěšnost detekce SLN než detekce peroperační, taktéž znázornění SLN na kůži je pro pánevní uzliny pouze orientační. Rob [5] považuje provedení předoperační scintigrafie u cervikálního karcinomu za časově a ekonomicky nevýhodné a málo přínosné. Dle našeho názoru může být předoperační scintigrafie vodítkem pro peroperační exstirpaci SLN, zvláště při netypické lokalizaci.

Plante et al. [12] udává ve své studii míru detekce při užití barviva 87 %, při kombinované technice 93 %. Ve studii Di Stefana [14] při použití barviva a laparotomickým přístupem byla detekce SLN 90 % na pacientku, 100 % úspěšnost detekce SLN při užití barviva uvádějí ve svých studiích Medl [15] a Holub [16]. Studie Roba [5], Buista [8], Planta [12] a Niikury [11] prokazují vyšší úspěšnost detekce SLN při užití kombinované techniky, vyšší úspěšnost detekce jsme prokázali také v naší porovnávací studii [7]. Podobné výsledky jsou při vztažení úspěšnosti detekce na stranu pánve, která je v publikovaných studiích při užití lymfotropního barviva průměrně 72,2 %, při užití radiokoloidu 60,1 % a při kombinované technice 81,2 %. Rob et al. [17] porovnávali ve své studii úspěšnost detekce SLN při použití lymfotropního barviva s kombinovanou technikou lymfotropního barviva a radioaktivní látkou značeného koloidu. Úspěšnost detekce SLN na stranu byla u první skupiny 71 % a byla závislá na velikosti tumoru, úspěšnost detekce SLN u skupiny s kombinovaným značením byla 93,4 %, bez statisticky významné závislosti na velikosti nádoru. K podobným závěrům docházíme i v naší studii. Úspěšnost detekce SLN byla v našem souboru i při užití kombinované metody výrazně ovlivněna objemem tumoru pouze u stádia FIGO IB2. V našem souboru jsme prokázali úspěšnost detekce SLN 94,8 % na pacientku, resp. 85,1 % na stranu. Pokud bychom ze souboru vyloučili objemné tumory, byla by úspěšnost identifikace SLN 98 % na pacientku, respektive 90 % na stranu.

Při hodnocení anatomické lokalizace SLN všechny studie prokazují u cervikálního karcinomu variabilitu lymfatického bazénu, většina SLN je identifikována ve

dvou hlavních lokalitách, v oblasti obturatorní a zevní ilické [8,11, 12].

Tyto údaje potvrzuje i naše studie, ve které byly SLN nalezeny v 48 % v oblasti supraobturatorní fosy a v 15 % v oblasti zevních ilických cév, zatímco v oblasti parametriální a presakrální byly SLN detekovány v 5 a 6 % případů, v oblasti společných ilických cév to bylo 9 %. Kombinované histologické vyšetření hematoxylinem-eosinem a imunohistochemické vyšetření odhalilo metastázy u 39 pacientek (36,8 %), u kterých byla napodkladě tohoto negativního prognostického faktoru indikována adjuvantní léčba. U 16 pacientek (41,0 %) s prokázaným lymfogenním šířením nádoru se jednalo o metastatické postižení pouze SLN, u 10 pacientek (25,6 %) byly diagnostikovány mikrometastázy, v 6 případech makroskopické metastázy (15,4 %). Mikrometastatické postižení lymfatických uzlin jsme zaznamenali u 15 pacientek (14,2 %), v 10 případech se jednalo o mikrometastázy v SLN, ve 3 případech o mikrometastázy v nesentinelových i sentinelových uzlinách a ve 2 případech v nesentinelových uzlinách při nedetekovaných SLN. Pokud by nebylo provedeno ultramikrostagingové vřetření SLN, k falešně negativnímu vyhodnocení lymfatických uzlin by došlo u 10 pacientek (9,4 %), čímž by se detekce snížila na 27,4 %. V případě, že bychom připočetli k této falešné negativitě lymfogenního šíření dalších 5 pacientek s mikrometastázami i v nesentinelových uzlinách, prokázalo by se metastatické postižení ve 22,6 % případů.

Pozitivita SLN byla ve studii Niikury [11] diagnostikována v 10 % případů, ve studii Roba [5] v 15 % případů, v 5 % byly zjištěny pouze mikrometastázy. Silva et al. [6] detekovali metastázy ve 27 % případů v SLN, ve 32 % případů ve všech lymfatických uzlinách. V 59 % případů byly pozitivní pouze SLN. Podstatnou výhodou konceptu SLN je podrobnější a přesnější histopatologické zpracování využívající imunohistochemických metod zaměřené na detekci mikrometastáz. Studie Barrangera, Di Stefana a Lantsche [2,14,18] prokazují až 20 % zvýšení pozitivitu SLN při ultramikrostagingovém zpracování. Takové jsou i naše zkušenosti, při zavedení konceptu sentinelové uzliny došlo ke zvýšení pozitivitu regionálních lymfatických uzlin o 20 %.

Počet pacientek s pozitivními lymfatickými uzlinami je v naší studii vyšší, než udává většina autorů, což si vysvětlujeme způsobem histopatologického zpracování při zpracování celé SLN a při mezerách mezi jednotlivými úrovněmi krájení 50 um, a velkým podílem zachycených mikrometastáz, které by bez použití ultramikrostagingové metody z velké části unikly detekci.

Falešná negativita kolísá v literatuře mezi 0-12 % a je většinou dávana do souvislosti s užitím barviva [2,6,17]. Di Stefano udává falešnou negativitu 10 % [14] Marchiole 12 % [19], Rob [17] zjistil ve skupině s detekcí barvivem 1 falešnou negativitu v presakrální oblasti, u kombinované techniky falešnou negativitu neprokazuje. V našem souboru jsme falešnou negativitu SLN při kombinaci obou peroperačních metod lymfatického mapování zaznamenali ve 2 případech (5,1 %).

Závěr

Dosažené výsledky řešeného projektu ukazují, že metoda kombinované detekce SLN je vhodnou metodou ke stanovení lymfogenního šíření nádoru, která ve spojení s ultramikrostagingovým zpracováním SLN vede ke zvýšení zachytu metastaticky postižených uzlin, především uzlin s mikrometastázami. Zkoumané metody vykazují dostatečnou úspěšnost detekce, vysokou senzitivitu a negativní prediktivní hodnotu a nízkou falešnou negativitu. Zavedení tohoto konceptu do diagnosticko-terapeutického plánu umožní při využití miniinvazivních operačních technik vybrání vhodného způsobu léčby se snížením morbidit a zvýšením kvality života.

Práce byla podpořena grantem MZ ČR NR 8144-3/2004

Literatura:

1. Delgado G., Bundy BN., Fowler WC., et al.: A prospective surgical pathological study of stage I squamous carcinoma of the cervix, A Gynecologic Oncology Group Study. *Gynecol. Oncol.*, 35, s. 314-320
2. Barranger E., Grahek G., Cortez A., et al.: Laparoscopic sentinel node procedure using a combination of Patent Bleu and radioisotope in women with cervical carcinoma. *Cancer*, 2003, 97, 12, s. 3003-3009.
3. Levenback C., Coleman RL., Burke TW., et al.: Lymphatic mapping and sentinel node identification in patients with cervix cancer undergoing radical hysterectomy and pelvic lymphadenectomy. *J. Clin. Oncol.*, 2002, 20, 3, s. 688-693.
4. Malur S., Krause N., Kohler C., Schneider A.: Sentinel lymph node detection in patients with cervical cancer. *Gynecol. Oncol.*, 2001, 80, s. 254-257.
5. Rob L., Strnad P., Robova H., et al.: Study of lymphatic mapping and sentinel node identification in early stage cervical cancer. *Gynecol. Oncol.*, 2005, 98, s. 281-288.
6. Silva LB., Silva-Filho AL., Traiman P., et al.: Sentinel node detection in cervical cancer with ^{99m}Tc-phytate. *Gynec. Oncol.*, 2005, 97, s. 588-595.
7. Ševčík L., Klát J., Gráf P., et al.: Lymfatické mapování a detekce sentinelové uzliny u časných stádií cervikálního karcinomu. *Čes. Gynek.*, 2005, 71, 4, s. 411-415.
8. Buist MR., Pijpers RJ., Van Lingen A., et al.: Laparoscopic detection of sentinel lymph nodes followed by lymph node dissection in patients with early stage cervical cancer. *Gynecol. Oncol.*, 2003, 90, s. 290-296.
9. O'Boyle JD., Coleman R., Bernstein SG., et al.: Intraoperative lymphatic mapping in cervix cancer patients undergoing radical hysterectomy: a pilot study. *Gynecol. Oncol.*, 2000, 79, s. 238-243.
10. Van Dam P.A., Hauspy J., Vanderheyden T., et al.: Intraoperative sentinel node identification with Technetium-99m-labeled nanocolloid in patients with cancer of the uterine cervix: A feasibility study. *Int. J. Gynecol. Cancer*, 2003, 13, s. 182-186.
11. Niikura H., Okamura C., Akahira J., et al.: Sentinel lymph node detection in early cervical cancer with combination ^{99m}Tc phytate and patent blue. *Gynecol. Oncol.*, 2004, 94, s. 528-532.
12. Plante M., Renaud MC., Bernard T., et al.: Laparoscopic sentinel node mapping in early-stage cervical cancer. *Gynecol. Oncol.*, 2003, 91, s. 494-503.
13. Lelievre L., Camatte S., Le Frere-Belda M.A., et al.: Sentinel lymph node biopsy in cervix and corpus uteri cancers. *Int. J. Gynecol. Cancer*, 2003, 14, s. 271-278.
14. Di Stefano AB., Acquaviva G., Garozzo G., et al.: Lymph node mapping and sentinel node detection in patients with cervical carcinoma: A 2-year experience. *Gynecol. Oncol.*, 2005, 99, s. 671-679.
15. Medl M., Peters-Engl Ch., Schütz P., Veselý M., Sevelka P.: First report of lymphatic mapping with Isosulfan Blue Dye and sentinel node biopsy in cervical cancer. *Anticancer research*, 2000, 20, s. 1133-1134.
16. Holub Z., Jabor A., Lukáč J., Kliment L.: Laparoscopic detection of sentinel lymph nodes using blue dye in women with cervical and endometrial cancer. *Med. Sci. Monit.*, 2004, 10, s. 587-591.
17. Rob L., Charvát M., Robová H., et al.: Identifikace sentinelových lymfatických uzlin u časných stádií cervikálních karcinomů. *Čes. Gynek.*, 2004, 69, 4, s. 273-277.
18. Lantzsch T., Wolters M., Grimm J., et al.: Sentinel node procedure in IB cervical cancer: a preliminary series. *British J. Cancer*, 2001, 85, s. 791-794
19. Marchiolé P., Buénerd A., Scoazec JY., et al.: Sentinel lymph node biopsy is not accurate in predicting lymph node status for patients with cervical carcinoma. *Cancer*, 2004, 100, 10, s. 2154-2159.
20. Verheijen RHM., Pijper R., van Diest PJ., et al.: Sentinel node detection in cervical cancer. *Obstet. Gynecol.*, 2000, 96, s. 135-138.
21. Pijper R., Buist MR., van Lingen A., et al.: The sentinel node in cervical cancer: scintigraphy and laparoscopic gamma probe-guided biopsy. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, 2004, 31, 11, s. 1480-148

Korespondenční adresa:
MUDr. Libor Ševčík Ph.D.
Porodnicko-gynekologická klinika FN Ostrava, 17.listopadu 1790,
Ostrava, 708 52, e-mail: libor.sevcik@fnspo.cz

Došlo / Submitted: 11. 10. 2007
Přijato / Accepted: 15. 12. 2007

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.
The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zaslané do biomedicínských časopisů.
The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE „uniform requirements“ for biomedical papers.

RADIOTERAPIÍ INDUKOVANÝ GLIOBLASTOM U DÍTĚTE LÉČENÉHO PRO MEDULOBlastOM MOZEČKU (KASUISTIKA A PŘEHLED LITERATURY)

RADIOTHERAPY INDUCED GLIOBLASTOMA IN A CHILD PREVIOUSLY TREATED FOR CEREBELLAR MEDULLOBLASTOMA (CASE REPORT AND REVIEW OF THE LITERATURE)

PAVELKA Z.¹, BRICHTOVÁ E.², KŘEN L.³, SKOTÁKOVÁ J.⁴, OLTOVÁ A.⁵, ŠLAMPA P.⁶, ZITTERBART K.¹, ŠTĚRBA J.¹

¹ KLINIKA DĚTSKÉ ONKOLOGIE LF MU BRNO A FN BRNO

² KLINIKA DĚTSKÉ CHIRURGIE, ORTOPEDIE A TRAUMATOLOGIE LF MU A FN BRNO

³ PATOLOGICKO ANATOMICKÝ ÚSTAV LF MU A FN BRNO

⁴ KLINIKA DĚTSKÉ RADIOLOGIE LF MU A FN BRNO

⁵ ODDĚLENÍ LÉKAŘSKÉ GENETIKY FN BRNO

⁶ KLINIKA RADIAČNÍ ONKOLOGIE MASARYKOVA ONKOLOGICKÉHO ÚSTAVU V BRNĚ

Souhrn

Maligní gliomy představují nejčastější radioterapií indukovaný („sekundární“) solidní tumor. Jejich prognóza zůstává navzdory agresivní multimodální terapii krajně nepříznivá. Presentujeme kazuistiku 16-ti letého chlapce, který vyvinul glioblastom šest let po kombinované léčbě pro medulloblastom. Diskutujeme klinické projevy, patologické a cytogenetické nálezy, stejně jako léčebné možnosti.

Klíčová slova: radioterapie, sekundární malignita, radioterapií indukovaný gliom, prognóza

Summary

Malignant gliomas represent the most frequent radiotherapy induced („secondary“) solid tumor. Their prognosis remains extremely poor despite of aggressive multimodal treatment. We present a case report of a 16 years old boy who developed cerebellar glioblastoma six years following the combined treatment for medulloblastoma. Clinical history, pathological and cytogenetic findings of the case are discussed along with treatment possibilities.

Key words: radiotherapy, second malignancy, radiotherapy induced glioma, prognosis

Úvod

Celková incidence sekundárních malignit pro všechny děti bez rozdílu primární diagnózy je udávána mezi 8 a 12 % ve 20 letech po primární malignitě (1). Mezi známé etiologické faktory se počítá léčba ionizujícím zářením, chemoterapie alkylačními činidly a epipodophylotoxiny (2). Incidence sekundárních malignit v poslední době narůstá, což je dáváno do souvislosti s větší intenzitou léčby a s nárůstem počtu přežívajících (3).

Specifickou kapitolu pak představují druhotné nádory CNS vzniklé po léčbě předchozí malignity nervového systému v dětství. Prognosticky krajně nepříznivé jsou zejména sekundární maligní gliomy (SMG), které představují nejčastější malignitu po léčbě ionizujícím zářením na oblast CNS (4). Terminologicky je třeba odlišovat sekundární glioblastom po předchozí onkologické léčbě od stejného termínu popisujícího glioblastom vzniklý postupnou anaplastickou progresí z původně nízkostupňového gliomu. Nádor, který je následkem předchozí léčby zářením, je lepší označovat

jako radioterapií indukovaný gliom (RIG). V literatuře se však běžněji používá právě označení sekundární gliom či glioblastom.

Prognóza dětí s RIG je obecně špatná. Konvenční chemoterapie neprokázala dostatečnou efektivitu (5), novější přístupy založené na vysoce-dávkované (MAT) chemoterapii (6) či stereotaktické radioterapii (7) také nevedou k významnějšímu dlouhodobému přežití pacientů. Kurativní radioterapie je zpravidla nemožná. Existuje tedy snaha najít nová účinná cytostatika do kombinací, mezi nové léčebné trendy patří anti-angiogenní terapie (8), či například vakcinace dendritickými buňkami (9). Žádné z těchto metod však nepřekročily dosud fáze 2-3 klinických studií a jejich potenciální přínos čeká na komplexní zhodnocení.

Kazuistika

U chlapce bez anamnestické genetické zátěže byl v roce 2000 diagnostikován klasický medulloblastom mozečku. Byla provedena subtotální resekce s ponechaným residuem

velikosti plochy < 1,5 cm² v zadní jámě potvrzeným pooperační MRI. Diseminace procesu byla vyloučena (negativní MRI míchy a negativní cytologie likvoru). Ze známých biologických markerů meduloblastomu jsme tehdy vyšetřili z parafinových řezů status onkogenů MYCC, MYCN (negativní), klasická cytogenetika se nezdařila. Spektrum laboratorních vyšetření bylo omezeno nedostupností nativní tkáně – chlapec byl operován mimo specializované dětské onkologické centrum. Onemocnění bylo na základě kombinace klinických a rentgenologických znaků klasifikováno jako meduloblastom standardního rizika, Changoovo stádium T3aM0. Proběhla terapie dle protokolu SJMB 96 (rameno pro standardní riziko): ozáření kraniospinální osy dávkou 23,4 Gy, boost na zadní jámu včetně residua do 55,8 Gy s konkomitantním vinkristinem. Přesvětření po skončení radioterapie dokumentovalo 1. kompletní remisi. Následovala sekvence 4 bloků submyeloablativní chemoterapie s podporou autologních progenitorů krvetvorby (kumulativní dávky cytostatik: cyklofosfamid 16 g/m², cisplatina 360 mg/m²) (10). Chlapec byl dále sledován a setrval v dlouhodobé 1. kompletní remisi.

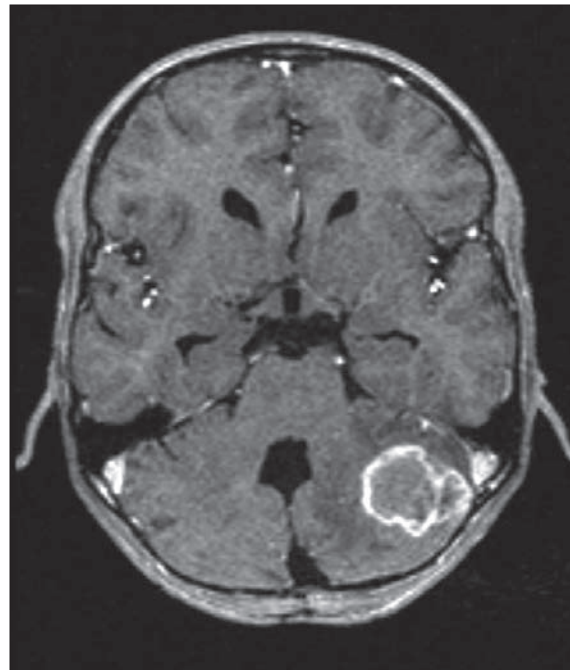
V listopadu 2006 (27. 11. 06) je při pravidelné MRI kontrole u jinak bezpříznakového chlapce prokázáno patologické ložisko v levé mozečkové hemisféře. Ložisko je velikosti cca 30x27 mm, v T1 zobrazení s nehomogenními hyperdenzitami, postkontrastně výrazněji opacifikuje lem na periferii až prstencovitého charakteru zejména v tzv. FLASH zobrazení (obrázek 1). Je přítomen kolaterální edém. Dne 11. 12. 2006 je provedena „radikální“ exstirpace tumoru. Pooperační MRI z 13. 12. 2006 (tedy 48 hodin po výkonu) je bez přítomnosti makroskopického residua tumoru. Definitivní histologie potvrzuje glioblastoma multiforme. Tumor je rozsáhle nekrotický, bohatě vaskularisován, tvořený jaderně výrazně nepravidelnými vesměs hyperchromními buňkami polymorfních tvarů, až monstrózními. Imunohistochemický profil je dokumentován tabulkou 1 a obrázky 2 – 3. Nádorová tkáň byla podrobena cytogenetickému a molekulárně cytogenetickému vyšetření. Vyšetření nádorové tkáně komparativní genomickou hybridizací (CGH) prokázalo vysoký počet genetických abnormalit (celkem 14), z toho 3 zisky a 11 ztrát (obrázek 4). Doplňující cytogenetické vyšetření (pruhování, G-banding) potvrdilo přítomnost amplifikace 12q (obrázek 5).

Tabulka 1: Imunohistochemický profil nádoru

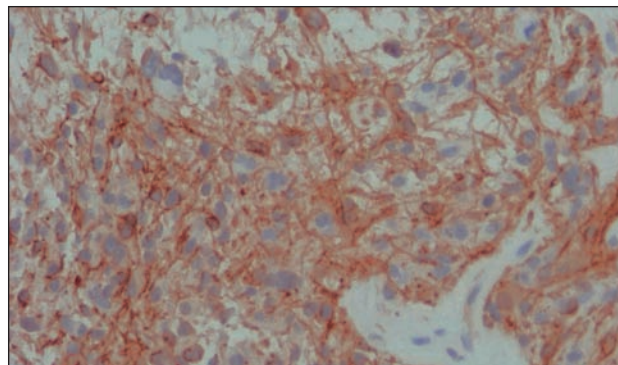
diagnóza	GBM
GFAP	+
EGFR (HER-1)	-
NSE	-
Synaptofysin	-
Ki67 (%)	42
p53	-

Operací pacient dosáhl rentgenologické remise glioblastomu, ovšem další léčebné možnosti u takto předléčeného dítěte byly značně omezené pro předchozí terapii v roce 2000 a poradiační etiologii. Zahájili jsme adjuvantní kombinovanou léčbu orálním temozolomidem (200 mg/m²/den 1- den 5 á 28 dní) v kombinaci s orálním etoposidem (50 mg/m²/ den 1-den 21 série) (11, 12). Celkem bylo podáno 5 takových sérií. Kontrolní MRI v dubnu 2007 ještě potvrzuje trvání remise. Avšak

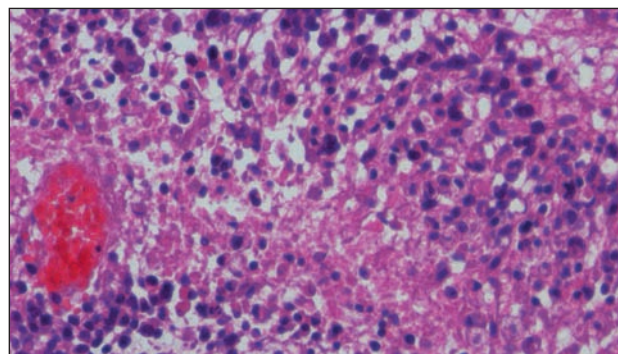
dne 27. 6. 2007 se pacient dostavuje s krátkou anamnézou obtíží ve smyslu paresy pravého nervus facialis. MRI vyšetření prokazuje rozsáhlou inoperabilní recidivu tumoru v zadní jámě s infiltrací kmene. Dochází k rychlému zhoršování stavu a dne 12. 7. 2007 dítě zmirá na progresi (Přežití bez relapsu = RFS 7 měsíců).



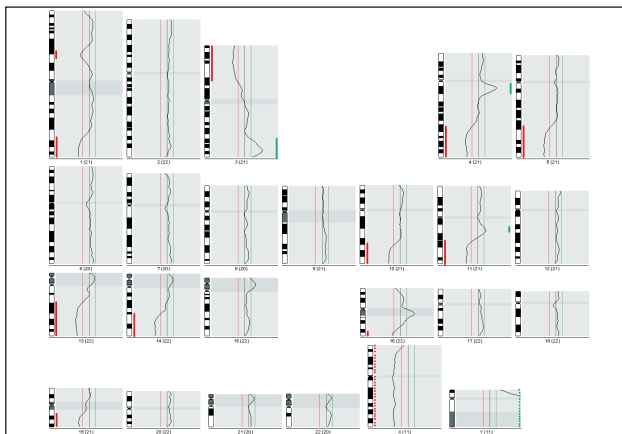
Obrázek 1: MRI mozku, FLASH, vyšetření po kontrastu



Obrázek 2: Pozitivní gliální fibrilární acidický protein (GFAP), zvětšení 200 x



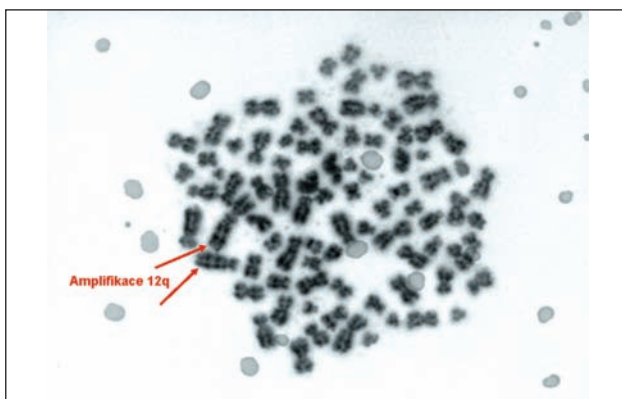
Obrázek 3: Hematoxylin-Eosin, geografická nekróza s palisádováním astrocytů, zvětšení 200 x



Výsledek

CGH: rev ish enh (3q26.1-qter,4q12-q13,11q13)
 rev ish dim (1p22-p31,1q32-qter,3p14-pter,4q28-qter,5q23-qter,10q24-qter,11q22-qter,13q21-qter,14q24-qter,16q24-qter,19q13.1-qter)
 Počet genetických abnormalit: Zisky: 3 Ztráty: 11 Celkem: 14
 zisk genetického materiálu : 3q26.1-qter,4q12-q13,11q13
 ztráta genetického materiálu : 1p22-p31,1q32-qter,3p14-pter,4q28-qter,5q23-qter,10q24-qter,11q22-qter,13q21-qter,14q24-qter,16q24-qter,19q13.1-qter

Obrázek 4: molekulárně-cytogenetický profil tumoru (CGH)



Obrázek 5: amplifikace 12q (pruhování, G-banding)

Diskuse

Sekundární maligní gliomy (SMG) představují mimo sarkomy nejčastější sekundární malignitu po léčbě radioterapií. Riziko vývoje gliomu jako sekundární malignity mohou ovlivňovat různé faktory. Za klasické jsou považovány mladý věk v době radioterapie a její dávka (1, 3). Většina gliomů jako sekundárních malignit se vyvíjí v první dekádě po radioterapii, ale nebezpečí narůstá následujících 20 let (13). Dalšími možnými etiologickými faktory jsou alkylační cytostatika (v našem případě vysoké dávky cyklofosfamidu) a genetické vlivy (13). Tato kazuistika popisuje GBM s latencí 6 let od radioterapie pro předchozí diagnózu meduloblastomu, literární přehledy uvádějí nejčastěji interval 7 – 10 let (13, 14). U dětí a adolescentů je udáván rovnoměrný výskyt SMG supra a infratentoriálně, podmínkou je lokalizace v ozařovaném poli (1, 3). Porovnání histopatologických nálezů u primárních a radioterapií indukovaných GBM přináší několik zjištění: Sekundární GBM často obsahuje malé nediferencované

buňky, vzácně jsou přítomny gemistocyty, je vyšší frekvence atypických mitóz, nižší celularita, frekventní mikrocystické a myxoidní změny (13). Receptor pro epidermální růstový faktor (EGFR), který je obvykle exprimován u primárních GBM dospělých, není zpravidla detekován u sekundárních GBM. Situace kolem exprese p53 u SMG, respektive literární data zaměřená na tuto problematiku jsou nekonzistentní (15). V našem případě nebyla overexprese p53 při imunohistochemickém vyšetření prokázána. Molekulárně - cytogenetické vyšetření detekovalo řadu genetických abnormalit ve smyslu ztrát genetického materiálu. Konkrétní význam a možné negativní ovlivnění prognózy je spojeno se ztrátou funkce tumor supresorových genů na příslušných lokusech: del 10q23-24 (tumor – supresorový gen PTEN), del 13q (tumor-supresorový gen RB1), del 19q. Amplifikace 12q je považována za důležitý negativní prognostický faktor, vazbou na lokus genu p53 vede k poruše jeho funkce. Literárně je také popsána asociace s amplifikací onkogenů GLI, SAS a CDK4 a GLI1 (15, 16). Lokalizace v mozečku a tedy v místě podané nejvyšší dávky kurativní radioterapie v roce 2000 (boost na zadní jámu do 55,8Gy), stejně jako pravděpodobná poiradiační etiologie tumoru, vylučovaly opětovné ozáření nervového systému kurativní dávkou. Dále jsme tedy zvažovali formu adjuvantní chemoterapie. Temozolomid (TMZ) jako novější cytostatikum demonstroval svoji efektivitu u studií dospělých pacientů s HGG a v pediatrické studii fáze II s refrakterními či relabujícími HGG, stejně jako příznivý toxický profil (11, 17). U dospělých pacientů s glioblastomy je tak dnes základním cytostatikem v adjuvantní léčbě, bohužel tato terapie je paliativní a pouze prodlužuje interval do progresu či recidivy (17). Na základě těchto výsledků byla nicméně formulována rozsáhlá multicentrická studie americké Children’s Oncology Group pro děti s nově dignostikovanými maligními gliomy (sled: lokální RT a konkomitanti metronomicky dávkovaný TMZ, následně blokovaný TMZ) uzavřená nedávno (18). Počáteční optimismus opadl, dosažené výsledky se neliší od těch, které poskytuje historická studie z 90. let kombinací vinkristin, carmustin, prednison (5). Jedinou „výhodou“ tak zůstává příznivý toxický profil, ambulantní léčba a vysoká cena preparátu. Dalším možným cytostatikem s již historicky známou efektivitou u nádorů CNS obecně a malou toxicitou je etoposid, je-li například podáván orálně v dávce 50mg/m² po dobu tří týdnů (11). Kombinace temozolomidu a VP16 byla studována u dospělých pacientů s rekurentními maligními gliomy (HGG), studie definovaly maximální tolerovanou dávku, ověřily obecně dobrou toleranci a prokázaly efektivitu u části pacientů (11). První informace o malých souborech dětských pacientů s refrakterními HGG včetně sekundárních nádorů po léčbě ionizujícím zářením v dětském věku léčebných kombinací orálního temozolomidu s etoposidem byly publikovány také nedávno (12). Jinou zvažovanou alternativou pro terapii našeho pacienta představoval přístup založený na vysoké dávkové intenzitě chemoterapie. Benefit takových režimů u maligních gliomů (včetně MAT) nebyl dosud jednoznačně prokázán (6). V současnosti například probíhá studie Children’s Oncology Group pro děti s recidivou maligního gliomu a minimální residuální nemocí po reoperaci randomizující 1 blok myeloablativní versus 3 bloky submyeloablativní chemoterapie (18). Výsledky nejsou dosud k dispozici.

Co je jisté, je značná toxicita takových režimů, zejména u silně předlčených pacientů. Po zvážení všech faktorů jsme se rozhodli pro léčbu výše uvedenou kombinací orálního etoposidu a temozolomidu, nicméně trvání remise bylo pouze krátkodobé. Vzhledem k extrémně špatné prognóze jsou pacienti s radioterapií indukovanými gliomy ideálními kandidáty pro nové postupy. Recentně tak proběhla či probíhá řada klinických studií fáze I nebo II s novými preparáty. Jsou to látky zvyšující dostupnost hematoencefalické bariéry (IL-13 a pseudomonádový exotoxin A, gliadel a O6-benzylguanin), radiosenzibilizující léky (gadolinium texafyrin) (13), malé molekuly inhibující specifické cíle (imatinib, gefitinib, tipifarnib) (20), anti-angiogenní preparáty (8), imunoterapie (vakcinace dendritickými buňkami) (9) apod.

Závěr

Přes známou kauzální vazbu mezi expozicí ionizujícím zářením a vznikem sekundární malignity není pro konkrétního jedince míra rizika jejího vývoje známa a nejsou k dispozici žádná profylaktická opatření. Pacienti s anamnézou léčby zářením v dětském věku by tedy měli být dlouhodobě sledováni i s ohledem na existující riziko rozvoje druhotné malignity v ozářeném terénu. Vzhledem k tristní prognóze RIG je kromě maximálně radikální a přitom šetrné resekce třeba individuálně zvažovat možnosti adjuvantní radioterapie a chemoterapie. Tyto pacienti jsou vhodnými kandidáty pro experimentální terapii.

Práce byla z části podpořena grantem IGA NR 9125-4

Literatura

- Meadows AT, Fenton J. Follow-up care of patients at risk for the development of second malignant neoplasm. In: Schwarz C, et al. Survivors of childhood cancer. St. Louis: Mosby; 1994: 319-27.
- Pizzo PA, Poplack DG (eds.). Principles and Practice of Pediatric Oncology. Fifth edition, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia/Baltimore/New York/London/Buenos Aires/ Hong Kong/Sydney/Tokyo, 2006.
- Peterson KM, Shao CH, McCarter R, et al. An Analysis of SEER Data of Increasing Risk of Secondary Malignant Neoplasm Among Long-Term Survivors of Childhood Brain Tumors. *Pediatr Blood Cancer* 2006; 47:83-8.
- Carret AS, Tabori U, Crooks B, et al. Outcome of secondary high-grade glioma in children previously treated for a malignant condition: a study of the Canadian Pediatric Brain Tumor Consortium. *Radiother Oncol* 2006; 81(1): 33-8.
- Finlay JL, Boyett JM, Yates AJ, et al. A randomized phase III trial in childhood high grade astrocytomas comparing vincristine, CCNU, and prednisolone with „eight-drugs-in one day“ regimen: A report of the Children's Cancer Group Trial CCG-945. *J Clin Oncol* 1995; 13: 112-23.
- Finlay JL, Goldman S, Wong MC, et al. A pilot study of high dose thiotepa and etoposide with autologous bone marrow rescue in children and young adults with recurrent central nervous system tumors. *J Clin Oncol* 1996; 14: 2495-503.
- Hodgson DS, Goumnerova LC, Loeffler JS, et al. Radiosurgery in the management of paediatric brain tumors. *Int J Rad Oncol Biol Phys* 2001; 50: 929-35.
- Sterba J, Valik D, Mudry P, et al. Combined biodifferentiating and antiangiogenic oral metronomic therapy is feasible and effective in relapsed solid tumors in children: single-center pilot study. *Onkologie*. 2006 Jul; 29(7): 308-13.
- De Vleeschouwer S, Rapp M, Sorg RV, et al. Dendritic cell vaccination in patients with malignant gliomas: current status and future directions. 2006 Nov; 59(5): 988-99.
- Strother D, Ashley D, Kellie SJ, et al. Feasibility of four consecutive high-dose chemotherapy cycles with stem-cell rescue for patients with newly diagnosed medulloblastoma or supratentorial primitive neuroectodermal tumor after craniospinal radiotherapy: Results of a collaborative study. *J Clin Oncol* 2001; 19: 2696-704.
- Korones DN, Benita-Weiss M, Coyle TE, et al. A phase II study of temozolomide and oral VP-16 for adults with recurrent malignant glioma. *Proc ASCO* 2003; 22: 447a.
- Korones DN, Smith A, Forman N, Bouffet E. Temozolomide and Oral VP-16 for Children and Young Adults With Recurrent or Treatment-Induced Malignant Gliomas. *Pediatr Blood Cancer* 2006; 47: 37-41.
- Romeike BF, Kim YJ, Steudel WI, Graf N. Diffuse high grade gliomas as second malignant neoplasms after radio-chemotherapy for pediatric malignancies. *Childs Nerv Syst* 2007; 23: 185-93.
- Stavrou T, Bromley CM, Nicholson HS, et al. Prognostic factors and secondary malignancies in childhood medulloblastoma. *J Pediatr Hematol Oncol* 2001; 23: 431-6.
- Pollack IF, Finkelstein SD, Woods J, et al. Expression of p53 and prognosis in children with malignant gliomas. *N Engl J Med* 2002; 346: 420 - 27.
- Kleihues P, Cavenee WK. Pathology and genetics of tumours of the nervous system. Lyon, IARC Press 2000; 123-48.
- Lashford LS, Thiesse P, Jouvet A, et al. Temozolomide in malignant gliomas of childhood: A United Kingdom Children's Cancer Study Group and French Society for Pediatric Oncology Intergroup Study. *J Clin Oncol* 2002; 20: 4684-91.
- www.childrenoncologygroup.org/members/protocols/brain tumors.
- Needle MN, Molloy PT, Geyer JR, et al. Phase II study of daily oral etoposide in children with recurrent brain tumors and other solid tumors. *Med Pediatr Oncol* 1997; 29: 28-32.
- Packer RJ, Reddy A. New treatments in pediatric brain tumors. *Curr Treat Options Neurol* 2004, 6: 377-89.

Korespondenční adresa:
MUDr. Zdeněk Pavelka
Klinika dětské onkologie FN Brno a LF MU Brno, Černopolní 9, 625 00 Brno
zpavelka@fnbrno.cz

Došlo / Submitted: 15. 8. 2007
Přijato / Accepted: 6. 12. 2007

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.
The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zaslané do biomedicínských časopisů.
The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE „uniform requirements“ for biomedical papers.

ZHOUBNÁ NÁDOROVÁ ONEMOCNĚNÍ PRSU U MLADÝCH ŽEN V ČESKÉ REPUBLICE 1989-2004

BREAST CANCER IN YOUNG WOMEN IN THE CZECH REPUBLIC – DATA FROM 1989 TO 2004

NOVÁK J.¹, PALÁCOVÁ M.¹, FORETOVÁ L.¹, MUŽÍK J.²

¹ MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV BRNO

² INSTITUT BIostatistiky a ANALÝZ LÉKAŘSKÉ A PŘÍRODOVĚDECKÉ FAKULTY MASARYKOVY UNIVERZITY

Incidence zhoubných nádorů prsu u žen v České republice trvale roste. Na řadě onkologických pracovišť je pozorován spolu se zvyšujícím se počtem nemocných údajně i čtenější záchyt onemocnění v mladším věku. Zda-li se incidence zhoubných nádorů prsu v populaci mladých žen v ČR skutečně zvyšuje, nebylo dosud doloženo.

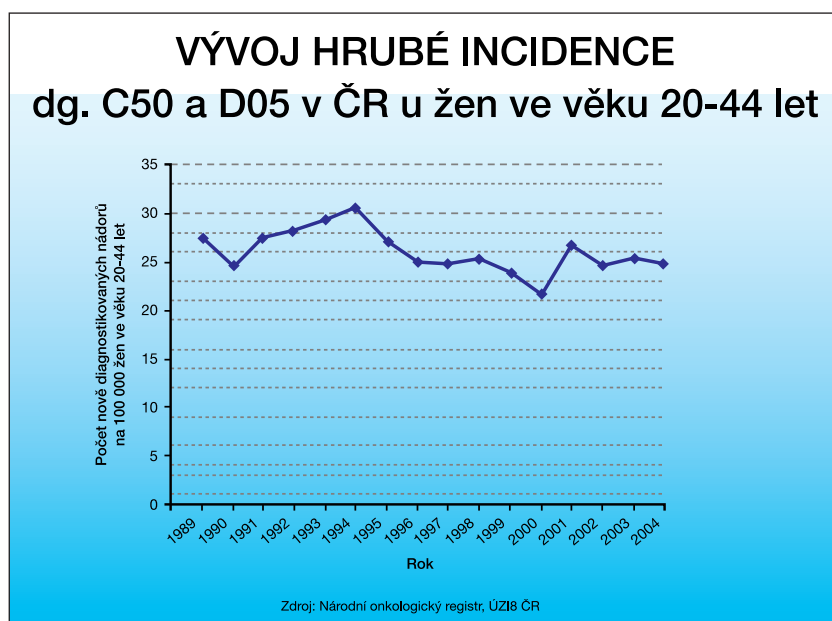
Níže uvedené údaje o Incidenci zhoubných nádorů prsu u pacientek ve věku 20-44 let jsou z dat Národního onkologického registru (NOR) České republiky [1]. Výstupy prezentují situaci za posledních 15 let a zahrnují nádory prsu jak invazivní (dg. C50), tak nádory in situ (dg. D05).

V průběhu celého sledovaného období let 1989-2004 bylo každoročně evidováno cca 400-500 nových případů. V této době se výrazně nemění ani hodnoty hrubé incidence, které se pohybují se okolo 25/100 000 žen věkových kategorií 20-44 let (graf č. 1). Jak ilustruje graf č. 2, podíl zhoubných nádorových onemocnění prsu u mladších věkových skupin na celkovém počtu má průběžně klesající tendenci.

Část této skupiny představují ženy s předpokladem vyššího rizika genetické zátěže při vzniku onemocnění. Genetická predispozice je způsobena především zárodečnými mutacemi v genech BRCA1 a BRCA2, které zvyšují riziko nádoru prsu až desetinásobně. U žen s jednostranným nádorem prsu diagnostikovaným do 40 let, bez rodinné zátěže, byla dědičná forma mutace v genu BRCA1 nebo BRCA2 zjištěna u 11 % testovaných [2, 3].

U pacientek do 35 let jsou zhoubné nádory prsu popisovány jako agresivnější a ve srovnání s nádory u starších premenopauzálních žen prognosticky méně příznivé. (Jedná se častěji o nádory receptor-negativní, vyššího gradingu, s vyšší proliferací frakcí, vaskulární invazí a vyšší expresí Ki-67. Velikost nádoru, stav uzlin a overexprese Her-2/neu bývá přítom u mladších i starších nemocných obdobná [4].)

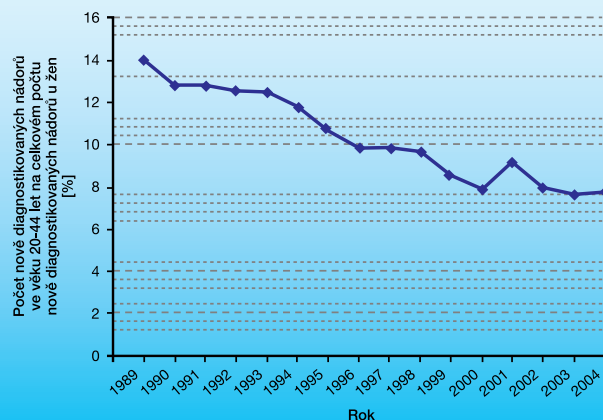
Růst incidence zhoubných nádorů prsu se týká pouze věkových skupin žen nad 50 let. Zhoubné nádory prsu u žen mladších nejsou v České republice z hlediska epidemiologie závažným problémem. Jedná se však o prognosticky závažnou podskupinu nádorových onemocnění, vyžadující specifické postupy v diagnosticko-léčebné praxi.



GRAF č. 1

Vývoj hrubé incidence zhoubných nádorů prsu žen: Česká republika 1989-2004

PODÍL ZN PRSU u žen ve věku 20-44 let na celkovém počtu dg. C50 a D05 v ČR



Zdroj: Národní onkologický registr, ÚZIS ČR

GRAF č. 2

Podíl zhoubných nádorů prsu mladších žen na celkovém počtu onemocnění: Česká republika 1989.-2004

Literatura:

- [Databáze Národního onkologického registru]. ISSN 1802-8861 cit. 20.12.2007. Dostupné na internetu: <http://www.svod.cz>
- Foretova, L., Machackova, E., Navratilova, M., et al. BRCA1 and BRCA2 mutations in women with familial or early-onset breast/ovarian cancer in the Czech Republic. *Human Mutation*, 2004, vol. 23, no. 4, p. 397-398.
- Lukešová, M., Macháčková, E., Vašíčková, P., Navrátilová, M., Pavlů, H., Urbánková, V., Kuklová, J., Foretová, L. Výsledky testování BRCA1 a BRCA2 genů v molekulárně genetické laboratoři Masarykova onkologického ústavu. *Klinická onkologie*, 2006, roč. 19, Supplement (1), s. 55-57.
- Colleoni, M., Rotmensz, N., Robertson, C. et al. Very young women (< 35 years) with operable breast cancer: features of disease at presentation. *Ann. Oncol.*, 2002, vol. 13, no. 2, p. 273-279.

Korespondenční adresa:

MUDr. Jiří Novák
Masarykův onkologický ústav
Žlutý kopec č.7,65653 BRNO

Přijato / Accepted: 15. 12. 2007

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.
The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.
The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE „uniform requirements“ for biomedical papers.

30TH ANNUAL SAN ANTONIO BREAST CANCER SYMPOSIUM 13.-16.12.2007, SAN ANTONIO, USA – PROBLEMATIKA RADIAČNÍ ONKOLOGIE

Zpráva z konference

ČOUPKOVÁ I.

MASARYKŮV ONKOLOGICKÝM ÚSTAV BRNO,
KLINIKA RADIAČNÍ ONKOLOGIE

Ve dnech 13.-16.12.2007 proběhl v San Antoniu v USA 30. ročník sympózia věnovaný nádorům prsu. Kongres komplexně shrnoval současnou problematiku diagnostiky i léčby karcinomu prsu a informoval o výsledcích randomizovaných studií. Přednášky byly věnovány rovněž prevenci, rizikovým faktorům a epidemiologii mammárního karcinomu. Podrobněji byla probírána role prediktivních faktorů, genetických faktorů, biologie nádorové buňky a angiogeneze. Byla přednesena ústní sdělení, bohaté byly rovněž příspěvky formou posterů. Vzhledem ke své specializaci se zaměřím na problematiku radiační onkologie.

Plánování radioterapie u pacientek s karcinomem prsu bylo přehledně shrnuto ve vyžádané přednášce (L. Pierce, University of Michigan School), která poukazovala na historický technický vývoj, na cíl zlepšovat léčebné výsledky při snižování toxicity a na nutnost individualizace při plánování radioterapie.

V bloku hlavního zasedání byla prezentována **kanadská randomizovaná studie akcelerované hypofrakcionované radioterapie prsu** po konzervativních chirurgickém výkonu u žen s negativními uzlinami. Účelem studie je určit, zda akcelerovaný hypofrakcionovaný 3-týdenní režim je stejně efektivní jako standardní 5-týdenní schéma. Od dubna 1993 do září 1996 bylo randomizováno 1234 žen, 622 do ramene A (42,5 Gy v 16 frakcích/22 dní) a 612 do ramene B (50 Gy v 25 frakcích/35 dní). V současné době je medián sledování 140 měsíců. Výsledky byly publikovány při mediánu sledování 69 měsíců (JNCI 2002;94:1143-50) a ukázaly podobnou míru lokální rekurence, přežití bez známek choroby, celkového přežití i radiační morbidit. Ačkoliv počáteční výsledky jsou slibné, trvá nedůvěra k tomuto novému postupu, dokud nebudou k dispozici dlouhodobé výsledky. Výsledky této studie by mohly mít významný důsledek pro užití hypofrakcionace u časného karcinomu prsu.

Britskými autory byly předvedeny první výsledky **studie zaměřené na standardizaci radioterapie prsu (START trial)**. Cílem studie bylo zjistit efekt režimů užívajících frakce větší než 2 Gy u pooperační radioterapie pacientek s časným karcinomem prsu. Byla sledována reakce zdravých tkání, lokoregionální kontrola tumoru, kvalita života a ekonomická stránka. Randomizací bylo srovnáno 41,6 Gy nebo 39 Gy ve 13 frakcích s kontrolní dávkou 50 Gy v 25 frakcích (ST-A) a 40 Gy v 15 frakcích se stejným kontrolním režimem (ST-B).

Celkem bylo zařazeno 2208 pacientek. Pacientky hodnotily vzhled svého těla po operaci a radioterapii pomocí stupnice (Body Image Scale) obsahující 10 položek. Změny prsu po radioterapii se týkaly stavu kůže, u pacientek po parciální mastektomii vzhledu prsu, jeho zmenšení a tuhosti při palpaci. Kritický pohled pacientek na vzhled svého těla se časem zlepšoval a nevykazoval rozdílů mezi režimy ani v trialu A ani v trialu B. Změny na kůži po radioterapii ukázaly signifikantní závislost na dávce v trialu A i B ve prospěch 39 Gy v trialu A a 40 Gy v trialu B. Frekvence změn ve tkáni prsu byla nižší pro režimy s 39 Gy a 40 Gy oproti kontrolnímu rameni 50 Gy. Studie ukazuje, že pacientky s časným karcinomem prsu mohou být bezpečně léčeny nižší celkovou dávkou menším počtem vyšších frakcí.

Pozornost byla věnována rovněž **brachyradioterapii karcinomu prsu. Studie RTOG 95-17** fáze I/II byla první studií kooperativní skupiny zkoumající v Severní Americe parciální ozáření prsu (PBI) a do dneška je jedinou studií hodnotící multikategorovou brachyradioterapii u pacientek s karcinomem prsu stadia I a II. Již dříve byly publikovány výsledky výběrné kontroly tumoru, nyní byla prezentována toxicita a kosmetická stránka. V letech 1997-2000 bylo zařazeno 100 pacientek, 99 z nich bylo hodnotitelných. Jednalo se o pacientky, u kterých byla provedena lumpektomie a axilární disekce pro invazivní nelobulární karcinom velikosti do 3 cm s negativními okraji a maximálně 3 pozitivními axilárními uzlinami. Pacientky byly léčeny buď high dose rate (HDR) nebo low dose rate (LDR) brachyradioterapií cestou multikategorového implantátu – 34 Gy v 10 frakcích 2x denně (HDR) nebo 45 Gy za 3,5–6 dní (LDR). 66 pacientek bylo léčeno HDR a 33 LDR. Pokud byla indikována chemoterapie, byla aplikována po brachyradioterapii. Median sledování je 7,6 roků. Follow up zahrnuje hodnocení kosmetického efektu odděleně pacientem, radiačním onkologem a chirurgem v 6 měsících, v 1 roce a dále ročně. Studie nebyla určena ke sledování rozdílů v toxicitě a kosmetickém výsledku mezi HDR a LDR. Výborný a dobrý kosmetický efekt ve 3 letech po HDR/LDR brachyradioterapii byl hodnocen pacientkou v 77%/63%, radiačním onkologem v 64%/56% a chirurgem v 75%/66%. PBI způsobem multikategorové brachyradioterapie má výborné a dobré kosmetické výsledky u většiny pacientek ve 3 letech po léčbě. K přesnému srovnání toxicity a kosmetického efektu parciálního ozáření prsu versus ozáření celého prsu bude potřebná randomizovaná studie. Za tímto účelem je v současné době připravená studie RTOG 0413/NSABP B-39.

Co se týká DCIS, existují dva prospektivní trialy – pouze lumpektomie versus lumpektomie následovaná ozářením celého prsu. V obou studiích, NSABP B-17 a EORTC 10853, míra recidivy v ipsilaterálním prsu byla redukována o 50% v rameni lumpektomie + radioterapie. Recidiva mimo původní lokalizaci ve skupině lumpektomie + radioterapie byla ekvivalentní skupině s pouhou lumpektomií.

Jako alternativa ozáření celého prsu byly vyvinuty způsoby parciálního ozáření prsu (PBI). 12 amerických onkologických center je zapojeno do **studie fáze II parciálního ozáření prsu pro DCIS pomocí brachyradio-terapie** za použití balónového systému MammoSite. Od května 2003 do ledna 2006 bylo zařazeno 133 pacientek s DCIS, léčeno bylo nakonec 100 pacientek. Byla aplikována dávka 34 Gy v 10 frakcích 2x denně. U 4 pacientek se objevila recidiva, vždy neinvazivní a vždy ipsilaterálně. Výborný a dobrý kosmetický výsledek byl zaznamenán u 98 % pacientek.

Kandidátky pro studii PBI musí být pečlivě selektovány a měly by být vyloučeny ty, u nichž je vysoké riziko lokoregionálního relapsu. V současné době probíhají v Severní Americe **dvě randomizované studie, které srovnávají PBI versus standardní ozáření celého prsu**. Tyto dvě studie mají odchylná kritéria pro zařazení, co se týká stavu uzlin. V **kanadské studii** je zařazení omezeno na pacientky s patologicky negativnímu uzlinami, avšak **do trialu NSABP B-39** je možno začlenit i pacientky s 1-3 pozitivními uzlinami. Byla proto analyzována data 6020 kanadských pacientek, u kterých byl v letech 1988-99 nově diagnostikován invazivní karcinom prsu, pT1-2, 0-3 pozitivní uzliny, M0 a které byly léčeny konzervativním chirurgickým zákrokem s negativními okraji a standardní radioterapií. Studie srovnávala relaps v prsu a v uzlinách u pacientek s 1-3 N+ s relapsem u pacientek s N0 a položila si otázku, zda pacientky s 1-3 N+ mají větší riziko lokoregionální recidivy a zda jsou ideálními kandidáty pro PBI. Studie dospěla k závěru, že pacientky s 1-3 N+, zejména mladého věku, s histologickým gr III a negativními ER, mají vyšší riziko regionálního relapsu v uzlinách, přibližně 10-15 %, i přesto, že jsou léčeny standardní radioterapií celého prsu a systémovou terapií. Tyto pacientky jsou indikovány k ozáření celého prsu a nejsou ideálními kandidáty k zařazení do trialu PBI.

Zajímavá byla analýza členů evropské skupiny Mezinárodní společnosti intraoperační radioterapie (ISORT), která byla zaměřena na **zhodnocení intraoperační radioterapie (IORT) ve formě boostu** u 1131 žen během konzervativního chirurgického výkonu. Jednalo se o pacientky s časným karcinomem prsu (pT1/pT2/pN0/pN1/M0). Při IORT byl použit elektronový svazek lineárního urychlovače o energii 6-8 MeV zaměřený přímo do lůžka tumoru pomocí plexisklových tubusů. Medián jednorázové dávky byl 9,7 Gy, dávka byla kalkulovaná na 90 % izodózu. Po zhojení operační rány následovalo ozáření celého prsu 50-54 Gy. Při medianu sledování 51,4 měsíce byla zjištěna recidiva v ipsilaterálním prsu u 0,5 % pacientek, vzdálené metastázy se objevily u 5,9 % pacientek a 93,5 % pacientek žije bez příznaků onemocnění. IORT ve formě boostu a následné ozáření celého prsu přináší tedy vynikající lokální kontrolu u pacientek po konzervativní operaci pro časný karcinom prsu. Dalšími výhodami IORT je precizní aplikace dávky za přímé vizuální kontroly lůžka tumoru, malý ozářovaný objem, šetření kůže a zkrácení doby ozářování.

Zmíněna byla rovněž problematika **pooperační radioterapie po rekonstrukci prsu**, což je téma stále kon-

troverzní. Na pracovišti v Dundee ve Velké Británii provedli u 68 pacientek rekonstrukční operaci prsu za použití autologní tkáně (DIEP rekonstrukce) okamžitě v době mastektomie. U 22 pacientek byla dále bezprostředně po rekonstrukci indikována radioterapie (45 Gy ve 20 frakcích za 4 týdny). Pacientky byly dále zvány na speciální kliniku, kde byl zvláštním přístrojem, mammetrem, objektivně měřen objem prsu, minimálně 1 rok po operaci. Při klinickém vyšetření nebyl zjištěn rozdíl ve stupni fibrózy a jizvení a objektivní volumetrické stanovení rekonstruovaného prsu neukázalo žádný signifikantní rozdíl mezi pacientkami po rekonstrukci ozářenými a neozářenými. Pooperační radioterapie tedy při použití autologní tkáně nepříznivě neovlivnila výsledek rekonstrukce prsu.

Cílem nových technik radioterapie je vedle zlepšování léčebných výsledků rovněž snižování radiačního zatížení zdravých tkání. Při ozařování prsu či hrudní stěny je důležité šetřit plíce a srdce. **Studie NYU 05-181** je prospektivní studií k **určení individuální optimální polo-ohy pacientky (pronační versus supinační) při ozařování celého prsu**. Ozařování prsu v pronační poloze může být realizováno formou hypofracionovaného konkomitantního boostu IMRT technikou (J.Clin.Oncol. 2007, Apr. 30). Do studie NYU 05-181 jsou zařazovány pacientky po parciální mastektomii klinického stadia 0, I a II. Při CT simulaci jsou získány řezy plánované ozařované oblasti jak v supinační, tak i v pronační poloze (zde za použití zvláštní podložky, která umožňuje volnou fixaci ozařovaného prsu ve speciálním otvoru). Zakreslení cílových objemů bylo provedeno v obou pozicích pacientky, pronační i supinační, a každá pacientka byla léčena podle vybraného optimálního plánu, který musel splňovat kritéria homogenního rozložení dávky v tkáni prsu, maximálního šetření srdce a maximálního šetření plicní tkáně. Hodnoceno bylo 194 pacientek, celkový plánovaný počet zařazených je 400. U 100 pacientek byl ozařován levý prs, u 94 pacientek pravý. U většiny pacientek (94 %-182/194) pronační poloha umožňovala větší šetření srdce a plic. Pro 12 pacientek (6 %) byla výhodnější supinační poloha, většinou se jednalo o pacientky ozařované na oblast levého prsu. Toto je důkazem významu specifické anatomické charakteristiky každé pacientky.

Nizozemská studie byla zahájena za účelem **stanovení role radioterapie a chemoterapie na vznik karcinomu v kontralaterálním prsu**. Byla sledována incidence kontralaterálního karcinomu u 7221 pacientek klinického stadia I-II léčených v letech 1970-1986. Při medianu sledování 14 let byl zjištěn u 503 pacientek vznik karcinomu v kontralaterálním prsu. Riziko kontralaterálního karcinomu v souvislosti s radioterapií vzrůstalo se snižováním věku v době léčby. Radioterapie po mastektomii užívající přímé elektronové pole vede k signifikantně nižší radiační expozici kontralaterálního prsu než radioterapie po lumpektomii užívající tangenciální pole. Ženy léčené radioterapií za použití techniky 2 tangenciálních polí ve věku nižším než 45 let měly 1,5-krát vyšší riziko kontralaterálního karcinomu ve srovnání s pacientkami po mastektomii, u kte-

rých byla použita techniky přímého elektronového pole. Společné působení radioterapie používající tangenciální pole a pozitivní rodinné anamnézy karcinomu prsu bylo pro riziko kontralaterálního karcinomu vyšší, než by se očekávalo při součtu jednotlivých rizik. Léčba adjuvantní chemoterapií (cyklofosfamid, methotrexat, fluorouracil) byla spojena s nesignifikantním poklesem rizika kontralaterálního karcinomu v prvních 5 letech sledování (vliv zničení preexistujících nádorových buněk chemoterapií?), ale v následujících letech již k poklesu rizika nedocházelo.

Nové možnosti u pacientek s inoperabilním karcinomem a nebo recidivujícím karcinomem rezistentním k neoadjuvantní chemoterapii nabídla studie M.D.Anderson

Cancer Center využívající **předoperační konkomitantní chemoradioterapii s kapecitabinem**. Byla provedena retrospektivní analýza 55 pacientek. Kapecitabin byl podáván ve dnech, kdy probíhala radioterapie, v dávce 1250 mg/m²/den (podáno ve 2 denních dávkách). Aplikovaná ložisková dávka na oblast prsu a regionální lymfatickou oblast byla 54 Gy. U 91 % pacientek došlo ke změně inoperabilního nádoru v operabilní. Klinická kompletní odpověď (CR) byla zaznamenána ve 33 %, patologická CR byla 20 %. Pouze u 1 pacientky došlo k progresi choroby. V případech CR bylo shledáno signifikantní zlepšení přežití. Toxicita léčby byla přijatelná (29 % pacientek mělo komplikace stupně 3 a více, především kožní).

informace

SYMPOZIUM

VÝŽIVA V ONKOLOGII

České manažerské centrum, Čelákovice

13. – 14. března 2008

Program symposia je k dispozici na : www.linkos.cz

Organizační zajištění: RNDr. Dagmar Glückaufová, CSc.

CMC Graduate School of Business o.p.s.

nam. 5. kvetna 2, 250 88 Čelákovice

Phone: +420 326 999 135

Mobile: +420 602 469 882

Fax: +420 326 992 150

Vážení kolegové, srdečně Vás zveme na

Kolposkopicko – ultrazvukový seminář

Colposcopy - ultrasonography seminar

pořádaný Onkogynekologickým centrem
Gynekologicko-porodnické kliniky I. LF UK a VFN v Praze,
1. lékařskou fakultou UK
a Nadačním fondem Vita et futura

v sobotu dne 19. dubna 2008 od 9.00 hodin

v posluchárně **Gynekologicko-porodnické kliniky, Apolinářská 18, Praha 2.**

Program:

Kolposkopie – úvod, technika, klasifikace, přehled nálezů.	Doc. MUDr. P. Freitag, CSc
Cytologická klasifikace.	MUDr. J. Sláma
Management LG lézí, HPV testace.	Doc. MUDr. P. Freitag, CSc
Management HG lézí. Metody ošetření.	MUDr. J. Sláma
Kolposkopie vulvy (vulvoskopie) a vaginy.	As. MUDr. M. Janoušek
Léčba časných stádií invazivního karcinomu děložního hrdla a možnosti zachování fertility.	Doc. MUDr. D. Cibula, CSc
Ultrazvukové zobrazení patologií děložního hrdla.	As. MUDr. D. Fischerová
Ultrazvukové zobrazení patologií děložního těla.	MUDr. M. Zikán, PhD
Ultrazvukové zobrazení tumorů adnex.	As. MUDr. D. Fischerová
Demonstrace ultrazvukového vyšetření.	As. MUDr. D. Fischerová MUDr. M. Zikán, PhD

Charakter semináře je edukační s praktickou demonstrací nálezů.

Počet účastníků je limitovaný a nebude překročen.

Přihlášení účastníci kurzu obdrží pozvánku se složenkou (na pozvánce bude uvedeno bankovní spojení pro bezhotovostní převod). Poplatek činí 700,- Kč. Nebude-li uhrazen předem, lze zaplatit na místě v hotovosti ve výši 800,- Kč. Organizátor není plátcem DPH.

Absolventi kurzu obdrží certifikát podle Stavovského předpisu č. 16 ČLK.

Vaše přihlášky prosím pošlete na adresu: Děkanát 1. LF UK – odd. doškolování lékařů, Kateřinská 32, 121 08 Praha 2, e-mail: eva.svobodova@lf1.cuni.cz nebo vzdelavani.lekaru@lf1.cuni.cz, tel. + fax: 224965675, mobil: 732146799.

ZÁPIS ZE SCHŮZE VÝBORU ČESKÉ ONKOLOGICKÉ SPOLEČNOSTI DNE 15. LEDNA 2008 V UNIVERZITNÍM KAMPUSU MASARYKOVY UNIVERZITY V BRNĚ

Přítomni: Vorlíček, Petruželka, Aschermannová, Příbylová, Jelínková, Fínek, Stáhalová, Žaloudík, Vyzula, Abrahámová, Feltl, Cwiertka

Omluveni: Petera, Bartoš

1. Předseda ČOS prof. Vorlíček přivítal všechny přítomné, popřál úspěšný rok 2008, zkontroloval plnění zápisu z minulé schůze.

2. Za Univerzitní kampus výbor ČOS přivítal děkan LF MU prof. Žaloudík

3. Prof. Žaloudík informuje o záměru nového systému postgraduálního vzdělávání. Jedná se o zavedení kmenové specializace a nastavbové specializace. Obsáhle diskutováno. V současné době probíhá proces novelizace Zákona 95/2004, který byl v dosavadní podobě nekonzumovatelný. Je připomínkována nová struktura kmenových, atestačních a nastavbových oborů. Výbor ČOS v tomto kontextu obšírně diskutoval optimální systém specializačního vzdělávání. Zejména se věnoval otázkám vhodnosti interního kmene v atestačním oboru radiační onkologie a změně názvu oboru klinická onkologie na interní onkologie, což lépe odráží jeho skutečné zaměření i dosaženou kvalifikaci. Tuto změnu názvu pak schválil na základě hlasování v poměru 6:3 (9 hlasovalo, 6 členů pro, proti 3, 2 členové výboru nepřítomni). Členové revizní komise nehlasují. Výbor pak došel k jednotnému závěru o specializacích v onkologických oborech, který bude dále prosazovat:

a) Atestační obory:

interní onkologie (s dvouletým kmenem vnitřní lékařství)

radiační onkologie (s dvouletým kmenem vnitřní lékařství) po splnění interního kmene je žádoucí: období společného vzdělávání v obecné onkologii a stáže v navazujících oborech - v dalších letech pak specializace do oborů interní onkologie a radiační onkologie

dětská onkologie a hematoonkologie (s dvouletým kmenem dětské lékařství)

b) Funkční nastavbové specializace po získání specializace v příslušném atestačním oboru - (mají být flexibilní a pomoci v budování sítě onkologických ordinářů nyní ve čtyřech, dále možná i v dalších oborech):

chirurgická onkologie (po atestaci z chirurgie)

urologická onkologie (po atestaci z urologie)

gynekologická onkologie (po atestaci z gynekologie a porodnictví)

pneumologická onkologie (po atestaci z pneumologie - s kmenem vnitřní lékařství)

Hematoonkologie bude obsahovou náplní samostatného atestačního oboru:

hematologie a krevní transfuze (kmen vnitřní lékařství)

a výbor ČOS bere na vědomí stanovisko ČHS, že hematoonkologie nemá být samostatným atestačním ani nastavbovým oborem. Rozhodnutí v této oblasti je plně v kompetenci České hematologické společnosti.

Výbor ČOS bude dále podporovat, aby do všech oborů specializačního vzdělávání, které pouze společně tvoří klinickou onkologii jako významný segment medicíny, byly vkládány sdílené společné programy či kurzy zaměřené na obecnější onkologickou problematiku (například z oblasti diagnostických metod, onkopatologie, nádorové epidemiologie nebo managementu onkologické péče), což poslouží také jejich vzájemné provázanosti a spolupráci.

4. Prof. Abrahámová informuje o uvolnění 7,0 mil Kč pro potřeby NOR, což je o 1,5 mil Kč méně než bylo požadováno a než bylo obvyklé v minulých letech. Peníze jsou zatím dislokovány na MZ ČR, které hledá cesty, jak je předat jednotlivým pracovištím NOR. Není zatím znám klíč pro rozdělení peněz.

5. Výbor ČOS odsouhlasil záštitu nad těmito akcemi:

- Specifické aspekty léčby invazivních mykotických infekcí - pořadatel Interní hematolo-onkologická klinika FN Bohunice, prof. MUDr. J. Mayer, CSc.

- Winter Glioblastoma Meeting, pořadatel Masarykův onkologický ústav, doc. MUDr. P. Šlampa, CSc.

- International Workshop on Poor Prognosis Pediatric Solid Tumors, main topics metronomic and biodifferentiating therapy, pořadatel Klinika dětské onkologie FN Brno, prof. MUDr. J. Šterba, Ph.D.

- ESGO Video Workshop on radical surgery in gynecological oncology pořadatel Gynekologická klinika I. LF UK, doc. MUDr. David Cibula, CSc.

- Komplexní diagnostika a terapie karcinomu prsu, pořadatel Chirurgické oddělení nemocnice Atlas, MUDr. Jiří Gatěk, Ph.D.

6. Prof. Vorlíček informuje o rozhodnutí velvyslanectví Kanady o ukončení akce „Běh Terryho Foxe“ v České republice

7. Společnost Bristol Myers-Squibb jako garant organizuje 27.2.2008 odborné školení firmy Deloitte

- „Jak získat prostředky z Evropských strukturálních fondů v období 2007–2013.“
8. Prof. Petruželka na návrh výboru ČOS garantuje za ČR projekt MOSES mapující interní onkologii v ČR. Budou osloveny všechny KOC, pak vypracovaná souhrnná zpráva.
 9. Ředitel VZP MUDr. Horák, MBA informuje výbor ČOS, že VZP chápe onkologické hlášení jako zákonnou povinnost každého lékaře hlásit nádorová onemocnění.
 10. Český rozhlas II vysílá v pořadu Host do domu hodinový pořad s významným onkologem na téma jeho úspěchů a aktivit. Naposledy vystupovala prof. Abrahámová. Výbor ČOS jednoznačně tuto prezentaci onkologie podporuje.
 11. Různé
 - Grupování cytostatik v procesu kategorizace léčiv. Stanovisko výboru je, že jednotlivé preparáty v onkologii, které nemají shodnou chemickou strukturu, jsou nezaměnitelné.
 12. Příští výbor ČOS se koná 12. 2. 2008 v Plzni