

VYDÁVÁ
ČESKÁ LÉKAŘSKÁ
SPOLEČNOST J. E. PURKYNĚ
IČO 444359

V NAKLADATELSTVÍ
ApS BRNO, spol. s r. o.
IČO 543535

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

Sekretář redakce:
ing. Zdeněk Bouša

Grafická a technická úprava:
Bohuslav Havlíček

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

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

Expedici na základě roční objednávky
vyřizuje redakce

Ministerstvo kultury ČR
MK ČR 5158
ISSN 0862-495 X

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

INDEXED IN EXCERPTA MEDICA

ČASOPIS ČESKÉ ONKOLOGICKÉ SPOLEČNOSTI A SLOVENSKEJ ONKOLOGICKEJ SPOLOČNOSTI

THE JOURNAL OF THE CZECH AND SLOVAK ONCOLOGICAL SOCIETIES

VEDOUcí REDAKTOR: REJTHAR ALEŠ

**ZÁSTUPCE VEDOUcíHO
REDAKTORA:** KOZA IVAN
VÝKONNÝ REDAKTOR: FAIT VUK

REDAKTOŘI:

MAYER JIŘÍ
ČOUPEK PETR
HÁJEK ROMAN
KOCÁK IVO
VALÍK DALIBOR
ŽALOUĐÍK JAN

REDAKČNÍ RADA

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

Přehled	
Černý J., Trněný M., Klener P. Význam minimální reziduální nemoci a metody jejího stanovení u pacientů s některými hematologickými malignitami	41
Čapov I., Wechsler J., Jedlička V., Vlček J., Peštál A., Katolická J., Doležel J. Kriteria onkologické operability u nemalobuněčné formy plicní rakoviny	49
Původní práce	
Rejthar A., Nenutil R., Češková P., Míšek I., Beránek M., Vojtěšek B. P53 homologní proteiny: jedna genová rodina – rozdílné funkce? Jejich exprese je alterována při přechodu z prekancerózy do invazivního spinocelulárního karcinomu	54
Kocáková J., Špelda S., Kocák I., Brančíková D., Šlampa P., Vetchá H., Kovářová M., Penka I., Šefr R., Svoboda M., Sutový M., Spurný V., Vyzula R. Předoperační chemoradioterapie s capecitabinem v léčbě lokálně pokročilého adenokarcinomu rekta	60
Sdělení	
Katolická J. Docetaxel v léčbě pokročilého nemalobuněčného karcinomu plic	68
Zprávy	
Šefr R., Fait V. V.mezinárodní symposium „Sprincter Saving for Rectal Cancer-Status of the and Quality of Life	74
Pour L. Second international meeting on angiogenesis Leide 2003	76
Informace	
Vítová V. Genetické změny u některých mnohočetných malignit	77
Šachlová M. Výživa onkologických pacientů	77
Setkání mladých onkologů	48
Karcinom ovaria – onkogynekologický seminář 4.10.2003	73
– knihy	53, 59
Onkologické společnosti	80

CONTENTS

Reviews	
Černý J., Trněný M., Klener P. The significance of minimal residual disease and methods of its detection in patients with hematological malignancies	41
Čapov I., Wechsler J., Jedlička V., Vlček J., Peštál A., Katolická J., Doležel J. Oncologic Operability Criteria in Non-Small Lung Cancer	49
Original publications	
Rejthar A., Nenutil R., Češková P., Míšek I., Beránek M., Vojtěšek B. P53 homologous proteins: one gene family-different functions? Their expression is altered during transition from dysplasia into invasive spinocelular carcinoma.	54
Kocáková J., Špelda S., Kocák I., Brančíková D., Šlampa P., Vetchá H., Kovářová M., Penka I., Šefr R., Svoboda M., Sutový M., Spurný V., Vyzula R. Preoperative chemoradiotherapy with capecitabine in treatment of locally advanced Rectal adenocarcinoma	60
Communication	
Katolická J. Docetaxel in the treatment of advanced non-small cell lung cancer	68
Reports	
Šefr R., Fait V. ARECO „Sprincter Saving Surgery for Rectal Cancer-Status of the Art and Quality of Life“	74
PouR L. Second international meeting on angiogenesis Leide 2003	76
Notification	
Vítová V. Genetic alternations in some multiple malignancies	77
Šachlová M. Nourishment of oncological patients	77
Young oncologists' meeting 6.-8. 6. 2003	48
Carcinom ovaria – meeting Prague 4.10.2003	73
– book	53, 59
Oncological association	80

VÝZNAM MINIMÁLNÍ REZIDUÁLNÍ NEMOCI A METODY JEJÍHO STANOVENÍ U PACIENTŮ S NĚKTERÝMI HEMATOLOGICKÝM MALIGNITAMI

THE SIGNIFICANCE OF MINIMAL RESIDUAL DISEASE AND METHODS OF ITS DETECTION IN PATIENTS WITH HEMATOLOGICAL MALIGNANCIES

ČERNÝ J., TRNĚNÝ M., KLENER P.

I. INTERNÍ KLINIKA - KLINIKA HEMATOLOGIE A NEFROLOGIE 1. LÉKAŘSKÉ FAKULTY UNIVERZITY KARLOVY A VŠEOBECNÉ FAKULTNÍ NEMOCNICE, PRAHA

Souhrn: Rychlý vývoj cytogenetiky, průtokové cytometrie a molekulární biologie rozšiřuje možnosti detekce minimální reziduální nemoci. V obecné části je uveden stručný přehled nejčastěji užívaných laboratorních technik. Ve specializované části jsou pak shrnuty literární údaje o klinickém významu detekce reziduální nemoci u některých hematologických malignit.

Klíčová slova: minimální reziduální nemoc, cytogenetika, průtoková cytometrie, molekulární biologie, polymerázová řetězová reakce, molekulární kompletní remise, transplantace krevetvorných kmenových buněk, monoklonální protilátka

Summary: The rapid development of cytogenetics, flow cytometry and molecular biology broadens the spectrum of options for minimal residual disease detection. A brief overview of the most frequently used laboratory techniques is given in the general part. The specialized part summarizes the data from literature concerning the clinical significance of the minimal residual disease detection in certain hematological malignancies.

Key words: minimal residual disease, cytogenetics, flow cytometry, molecular biology, polymerase chain reaction, molecular complete remission, transplantation of hematopoietic stem cells, monoclonal antibody

Úvod

Prakticky všechna onkologická onemocnění představují klonální proces, kdy se určitá část buněčné populace, klon, vymkla kontrolním mechanismům růstu. V hlavní roli se zde uplatňují specifické změny v genomu buňky (primární změny). Jejich přítomnost může vyvolat nádorovou transformaci normální buňky v nádorovou buňku určitého typu (např. translokace t(9;22) u chronické myeloidní leukémie, CML). V patologicky změněném genomu dochází v průběhu času nadále k mutacím (sekundární změny). Jejich výsledkem je vznik subklonů buněk, které jsou čím dál tím méně ovlivnitelné vnitřními fyziologickými mechanismy kontroly růstu buněk, stejně tak jako jsou i méně citlivé k protinádorové terapii. Sekundární změny jsou tedy zodpovědné za rezistenci, progresi onemocnění (např. mutace proteinu p53). Předpokladem vyléčení nemocného s onkologickým onemocněním je úspěšné zničení maligního klonu buněk, tj. navození „kvalitní“ kompletní remise onemocnění.¹ Kvalitu remise můžeme měřit s různou citlivostí. Podle vybrané metodiky můžeme hovořit o kompletní remisi klinické (clinical complete remission, CCR), cytogenetické, imunologické, nebo molekulární (molecular complete remission, MCR).

CCR je možno definovat jako vymizení známek onemocnění pod úroveň detekovatelnou při použití běžných vyšetřovacích metod (radiodiagnostických i laboratorních). Obecně platná kritéria klinické kompletní či parciální remise (partial remission, PR) jsou pak ještě upravována jednotlivými pracovními skupinami jako je tomu např. pro ne Hodgkinské lymfomy (NHL).² U hemato-onkologických pacientů lze dosáhnout s vysokou pravděpodobností CCR, dochází však také ve vysokému procentu k návratu nemoci, relapsu. Relapsy jsou ve své

konečné fázi nejčastější příčinou selhání protinádorové terapie. Předpokládá se, že k rekurenci onkologických onemocnění přispívají reziduální maligní buňky. Subklinickým zbytkům nádoru se říká minimální reziduální nemoc (minimal residual disease, MRD). Rozsah a vývoj MRD v průběhu onemocnění lze sledovat s různou citlivostí laboratorních technik. Metody:

- *cytogenetické* (cytogenetika; popř. fluorescein in situ hybridization, FISH), mohou detekovat 1 nádorovou buňku mezi 10^2 buňkami normálními
- *imunologické* (imunofenotypizace; průtoková cytometrie, fluorescein activated cell sorting, FACS), vykazují vyšší citlivost tj. 10^{-2} - 10^{-3}
- *molekulární* jsou nejcitlivější (zejména polymerase chain reaction, PCR nebo reverse transcriptase-polymerase chain reaction, RT-PCR), citlivost 10^{-3} - 10^{-6}

Tak jako je možné označit stav pacienta bez detekovatelné MRD jako molekulární kompletní remise (molecular complete remission, MCR) lze podobně definovat i molekulární nebo také PCR relaps, což je označení užívané situace, kdy je zejména pomocí kvantitativní PCR zjištěna expanze patologického klonu o 1 log bez závislosti na intervalu od předchozího vyšetření bez známek klinického relapsu.³

Cytogenetika

Chromozomální analýza lidských buněk používá jednak klasických cytogenetických metod, kdy se na metafázických chromozómech hodnotí jejich počet, velikost, tvar a strukturu chromozómů.⁴ DNA sond (prób) identifikujících určitý úsek DNA lze použít i pro buňky v interfázi. Zprvu radioaktivně značené sondy byly nahrazeny sondami fluorescenčními (FISH), což

umožnilo rozvoj cytogenetiky. Dnes jsou k dispozici tzv. barvicí sondy specifické pro každý chromozóm, kterými lze odhalit několik aberací najednou a mimo jiné také delece a amplifikace genetického materiálu.

Technika *komparativní genomické hybridizace (comparative genomic hybridization, CGH)* porovnává barvení chromozómů nádorových a normálních buněk. Pokud není ztráta nebo nadbytek DNA, daný úsek chromozómu je žlutý (rovnováha mezi červenou a zelenou barvou). V případě imbalance se daný úsek zbarví červeně nebo zeleně. Z této metodiky vychází i tzv. *microarrays*. Novější metodou je tzv. *multibarevná FISH (multicolor FISH, M-FISH)*,^{5,6} kdy se jednou či více barvami označené chromozómy normálních buněk porovnávají s chromozómy buněk nádorových. Touto metodou lze tedy identifikovat změněné chromozómy, avšak bližší specifikace vyžaduje použití specifické DNA próby.

Cytogenetická odpověď např. u CML představuje procento jader negativních pro danou cytogenetickou změnu, tj. t(9;22) historicky Philadelfský chromozóm (Ph). Podle stupně se odpověď dělí následovně: žádná, minimální (1% až 32% Ph neg), minor (33% až 65% Ph neg), major (66% až 99% Ph neg) a kompletní (100% Ph neg).⁷

Imunofenotypizace

Průtoková cytometrie používá značení povrchových nádorových antigenů pomocí monoklonálních protilátek vážících se specificky na tyto povrchové znaky.⁸ Většina analýz FACSem závisí tedy na detekci povrchových antigenů buněk, nejčastěji tzv. CD (cluster differentiation). V případě B buněčných lymfoproliferací se ještě k určení klonality využívá exprese lehkých imunoglobulinových řetězců.⁹ Přestože jsou tyto techniky citlivější než morfologické metody mají svá omezení. Vzhledem k variabilitě povrchových znaků nádorových elementů mají některé metody informativní hodnotu jen u vybraných případů.¹⁰ Významným pokrokem u metod monitorování MRD pomocí FACS je uplatnění vícebarevné fluorescence, které umožní analýzu značně velkého množství buněk a identifikaci i jen velmi malé buněčné subpopulace. Tuto metodiku lze použít v široké míře, je kvantitativní a zachovává si i dobrou sensitivitu (10-5).¹¹

Polymerázová řetězová reakce (polymerase chain reaction, PCR)

Metody PCR mají mnoho podob a modifikací. Mohou být *kvantitativní* (plus, minus) nebo také *kvantitativní (Q-PCR)*. Mezi klasické postupy patří *jednostupňová PCR*, kdy je cyklicky (30x- 50x) množena vybraná sekvence ohraničená párem primerů. Tato metodika pracuje s citlivostí zhruba 10^{-3} - 10^{-5} . *Dvoustupňová PCR (nested PCR)* využívá navíc tzv. vnitřních primerů, které rozpoznávají úseky genetické informace již v předem namnožených sekvencích z *jednostupňové PCR*. Tím se může zvýšit citlivost na přibližně 10^{-5} - 10^{-6} .¹² Nevýhodou je nutnost znát dva páry primerů, které vymezují hledanou sekvenci, což sebou mimo jiné přináší také pracnější optimalizaci reakce. Mezi *jednostupňovou* a *dvoustupňovou PCR* se svou citlivostí může za určitých podmínek vmezeřit i tzv. „*touchdown PCR*“, u které je cyklační program upraven tak, aby ani při vysokém počtu cyklů nedocházelo ke vzniku nespecifit.¹³

Metoda *RT-PCR* detekuje přítomnost nádorové mRNA, která je v prvním kroku přepsána do cDNA a dále již je množení cílové sekvence stejně jako u klasické PCR.¹⁴

Skutečnost, že přítomnost některých markerů nádorových buněk byla detekována u jedinců bez onkologického onemocnění¹⁵ a u pacientů v dlouhodobé kompletní remisi,^{16,17} vedla k rozvoji kvantitativních metodik. Rozsah MRD lze hodnotit *semikvantitativně* (nárůst, pokles, stagnace) nebo *absolutně*, kdy je možno určit počet patologických buněk v daném vzorku. PCR metodika *limitujícího ředění* určuje koncentraci (ředění) cílové sekvence ve vzorku, při které ješ-

tě lze detekovat PCR pozitivitu při znalosti citlivosti reakce.¹⁸ Tato metoda byla využita k *semikvantitativním* stanovením MRD a její výsledky byly v soulase s klinickým obrazem.^{19,20} Pro přesnější kvantifikace pak byla navržena *komparativní PCR* užívající koamplifikace CDRIII jako patologického markeru a H-ras onkogenu jakožto referenčního markeru (interní standard). Obě metodiky poskytují soulasné výsledky a vývoj hladin buněk nesoucích sledovaný marker byl v soulase s klinickým obrazem.²⁰⁻²² Nevýhodou koamplifikačních reakcí (*multiplex PCR*) je však snížení citlivosti detekce na 10^{-2} - 10^{-3} .

Absolutní kvantitativní PCR metody jsou představovány *kompetitivními (většinou nested) PCR* nebo *RT-PCR*,²³ které s citlivostí 10^{-5} - 10^{-6} patří mezi k nejužívanějším. *Kompetitivní PCR* je založena na porovnávání množství produktů PCR při známé koncentraci templátu (externí standard) v pozitivní kontrole.²⁴ Při provedení reakce v ředící řadě, lze pak získat množství templátu ve vzorku, tj. počet nádorových buněk v měřeném vzorku. Uvedená metodika je dobře propracována a doporučována pro monitorování MRD u leukémií zejména CML.^{3,25} Možnost, jak odlišit PCR pozitivní nemocné, kteří po léčbě setrvávají v dlouhodobé CCR od nemocných ohrožených relapsem naznačují studie s nejnovější metodikou tzv. „*realtime PCR*“ u akutních lymfoblastových leukémií (ALL),²⁶ mnohčetného myelomu (MM)²⁷ anebo folikulárních lymfomů (FL).²⁸ Tato technika využívá 5'-3' nukleázové aktivity Taq polymerázy a fluorescenčně značenou cílovou DNA próbu.²⁹ Během reakce je próba odštěpována, což vyvolá fluorescenci, která je přímo úměrná množství cílových sekvencí.

Jak již bylo naznačeno dříve PCR je představována amplifikací unikátní genové sekvence, která se nachází v genomu patologické buňky. Taková sekvence může být jednak specifická pro dané onemocnění (t(9;22) u CML; t(14;18) u FL; t(11;14) u lymfomů z buněk plášťové zóny, MCL apod.). Nebo může být dokonce typická pro daný buněčný klon (CDRIII klonální restrukturační genu pro těžký imunoglobulinový řetězec u B lymfocytů nebo klonální restrukturační genu pro receptor T lymfocytů u lymfoproliferativních onemocnění).³⁰ Postupy založené na PCR detekci klonálního IgH jsou považovány za metody s dobrou citlivostí, avšak i ty lze aplikovat např. jen u asi 70-80% pacientů, protože bývá mutacemi IgH genů často změněno místo pro navázání tzv. konsensusu primerů. Citlivost PCR detekce IgH rearanžmá je snižována přítomností normálních lymfocytů, pozadí (max. 10^{-4}). PCR techniky, které používají primery specifické pro pacienta (allele-specific oligonucleotide ASO-PCR) mají větší sensitivitu (až 10^{-6}).³¹ Jedná se ovšem o postupy náročné na pracnost a finance a výsledky nejsou ihned dostupné. Proto není použití ASO-PCR ideální pro standardní monitoring léčebné odpovědi. Kombinací ASO-PCR spolu s „*real-time*“ PCR lze získat kvantitativní výsledky s citlivostí 10^{-5} .³²

Materiál vhodný k vyšetření a monitorování MRD

Sledování MRD zvláště pak u leukémií je prováděno z kostní dřeně (bone marrow, BM) nebo periferní krve (periferal blood, PB) již déle než deset let. U NHL je však situace složitější, neboť není zcela jasné z jakého histologického materiálu vyšetření provádět. Lymfom vzniká nejčastěji v lymfatické uzlině (LN), avšak existuje i mnoho extranodálních lymfomů. Otázkou, ve které tkáni monitorovat přítomnost MRD u NHL se zabývalo několik autorů s rozdílnými závěry. Gribben, ale i další autoři popisují významnější vliv pozitivivity v BM nad pozitivitou v PB na prognózu nemocných s NHL,^{33,34} zatímco jiní upřednostňovali monitorování v PB.^{35,36} Lopez-Guillermo koreloval výsledky PCR vyšetření BM a PB po léčbě s klinickou odpovědí u folikulárních lymfomů (FL). Jeho pozorování jsou uvedena v tabulce 1 a vyplývá z nich, že PCR nálezy v PB se cca v 70% shodují s nálezy v BM a naopak.³⁶ To, že je celá tato problematika komplexnější a že právě u NHL se více uplatňuje vliv rozdílnosti kompartmentů dokreslil

Tabulka 1: Shoda mezi terapeutickou odpovědí na molekulární úrovni v PB a v BM v různých časových intervalech od léčby (čísla uvedena v procentech), (BM - kostní dřeň; PB - periferní krev; n - počet pacientů)

	3-5 měsíců (n = 57)	6-8 měsíců (n = 41)	9-14 měsíců (n = 35)
PB(+)/BM(+) nebo PB(-)/BM(-)	70	66	77
PB(+)/BM(-)	13	5	9
PB(-)/BM(+)	17	24	14

i Gupta svým pozorováním, kdy došlo po terapii monoklonální protilátkou anti-CD20 k vymizení lymfomových elementů z periferní krve, avšak objevil se relaps v uzlině.³⁷ Množství t(14;18) pozitivních buněk v PB před zahájením standardní terapie nekoreluje s výsledkem léčby.³⁸ U nemocných s bulky postižením cirkuluje v periferní krvi méně t(14;18) pozitivních buněk než u ostatních nemocných, což je vysvětlováno zvýšenou expresí adhezních receptorů (např. L-selectin) na povrchu lymfomových buněk v případě bulky NHL. Takové buňky také preferují tzv. „homing“ spíše do uzliny než do kostní dřeně či cirkulaci v periferní krvi.³⁹ Skutečnost, že nádorové buňky nemusí být vyplavovány z tkáňových depot do oběhu je však vyrovnána tzv. „sampling errorem“ (odběrová jehla mine patologické ložisko) při vyšetřování BM nebo jiných solidních tkání.

U NHL existuje obecná shoda v tom, že uzlina by měla být vyšetřena při stanovení diagnózy a MRD bývá často monitorována během onemocnění v BM spolu s PB.^{35,36} Ostatní tkáně (LN, periferní kmenové buňky, slezina, sliznice, kůže, mozkomíšň mok, atd.) mají jistě významnou úlohu v individuálních případech či spíše konkrétních situacích (stanovené diagnózy či relapsu apod.), ale nelze jejich vyšetřování praktikovat rutinně.

Praktický význam stanovení MRD

Stanovení MRD má mimořádný význam též při transplantační terapii. Nejpravděpodobnější příčinou rekurence je persistence nádorových buněk v organismu, nelze však vyloučit ani podíl infiltrace autologního štěpu.^{40,41} Tento fakt vedl jednak k intenzivnímu výzkumu klinického významu různých metod čištění (purgingu)⁴² a také ke snaze použít AlloSCT u většího počtu pacientů. Fakt, že infiltrace BM je nejvýznamnější faktor ovlivňující čistotu (puritu) štěpu, který je pacientovi v rámci autologní transplantace krevetvorných buněk podán (autologous stem cell transplantation, ASCT), byl popsán u mnoha onkologických diagnóz. Existují práce popisující, že čistota štěpu může být ovlivněna jednak použitým mobilizačním režimem,⁴³ intenzitou předléčení (užitou indukční terapií) a riziko znečištění roste s vyšším počtem separací.⁴⁰ Studie zabývající se kontaminací štěpů krevetvorných kmenových buněk (peripheral blood stem cells, PBPC) nádorovými elementy vedly ke zjištění, že doba výskytu maximálního počtu krevetvorných kmenových a progenitorových buněk vyplavených z kostní dřeně do periferní krve o několik hodin předchází nebo se prakticky shoduje s maximem vyplavování buněk nádorově transformovaných.^{40,44,45} Další studie ukázaly, že přítomnost nádorových elementů v podávaném štěpu má na prognózu pacienta negativní dopad.^{45,46}

Metodiky molekulární biologie umožňují sledovat vývoj onemocnění a tím i předvídat prognózu nemocného a zároveň pomáhají při studiu patogeneze maligních onemocnění, která bývá představována genetickou lézí vedoucí k nádorové transformaci.

Poznatky vysvětlující biologické chování jednotlivých hematologických malignit se pozvolna začínají odrážet i v zavádění nových léčebných způsobů do klinické praxe. Např. u CML se v poslední době k léčbě používá inhibitor specifické nádorové tyrosinkinázy STI 571 (imatinib mesylat).⁴⁷

ALL (akutní lymfoblastová leukémie)

CCR je definována jako přítomnost méně než 5% blastů v KD, což může představovat 0 až 10^{10} leukemických buněk. Pro sledování MRD se využívá detekce translokací t(12;21) (u dětí), případně t(14;18). Asi u 3-5% dětí a 25% dospělých s ALL lze detekovat t(9;22). Uvádí se, že zmíněné metodiky pracují s citlivostí až 10^{-6} . V některých případech se používá PCR detekce klonální restruktury IgH nebo T receptoru (dohromady až u 95% případů).^{30,48} Zhruba u 20-30% nemocných však dochází během onemocnění ke klonálnímu vývoji, který představuje riziko falešné PCR negativity, proto se doporučuje kombinace s další technikou (FACS).⁴⁹ PCR detekce MRD pomáhá při hodnocení odpovědi na terapii a tím nabývá důležitou prognostickou hodnotu. Pacienti, u kterých nedojde k negativizaci PCR během prvního roku mají vysoké riziko relapsu.⁵⁰ Vymizení fúzních transkriptů BCR-ABL po transplantaci kostní dřeně (TKD) a jejich znovubyjevení před relapsem bylo pozorováno u nemocných s *bcr-abl* pozitivní ALL.⁵¹ Zdá se, že kvantifikace MRD i z pouhého jednoho vzorku může mít určitou prediktivní hodnotu u nemocných s ALL (viz Tab.č. 2).⁵⁰ Stejně tak semikvantitativní metodiky monitorování MRD dokáží předpovědět klinický relaps.⁵² Persistence MRD u nemocných s akutní lymfoblastovou leukémií (ALL) po terapii znamenala vysoké riziko relapsu nemoci.⁵³ Prospektivní analýza ukázala, že u nemocných bez detekovatelné leukémie docházelo z 8% k relapsu, zatímco u ostatních nemocných se nemoc vrátila ve 40% případů. Avšak ani absence MRD po indukční terapii není uznána jako dostatečná podmínka pro přerušeni nebo ukončení léčby.

Tabulka 2: Výše MRD v jednom vzorku a riziko relapsu u pacientů s ALL.

Úroveň MRD	Relapsů
> 10-3	100%
10-3 až 2×10^{-5}	40%
< 10^{-5}	0% (setrvali v remisi)

CLL (chronická lymfatická leukémie)

CLL je onemocnění s indolentním průběhem, které však má variabilní prognózu v závislosti na rizikových faktorech. Medián přežití je asi 6 let a 20% pacientů přežije 10 let. Zatímco se věkový medián v čase diagnózy pohybuje asi kolem 65 let, 30% nemocných CLL je méně než 60 let. CLL není vyléčitelná konvenčními postupy a při přítomnosti nepříznivých prognostických faktorů je přežití kratší než 3 roky. Taková prognóza není akceptovatelná zejména pro mladší nemocné, proto se neustále hledají účinnější léčebné postupy, které by byly schopné eradikovat onemocnění či navodit dlouhodobou remisi.

Dvě nejúčinnější používané metody pro sledování MRD u CLL jsou založeny buď na FACS nebo PCR. PCR detekce CDRIII patří mezi nejcitlivější metody sledování MRD u CLL a při použití tzv. konsensus primerů ji aplikovat u asi 70-80% pacientů. Robertson pozoroval, že nemocní s CLL léčení fludarabinem mohou dosáhnout MCR (stanovené duálním FACS vyšetřením a analýzou Ig genů pomocí Southern-blotu). Kvalita remise měla prediktivní hodnotu ve smyslu trvání léčebné odpovědi.⁸ Vuillier jako jeden z prvních prezentoval, že nemocní s CLL mohou dosáhnout PCR negativity.⁵⁴ Později Provan demonstroval, že persistující PCR pozitivita po ASCT znamená vyšší riziko relapsu. Naopak se ukázalo, že většina pacientů s negativní PCR je i bez známek onemocnění. ASCT tedy představuje jednu z terapeutických možností, která se může stát u určité skupiny nemocných s pokročilou CLL kurabilní.⁵⁵ Magnac popsál výsledky monitorování MRD u 12 nemocných po dosažení CR (doba sledování 17- 60 měsíců; viz Tabulka 3). Vzhledem k malému počtu sledovaných nemocných je třeba brát výsledky rezervovaně, avšak potvrdilo se, že HDT má větší

Tabulka 3: Výsledky monitorování MRD u 12 nemocných s CLL po dosažení CR. Standard- 8 x fludarabin (4-12 cyklů) a 1x CHOP, 3 x salvage (refrakterní na standardní chemoterapii)- ESHAP (3-6 cyklů).

Počet nemocných	Terapie	PCR- vs. PCR+	Relaps	Úmrtí
9	Standard	1/8	1/2	0/2
3	Salvage+ ASCT	3/0	0/0	0/0

potenciál k indukci MCR a také, že nemocní bez reziduální nemoci měli lepší prognózu.⁵⁶ Dokonce i při použití nečistěného štěpu PBPC lze indukovat MCR. Ve studii italských autorů bylo celkem 20 nemocných v CR po terapii fludarabinem transplantováno nečistěným PBPC. 75% pacientů dosáhlo MCR (15/20) a tyto pacienti měli lepší prognózu onemocnění.⁵⁷ Nedávno byla publikována práce, ve které byla MRD sledována pomocí citlivé metodiky FACS po terapii fludarabin + ASCT nebo monoklonální protilátky anti-CD52 + ASCT. Jako MRD- byli označeni nemocní s méně než 0.05% CLL buněk v BM. Terapií bylo dosaženo celkem u 76% (19/25) nemocných MRD-, zatímco zbývajících 24% (6/25) bylo MRD+. Event free survival (EFS) byl statisticky významně horší u MRD+ pacientů než u MRD- ($p=0.0001$). Podobně i celkové přežití (overall survival, OS) bylo statisticky významně zkráceno u MRD+ skupiny oproti nemocným MRD- ($p=0.007$). U všech MRD+ nemocných i pacientů s nízkými úvodními hladinami reziduální nemoci docházelo k postupnému nárůstu CLL buněk.¹¹

AML (akutní myeloidní leukémie)

Pravděpodobnost navození CCR se u dospělých nemocných pohybuje mezi 70-80%. Podobně je však také vysoká také pravděpodobnost relapsu (60-70%).⁵⁸ Persistence MRD je studována pomocí vysoce sensitivních PCR detekcí specifických translokací [t(6;9), t(15;17), t(8;21) apod.]. K monitorování MRD se také využívá i RT-PCR detekci transkriptů *AML1/ETO* u akutní myeloblastové leukémie [AML M2; t(8;21)]⁵⁹ a *PML/RAR-alfa* u akutní promyelocytární leukémie (APL, M3).⁵⁹⁻⁶¹ Protože však pouze malá část nemocných s AML má PCR detekovatelný marker je MRD často sledována pomocí FACS.⁴⁹ Práce publikované v první polovině devadesátých let nepřinesly zcela jasnou odpověď na význam MRD u AML. Při stabilním množství MRD zachyceném v průběhu CCR nemusí u nemocných dojít k relapsu ani při opakované PCR pozitivitě. To platí zejména pro AML M2.⁶² Naproti tomu u AML M3, akutní promyelocytární leukémie [APL; t(15;17); *PML/RAR-alfa*] je pozitivita zjištěná pomocí RT-PCR opět spojena s vysokým rizikem relapsu.⁶⁰ Stejně tak varující je trvalý nárůst molekulárního markeru, který může být spojen s pozdějším návratem onemocnění.⁶³ Z prací novějších je možno zmínit např. multicentrickou studii "AIDA" Trial (GIMEMA-AIEOP), v níž byla MRD monitorována pomocí RT-PCR pro *PML/RAR-alfa* s citlivostí 10^{-4} . Z 21 pacientů, u nichž došlo během CR ke konverzi z PCR- na PCR+ a PCR+ se opakovala ve dvou po sobě následujících vzorcích, dospělo 20 nemocných k relapsu (95%).⁶⁴ Výsledky randomizovaných studií EORTC/GIMEMA AML-10 a EORTC/GIMEMA AML-13 přinářející shrnu-

Tabulka 4: Vliv hladiny MRD stanovené po ukončení indukce nebo konsolidace na počet relapsů. (MRDInd+/- přítomnost či nepřítomnost MRD po indukční terapii, MRDCons+/- přítomnost či nepřítomnost MRD po konsolidační terapii; * nesignifikantní, ** $p < 0,001$)

Po ukončení	Indukce	Indukce	Konsolidace	Konsolidace
MRD (buněk)	(MRDInd+) $\geq 4,5 \times 10^{-4}$	(MRDInd-) $< 4,5 \times 10^{-4}$	(MRDCons+) $\geq 3,5 \times 10^{-4}$	(MRDCons-) $< 3,5 \times 10^{-4}$
Celkem pacientů	(n= 26)	(n= 30)	(n= 22)	(n= 29)
Počet relapsů (%)	15 (58)*	12 (40)	17 (77)**	5 (17)

Tabulka 5: Vliv hladiny MRD stanovené po ukončení indukce a v následném sledování po konsolidaci na počet relapsů. (MRDInd+/- přítomnost či nepřítomnost MRD po indukční terapii, MRDCons+/- přítomnost či nepřítomnost MRD po konsolidační terapii; * $p < 0,001$ **, $p < 0,007$)

Skupina pacientů	MRD Ind+		MRD Ind-	
Celkem pacientů	n = 21		n = 30	
Po konsolidaci pacientů	MRDCons+/ 14	MRDCons-/ 7	MRDCons+/ 8	MRDCons-/ 22
Počet relapsů (%)	10 (71)*	0(0)	7 (87)**	5 (23)

jí a pro AML subjednotky obecně platné výsledky monitorování úrovně MRD u pacientů po indukční a konsolidační terapii byly publikovány nedávno (viz Tabulka 4). Vyšší hladina MRD korelovala s kratším obdobím bez relapsu (relaps free survival; RFS) a horším OS.

Sledování vývoje MRD u pacientů po ukončení konsolidace ukázalo podobné výsledky (viz. Tabulka 5).⁶⁵ Použití PCR pozitivního štěpu k transplantaci u AML je spojeno s rizikem rekurence onemocnění po TKD.^{40,66}

CML (chronická myeloidní leukémie)

CML je z hlediska molekulární biologie asi nejlépe prostudované onemocnění. Objevení tzv. Philadelfského chromozómu (Ph) v roce 1960 jako první chromozómalní aberace spojené s určitým typem leukémie doplněné o pozdější upřesnění, že se jedná o translokaci t(9;22), která dá vzniknout fúznímu genu *bcr-abl*, znamenalo významný přelom ve studiu biologie nádorů.

Skutečnost, že pomocí interferonu-alpha (IFN-alpha) lze navodit u CML cytogenetickou remisi byla dále ověřena v prospektivní studii Italské kooperativní skupiny pro CML, jejíž výsledky byly průběžně publikovány.⁷ Také se ukázalo, že pacienti v cytogenetické remisi po IFN-alpha mají delší přežití v porovnání s chemoterapií. Studie Italské kooperativní skupiny pro CML neměla design plánovaný pro určení kinetiky a trvání cytogenetických odpovědí, proto byla provedena retrospektivní analýza dat. Také bylo pozorováno, že schopnost cytogenetické odpovědi na terapii IFN bylo možné předpovědět na základě Sokalova indexu,⁶⁷ hematologické odpovědi a že většina cytogenetických odpovědí nastala během prvního roku. Při dosažení pouze minoritní cytogenetické odpovědi (Ph neg, 33% až 65%), byla taková odpověď nestabilní a trvala krátce, zatímco medián trvání kompletní a majoritní odpovědi (Ph neg, 66% až 100%) byl asi 60 měsíců.⁷ Tato data jsou v soulase se pozorováním z klinických studií na M.D. Anderson.⁶⁸

Pro detekci transkriptu fúzního genu *bcr-abl*, který se vyskytuje až u 95% CML lze využít nested RT-PCR.⁶⁹ První studie ukázaly, že pozitivní PCR detekce aspoň ve dvou po sobě následujících vzorcích může předpovědět relaps,⁶⁹ zatímco jedna pozitivní PCR se může ještě konvertovat na negativitu během 6-9 měsíců a pacient dále setrvá v CCR.⁷⁰ PCR negativita doprovází silnou reakci štěpu proti hostiteli (graft versus host disease, GVHD) v prvních 3-4 měsících po allogenní transplantaci. Na druhou stranu někteří autoři pozorovali PCR pozitivitu po téměř 10 let u některých nemocných bez návratu onemocnění,¹⁷ což může být vysvětlováno samotným přirozeným průběhem onemocnění, kdy chronická fáze CML může trvat roky. Tato fakta přiměla vědce ke zpřesnění kvantitativních metodik pro sledování MRD po transplantaci u nemocných s CML a vedla k vývoji kompetitivní nested RT-PCR.⁷¹ Na základě studií sledujících klinický význam molekulárního monitorování navrhla EICML Group (European Investigators on CML) doporučení pro použití PCR vyšetření u CML. Vzestup MRD o 1 log představuje PCR relaps a klinický relaps se může objevit během 1-2 měsíců, proto se doporučuje zkrátit

následující intervaly PCR vyšetření.³ Podle sdělení některých autorů je PCR relaps událostí relativně dobře zvládnutelnou pomocí infuze dárčových lymfocytů. Studie používající genetického značení ukázaly, že by se na relapsech po autologních transplantacích krevtvořných buněk mohla podílet právě MRD v reinfundovaných štěpech PBPC, proto se zhruba do konce 90. let u CML doporučovalo hledat dárce a provést transplantaci allogenní (AlloSCT).⁷² V současné době se předpokládá, že do léčebných protokolů zasáhne i nový lék STI 571, neboť se očekávají slibné výsledky studií u pacientů s CML.

MM (Mnohočetný myelom)

Klonální restruktura genu pro těžký imunoglobulinový řetězec (IgH, tj. CDRIII, complementarity detemining region) bývá používána jako nádorový marker u nemocných MM k detekci reziduálních myelomových buněk zejména pak po ASCT.⁷³⁻⁷⁶ V současné době se standardní součástí léčby pokročilých stádií MM stala vysokodávkovaná chemoradioterapie s následnou ASCT⁷⁷⁻⁷⁹ a v rámci klinických studií pak AlloSCT.⁸⁰⁻⁸¹ Ve většině dosud publikovaných souborech pacientů navodila AlloSCT kompletní remisi u 30-50% případů,⁷⁸ ta však neznamenala vyléčení.^{77,80} Významnou úlohu sehrává přítomnost tzv. graft-versus-myeloma efektu,⁸² což přispívá k prodloužení období bez relapsu (RFS, relapse-free survival) v porovnání s autotransplantacemi.⁸³ Nízká pravděpodobnost relapsu s sebou však nese vysoké riziko peritransplantační mortality (40-50%).⁸¹ I přes existenci prací zabývajících se aplikací AlloSCT a jejím vlivu na MRD, není zatím úloha MCR jednoduše hodnotitelná.^{74,76} Molekulární remise jsou prakticky vyjmečné po autologních transplantacích,⁷⁴ a proto je v současnosti velmi obtížné stanovit význam MCR u nemocných s MM.

NHL (Nehodgkinské lymfomy)

U NHL je molekulární monitorování subklinické choroby rovněž možné díky přítomnosti specifických interchromozomálních translokací, na nichž se podílí některé onkogeny. K nejprostudovanějším patří *bcl-2* onkogen vstupující do t(14;18) u folikulárních (follicular lymphoma, FL) a některých difuzních velkobuněčných lymfomů (diffuse large cell lymphoma, DLCL), dále onkogen *bcl-1* podílející se na t(11;14) u lymfomů z plášťové zóny (mantle cell lymphoma, MCL). Nadto se uvádí, že u zhruba 90% malignit z B-lymfocytů lze pomocí PCR detekovat klonální rearanžmá genu pro těžký imunoglobulinový řetězec (IgH).³⁴ U lymfomů z T buněk se používá PCR detekce klonálního rearanžmá genu pro TCR.³⁰

Po konvenční terapii je MRD detekovatelná prakticky u všech nemocných s NHL.^{85,86} Nicméně při použití intenzivního standardního chemoterapeutického režimu CHOD-Bleo/ESHAP/NOPP u pacientů s nízkomaligním lymfomem došlo u 68% pacientů s PCR pozitivní na *bcl-2* ke konverzi na PCR negativitu ve (13/19).⁸⁷ Cabanillas později prezentoval novější data z dlouhodobého sledování této skupiny nemocných, kde bylo dosaženo u 88% CCR a 72% MCR. Pravděpodobnost 5-letého přežití bez příznaků onemocnění (disease free survival, DFS) byla 73% pro PCR- a 28% pro PCR+ skupinu pacientů, avšak žádná z křivek přežití nedosáhla plateau.⁸⁸ Použití chemoterapeutického režimu FMD (Fludarabin, Mitoxantron, Dexamethasone) přineslo 68% odpovědi na molekulární úrovni (17/25), přičemž PCR- bylo dosaženo ve 32% (8/25).⁸⁹ Vysokodávkovanou terapii s následnou ASCT lze navodit PCR negativitu u značného procenta nemocných s nízkomaligními NHL, v rozpětí 42-70%.^{34,46,90,92,93} Gribben se svými kolegy jako jeden z prvních publikoval vliv MRD po vysokodávkované terapii s následným podáním imunologicky čistěného štěpu na prognózu pacientů s NHL nízkého a středního stupně malignity (viz Tabulka 6).⁹² V nedávném novém hodnocení dat této studie byl ve 12 letech OS 69% a DFS 42%.⁹¹ Ve skupině PCR negativních pacientů po ASCT byl DFS 85% ve 12 letech pozorování, zatímco ve skupině PCR pozitivních pacientů jen 20%. Tato data spolu s dalšími pozorováními jiných

Tabulka 6: Analýza MRD u pacientů s nízkým (LG) a středním stupněm (IG) NHL léčených pomocí ASCT. (kont. PCR- pacienti s kontinuální PCR negativitou, kont. PCR+ pacienti s kontinuální PCR pozitivitou, PCR+ → PCR- pacienti, u kterých došlo ke konverzi na PCR negativitu, PCR- → PCR+ pacienti, u kterých byla opět detekována PCR pozitivita, PCR+/PCR- pacienti, u kterých byla střídavě zachycena PCR negativita či pozitivita)

Po ASCT	Kont. PCR-	kont. PCR+	PCR+ → PCR-	PCR- → PCR+	PCR+ / PCR-
Pacientů	43% (58)	26% (35)	14% (19)	10% (14)	6% (8)
Relapsů	0%	71% (25)	0% (19)	47% (6)	25% (2)

Tabulka 7: Navození MCR u nemocných s NHL pomocí monoklonální protilátky anti-CD20 s nebo bez chemoterapie.

(LG- low grade; IG- intermediate grade; HG- high grade; FL- folikulární lymfom; MCL- mantle cell lymphoma (lymfom z buněk plášťové zóny); R- rituximab (anti-CD20); CHOP- Cyklofosamid, Vinkristin, Adriamycin, Prednison; Mit- Mitoxantron; Cy- Cyklofosamid; DFS- disease free survival.)

Autor	NHL	Terapie	MCR	Počet relapsů	Poznámka
Czuczman ⁹⁶	LG	R-CHOP	88% (7/8)	na	
Solal-Celigni ⁹⁷	FL	R	57% (17/30)	6% (1/17)	za 1. rok
Emmanouilides ⁹⁸	LG	Mit+ Cy+ R	71% (5/7)	na	
Vose ⁹⁹	IG + HG	R-CHOP	85% (11/13)	na	předpoklad >DFS a OS
Foran ¹⁰⁰	MCL	R-CHOP	48% (11/23)	na	medián DFS 16 měs.

autorů ukazují, že eradikace molekulárního markeru z organismu pacienta snižuje riziko relapsů po ASCT a nemocní, kteří jsou PCR- mají prodloužený DFS.^{34,46,91,93} PCR detekce *bcl-2* je uznávána jako potenciální marker dlouhodobého sledování u transplantovaných nemocných s FL. Pracovní skupina z MD Anderson považuje PCR monitoring v periferní krvi spolu s hodnotami beta-2-mikroglobulinu za významný prognostický faktor u pacientů s FL po léčbě. Hladina t(14;18) pozitivních buněk v PB před zahájením standardní terapie nemá vliv na její výsledek.³⁸

V poslední době lze MCR u CD20 pozitivních NHL lze navodit i pomocí nové terapeutické modality, kterou je monoklonální protilátka anti-CD20 (rituximab).^{86,94,95} Použití anti-CD20 protilátky spolu s chemoterapií nebo i jen v monoterapii vedlo k dosažení MCR u pacientů s NHL ve vysokém procentu u indolentních i agresivních lymfomů, s čímž je spojena lepší prognóza onemocnění (viz Tabulka 7).⁹⁶⁻¹⁰⁰ Podávání anti-CD20 protilátky vede k vysokému procentu PCR negativit v BM.^{86,94,95} Tohoto faktu lze využít při mobilizaci periferních progenitorových buněk v rámci tzv. in vivo purgingu.¹⁰¹ Důležitý je jistě i fakt, že anti-CD20 protilátka navodí PCR negativitu v BM bez ovlivnění doby přihojení štěpu při následné ASCT.¹⁰² Kromě prvních zpráv zveřejnil také první slibná data Magni ve studii porovnávající in vivo purging s použitím chemoterapie s anti-CD20 protilátkou a chemoterapie samotné. Chemoimunoterapie byla úspěšná v 93% CD20+ MCL a FL. Chemoterapií samotnou bylo možno získat 40% PCR negativních PBPC produktů (p < 0.007).⁴³ výše zmíněná práce navázala na předešlý výzkum Corradiniho, který použitím samotné tzv. vysokodávkované sekvenční chemoterapie (HDS) pro čištění in vivo dosáhl PCR negativních sběrů PBPC u 12% (1/9) pacientů s MCL a 42% (8/19) nemocných se FL.⁴⁶ Nedávno byly prezentovány výsledky našeho pracoviště, které se týkaly srovnání pacientů v PCR negativních a PCR pozitivních pacientů po léčbě pomocí ASCT nebo anti-CD20 pro-

tilátkou pro B- buněčné lymfoproliferativní onemocnění (B-LPD). Nemocní v MCR měli statisticky významně lepší prognózu.^{103,104} U skupin nemocných PCR negativních versus pozitivních po léčbě nemusí být při porovnání základních klinických charakteristik nalezeny statisticky signifikantní rozdíly.^{103,104} Zdá se tedy, že pravděpodobnost konverze na PCR negativitu či případné vyléčení může být dána biologickými charakteristikami onemocnění. Tento pohled je v současné době také ještě podporován i novými studiemi, které srovnávají profil exprese genů pomocí tzv. microarrays a tento profil je nezávislým prognostickým faktorem.^{105,106}

Závěr

Předpokladem vyléčení nemocného je nejenom dosažení kompletní remise, ale i eradikace zbytkové nemoci. V posledních letech se nakumulovaly doklady, že nemocní, kteří dosáhnou eradikace tumoru na úrovni PCR, mají lepší prognózu než pacienti s PCR pozitivitou. PCR status nemocných s NHL po ASCT je v současnosti vnímán jako statisticky významný prognostický faktor. Podobnou váhu má i stanovení MRD po indukční léčbě u akutních leukémií, u CML při terapii interferonem či AlloSCT. Na druhou stranu existují práce, které ukazují přítomnost některých markerů např. t(14;18), t(9;22) u jedinců bez onkologického onemocnění nebo u nemocných v dlouhodobé kompletní remisi. Pro tyto situa-

ce existují zatím většinou víceméně jen teoretická vysvětlení. Díky moderním metodám kvantifikace je však možno mapovat dynamiku MRD a tím významně přispět k vyhledávání rizikových pacientů, u kterých bude vhodné nasadit léčbu i bez klinických projevů nemoci a naopak bude možno určit pacienty, u kterých lze léčbu ukončit. Jakýkoliv marker onkologického onemocnění je nutno brát jako surogátní prognostický faktor, který znamená přítomnost určitého buněčného klonu, avšak nevyovídá nic o jeho biologickém chování, proto musí být hodnocen ve vztahu k určité konkrétní situaci (stav před léčbou, po léčbě, remise apod.). Molekulárně biologické sledování MRD je třeba chápat jako velmi užitečný doplněk běžných prognostických faktorů a indexů zejména v situaci, kdy tyto ztrácí svou rozlišovací schopnost (např. při dosažení klinické kompletní remise).

Poměrně naléhavá je nutnost vytvoření standardizovaných protokolů pro jednotlivé metody a patologické jednotky, což nebude jednoduché, neboť v oboru molekulární biologie dochází k velmi rychlému vývoji. Nicméně cesta ke změnám léčebných postupů povede nejspíše přes standardizaci molekulárně biologických metod monitorování MRD.

Pro určení prognózy pacienta bude důležitá nejen kde, v jakém množství a v jaké fázi onemocnění můžeme detekovat nádorové buňky, ale důležitá bude i poznat jejich biologický potenciál.

Literatura

- Gribben JG. Attainment of molecular remission- a worthwhile goal. *J Clin Oncol* 12: 1532-1534, 1994
- Cheson BD, Horning SJ, Coiffier B, et al.: Report of an International Workshop to Standardize Response Criteria for Non-Hodgkin's Lymphomas. *J Clin Oncol* 17: 1244-1253, 1999
- Lion T: Clinical implications of qualitative and quantitative polymerase chain reaction analysis in the monitoring of patients with chronic myelogenous leukemia. *Bone Marrow Transplant*. 14: 505, 1994
- Heim S, Mittelman F: *Cancer Cytogenetics* (ed 2). New York, NY, Wiley-Liss, 1995
- Schrock E, du Manoir S, Veldman T, et al: Multicolor spectral karyotyping of human chromosomes. *Science* 273: 494-497, 1996
- Speicher MR, Ballard ST, Ward DC, et al.: Karyotyping human chromosomes by combinatorial multicolor FISH. *Nat Genet* 2: 368-375, 1996
- Italian Cooperative Study Group on Chronic Myeloid Leukemia. Long-Term Follow-Up of the Italian Trial of Interferon-alpha Versus Conventional Chemotherapy in Chronic Myeloid Leukemia. *Blood* 92: 1541-1548, 1998
- Robertson LE, Huh YO, Butler JJ, et al: Response assessment in chronic lymphocytic leukemia after fludarabine plus prednisone: clinical, pathologic, immunophenotypic, and molecular analysis. *Blood* 80: 29-36, 1992
- Cabezudo E, Matutes E, Ramrattan M, et al: Analysis of residual disease in chronic lymphocytic leukemia by flow cytometry. *Leukemia* 11:1909-1914, 1997
- Jennings CD, Foon KA: Recent advances in flow cytometry: application to the diagnosis of hematologic malignancy. *Blood* 90:2863-2892, 1997
- Rawstron AC, Kennedy B, Evans PAS, et al: Quantitation of minimal disease levels in chronic lymphocytic leukemia using a sensitive flow cytometric assay improves the prediction of outcome and can be used to optimize therapy. *Blood* 98: 29-35, 2001
- Martiat P, Maisin D, Philippe M et al.: Detection of residual BCR/ABL transcripts in chronic myelogenous leukemia patients in complete remission using polymerase chain reaction and nested primers. *Br J Haematol* 75: 355-358, 1999
- Don RH, Cox PT, Wainwright BJ, et al: Touchdown PCR to circumvent spurious priming during gene amplification. *Nucleic Acids Res.* 19:4008, 1991
- Fields KK, Elfenbein GJ, Trudeau WL, et al. Clinical significance of bone marrow metastases as detected using polymerase chain reaction in patients with breast cancer undergoing high-dose chemotherapy and autologous bone marrow transplantation. *J Clin Oncol.* 1996;14:1868-1876.
- Limpens J, Stad R, Vos C, de Vlaam C, et al: Lymphoma-associated translocation t(14;18) in blood B cells of normal individuals. *Blood* 85:2528-36, 1995
- Finke J, Slanina J, Lange W, Dolken G: Persistence of circulating t(14,18)-positive cells in long-term remission after radiation therapy for localized-stage follicular lymphoma. *J Clin Oncol* 11: 1668-1673, 1993
- Pichert G, Alyea EP, Soiffer RJ, et al.: Persistence of myeloid progenitor cells expressing BCR-ABL mRNA after allogeneic bone marrow transplantation for chronic myelogenous leukemia. *Blood* 84: 2109-2114; 1994
- Ouspenskaia MV, Johnston DA, Roberts WM, et al: Accurate quantitation of residual B-precursor acute lymphoblastic leukemia by limiting dilution and PCR-based detection system: A description of the method and the principles involved. *Leukemia* 9: 321-8, 1995
- Slavičková A, Benešová E, Bradová V, Ullmannová V: Semikvantitativní sledování molekulárních markerů u ne Hodgkinských lymfomů. *Čas Lék Čes* 136: 221-225, 1997
- Slavičková A, Ullmannová V, Benešová E, Klenner P: Monitoring of residual disease in non-Hodgkin's lymphomas by quantitative PCR. *Molecular Biology of Hematopoiesis* 6, Kluwer Academic/ Plenum Publishers, Chapter 23, 175-180, 1999
- Slavičková A, Ullmannová V, Klenner P: Optimized multiplex IgH/ras PCR: a tool for quantitative monitoring of B-lymphoproliferative disorders. *Biotechniques* 28:716-8, 720-1, 2000.
- Slavičková A, Ivánek R, Černý J, Šalková J, Trněný M: Clinical Relevance of Semi-Quantitative Monitoring of Lymphomas by Comparative PCR. *Clinical Laboratory* 47, 593, 2001
- Cross NCP, Feng L, Chase A, Bungey J, Hughes T, Goldman JM: Competitive Polymerase chain reaction to estimate the number of BCR-ABL transcripts in chronic myelogenous leukemia patients after bone marrow transplantation. *Blood* 82: 1929-1936; 1993
- Siebert PD, Larrick JW: PCR MIMICS: competitive DNA fragments for use as internal standards in quantitative PCR. *Biotechniques*, 14: 244-249, 1993
- Moravcová J, Lukašová M, Starý J, Haškovec C: Simple competitive two-step RT-PCR assay to monitor minimal residual disease in CML patients after bone marrow transplantation. *Leukemia* 12: 1303-1312, 1998
- Donovan JW, Ladetto M, Zou G, et al: Immunoglobulin heavy-chain consensus probes for real-time PCR quantification of residual disease in acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 95:2651-2658, 2000
- Ladetto M, Donovan JW, Hairig S, et al: Real-Time polymerase chain reaction of immunoglobulin rearrangements for quantitative evaluation of minimal residual disease in multiple myeloma. *Biol Blood Marrow Transplant* 6: 241-53, 2000
- Ladetto M, Sametti S, Donovan JW, et al: A validated real-time quantitative PCR approach shows a correlation between tumor burden and successful ex vivo purging in follicular lymphoma patients. *Exp Hematol* 29:183-93, 2001
- Holland PM, Abramson RD, Watson R, Gelfand DH: Detection of specific polymerase chain reaction product by utilizing the 5'-3' exonuclease activity of *Thermus aquaticus* DNA polymerase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 88:7276-7280, 1991
- Steenbergen EJ, Verhagen OJ, van Leeuwen EF, et al.: IgH/TCR delta PCR oligonucleotide liquid hybridization, a fast and sensitive assay for monitoring minimal residual disease in childhood B-precursor ALL. *Leukemia* 9:216-222, 1995
- Voena C, Ladetto M, Astolfi M, et al: A novel nested-PCR strategy for the detection of rearranged immunoglobulin heavy-chain genes in B cell tumors. *Leukemia* 11:1793-1798, 1997
- Pfützner T, Engert A, Wittor H, et al: A real-time PCR assay for the quantification of residual malignant cells in B cell chronic lymphatic leukemia. *Leukemia* 14:754-766, 2000
- Gribben JG, Neuberger D, Barber M, et al.: Detection of residual lymphoma cells by polymerase chain reaction in peripheral blood is significantly less

- predictive for relapse than detection in bone marrow. *Blood* 83: 3800-3807; 1994
34. Zwicky CS, Maddocks AB, Andersen N, et al: Eradication of polymerase chain reaction detectable immunoglobulin gene rearrangement in non-Hodgkin's lymphomas is associated with decreased relapse after autologous bone marrow transplantation. *Blood* 88: 3314-3322; 1996
 35. Bendandi M, Gocke CD, Kobrin et al: Complete molecular remissions induced by patient-specific vaccinations plus granulocyte-monocyte colony-stimulating factor against lymphoma. *Nature Medicine* 5: 1171-1177; 1999
 36. Lopez-Guillermo A, Cabanillas F, McLaughlin P, et al: The Clinical Significance of Molecular Response in Indolent Follicular Lymphomas. *Blood* 91: 2955-2960; 1998
 37. Gupta RK, Summers KE, Lister TA: PCR Analysis for the t(14;18) translocation in patients with recurrent follicular lymphoma following immunotherapy with rituximab (IDEC-C2B8). *Blood* 92, Suppl. 1 (Abstract 974); 1998.
 38. Mandigers CMPW, Meijerink JPP, Mensink EKBM, et al: Lack of correlation between numbers of circulating t(14;18)-positive cells and response to first-line treatment in follicular lymphoma. *Blood* 98: 940-944, 2001
 39. Drillenburg P, Pals ST. Cell adhesion receptors in lymphoma dissemination (review). *Blood* 95:1900-1910, 2001
 40. Brenner MK, Rill DR, Moen RC, et al. Gene marking and autologous bone marrow transplantation. *Ann N Y Acad Sci* 716: 204-214, 1994
 41. Pillarski LM, Hipperson G, Seeberger K, Pruski E, Coupland RW, Belch AR. Myeloma progenitors in the blood of patients with aggressive or minimal disease: engraftment and self-renewal of primary human myeloma in the bone marrow of NOD SCID mice. *Blood*; 95:1056-1065, 2000
 42. Lemoli RM, Martinelli G, Olivieri A, et al. Selection and transplantation of autologous CD34+B-lineage negative cells in advanced phase multiple myeloma patients: a pilot study. *Br J Haematol* 107: 419-28, 1999
 43. Magni M, Di Nicola M, Devizzi L, et al: Successful in vivo purging of CD34-containing peripheral blood harvests in mantle cell and indolent lymphoma: evidence for a role of both chemotherapy and rituximab infusion. *Blood* 96:864-869; 2000
 44. Gupta D, Bybee A, Cooke F, et al: CD34+- selected peripheral blood progenitor cell transplantation in patients with multiple myeloma: Tumor contamination and outcome. *Br J Hematology* 104: 166-177, 1999
 45. Sharp JG, Kessinger A, Mann S, et al: Outcome of high-dose therapy and autologous transplantation in non-Hodgkin's lymphoma based on the presence of tumor in the marrow or infused hematopoietic harvest. *J Clin Oncol* 14: 214-219, 1996
 46. Corradini P, Astolfi M, Cherasco C, et al: Molecular monitoring of minimal residual disease in follicular and mantle cell lymphomas treated with high-dose chemotherapy and peripheral blood progenitor autografts. *Blood* 89: 724-731; 1997
 47. Druker B. ABL protein tyrosine kinase inhibitors: potential clinical role in CML. In: Kantarjian H, Talpaz M, eds. *Medical Management of Chronic Myelogenous Leukemia*. Marcel Dekker, Inc; New York, NY. 1999, 395-411.
 48. Stetlet-Stevenson M, Raffeld M, Cohen P, Cossman J: Detection of occult follicular lymphoma by specific DNA amplification. *Blood* 72:1822-1825, 1988
 49. Campana D, Pui CH. Detection of minimal residual disease in acute leukemia: methodologic advances and clinical significance. *Blood* 85:1416-1434, 1995
 50. Brisco MJ, Condon J, Hughes E et al.: Outcome prediction in childhood acute lymphoblastic leukemia by molecular quantitation of residual disease at the end of induction. *Lancet* 343: 196-200; 1994
 51. Miyamura K, Tanimoto M, Morishima Y et al.: Detection of Philadelphia Chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia by polymerase chain reaction. Possible eradication of minimal residual disease by marrow transplantation. *Blood* 79: 1366-1370, 1992
 52. Cave H, Guidal C, Rohlich P et al.: Prospective monitoring and quantitation of residual blasts in childhood acute lymphoblastic leukemia by polymerase chain reaction study of delta and gamma T- cell receptor genes. *Blood* 83: 1892-1902, 1994
 53. Gruhn B, Hongeng S, Yi H, et al: Minimal residual disease after intensive induction therapy in childhood lymphoblastic leukemia predicts outcome. *Leukemia* 12: 675- 681, 1998
 54. Vuillier F, Claisse JF, Vandenvelde C, et al. Evaluation of residual disease in B-cell chronic lymphocytic leukemia patients in clinical and bone-marrow remission using CD5-CD19 markers and PCR study of gene rearrangements. *Leuk Lymph* 7: 195-204, 1992
 55. Provan D, Bartlett-Pandite L, Zwicky C et al. Eradication of polymerase chain reaction-detectable Chronic Lymphocytic Leukemia cells is associated with improved outcome after bone marrow transplantation. *Blood* 88: 2228-2235, 1996
 56. Magnac C, Sutton L, Cazin B, et al: Detection of minimal residual disease in B Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL). *Hematol Cell Ther* 41: 13-18, 1999
 57. Meloni G, Proia A, Mauro FR, et al: Unmanipulated peripheral blood stem cell autograft in chronic lymphocytic leukemia: clinical findings and biological monitoring. *Haematologica*, 85: 952-960, 2000
 58. Burnett AK, Goldstone AH, Stevens RMF, et al: Randomised comparison of addition of autologous bone-marrow transplantation to intensive chemotherapy for acute myeloid leukaemia in first remission: results of MRC 10 trial. *Lancet* 351:700-708, 1998.
 59. Tobal K, Newton J, Macheta M, et al: Molecular quantitation of minimal residual disease in acute myeloid leukemia with t(8;21) can identify patients in durable remission and predict clinical relapse. *Blood* 95: 815-819, 2000
 60. Meloni G, Diverio D, Vignetti M, et al: Autologous bone marrow transplantation for acute promyelocytic leukemia in second remission: Prognostic relevance of pretransplant minimal residual disease assessment by reverse-transcription polymerase chain reaction of the PML/RAR fusion gene. *Blood* 90: 1321- 1325; 1997
 61. Lo Coco F, Diverio D, Falini B, et al. Genetic diagnosis and molecular monitoring in the management of promyelocytic leukemia. *Blood* 94: 12-22, 1999
 62. Kusec R, Laczika K, Knobl P et al.: AML1/ETO fusion mRNA can be detected in remission blood samples of all patients with t(8;21) acute myelogenous leukemia after chemotherapy or autologous bone marrow transplantation. *Leukemia* 8: 735-739; 1994
 63. Miller WH, Levine K, DeBlasio A, et al.: Detection of minimal residual disease in acute promyelocytic leukemia by a reverse transcription polymerase chain reaction assay for the PML/RAR-alpha mRNA. *Blood* 82: 1689-1694, 1993
 64. Diverio D, Rossi V, Avvisati G, et al. for the GIMEMA (Gruppo Italiano Malattie Ematologiche Maligne dell'Adulto) and AIEOP Cooperative Groups. Early Detection of Relapse by Prospective Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction Analysis of the PML/RARa Fusion Gene in Patients With Acute Promyelocytic Leukemia Enrolled in the GIMEMA-AIEOP Multicenter "AIDA" Trial (All-trans retinoic acid plus Idarubicin). *Blood* 92: 784-789; 1998
 65. Venditti A, Buccisano F, Del Poeta G, et al: Level of minimal residual disease after consolidation therapy predicts outcome in acute myeloid leukemia. *Blood* 96: 3948-3952; 2000
 66. Lo Coco F, Diverio D, Avvisati G, et al: Therapy of molecular relapse in acute promyelocytic leukemia. *Blood* 94:2225-2229, 1999
 67. Sokal JE, Cox EB, Baccarani M, et al: Prognostic discrimination in "good-risk" chronic granulocytic leukemia. *Blood* 63: 789-799, 1984
 68. Kantarjian HM, Smith TL, O'Brien S, et al: Prolonged survival in chronic myelogenous leukemia after cytogenetic response to Interferon-a therapy. *The Leukemia Service. Ann Intern Med* 122: 254- 261, 1995
 69. Roth MS, Antin JH, Ash R et al.: Prognostic significance of Philadelphia chromosome-positive cells detected by polymerase chain reaction after allogeneic bone marrow transplant for chronic myelogenous leukemia. *Blood* 79: 276- 282; 1992
 70. Hughes TP, Morgan GJ, Martiat P, Goldman JM: Detection of residual leukemia after bone marrow transplantation for chronic myelogenous leukemia: Role of polymerase chain reaction in predicting relapse. *Blood* 77: 874- 878, 1991
 71. Lion T, Henn T, Gaiger A, Kahls P, Gadner H: Early detection of relapse after bone marrow transplantation in patients with chronic myelogenous leukemia. *Lancet* 341: 275-276, 1993
 72. Deisseroth AB, Zu Z, Claxton D, et al: Genetic marking shows that Ph+ cells present in chronic myelogenous leukemia (CML) contribute to relapse after autologous bone marrow in CML. *Blood* 82: 3068- 3076, 1994
 73. Corradini P, Voena C, Astolfi M, et al: High-dose sequential chemoradiotherapy in multiple myeloma: residual tumor cells are detectable in bone marrow and peripheral blood cell harvests and after autografting. *Blood* 85:1596- 1602, 1995
 74. Corradini P, Voena C, Tarella C, et al: Molecular and clinical remission in multiple myeloma: role of autologous and allogeneic transplantation of hematopoietic cells. *J Clin Oncol* 17:208-15, 1999
 75. Martinelli G, Terragna C, Lemoli RM, et al: Clinical and molecular follow-up by amplification of the CDR-III IgH region in multiple myeloma patients after autologous transplantation of hematopoietic CD34+ stem cells. *Haematologica* 84:397-404, 1999
 76. Martinelli G, Terragna C, Zamagni E, et al: Molecular remission after allogeneic or autologous transplantation of hematopoietic stem cells for multiple myeloma. *J Clin Oncol* 18:2273-81, 2000
 77. Attal M, Harousseau J, Stoppa A, et al: A prospective, randomized trial of autologous bone marrow transplantation and chemotherapy in multiple myeloma. *N Engl J Med* 335:91-97, 1996
 78. Barlogie B, Jagannath S, Desikan KR, et al: Total therapy with tandem transplants for newly diagnosed multiple myeloma. *Blood* 93: 55-65, 1999
 79. Tribalto M, Amadori S, Cudillo L, et al: Autologous peripheral blood stem cell transplantation as first line treatment of multiple myeloma: an Italian multicenter study. *Haematologica* 85: 52- 58, 2000
 80. Bensinger WI, Buckner CD, Anasetti C, et al: Allogeneic marrow transplantation for multiple myeloma: an analysis of risk factors on outcome *Blood* 88: 2787-2793, 1996
 81. Cavo M, Bandini G, Benni M, et al: High-dose busulfan and cyclophosphamide are an effective conditioning regimen for allogeneic bone marrow transplantation in chemosensitive multiple myeloma. *Bone Marrow Transplant* 22: 27-32, 1998
 82. Rondelli D, Bandini G, Cavo M, et al: Discrepancy between serological complete remission and concomitant new bone lytic lesions after infusion of escalating low doses of donor lymphocytes in multiple myeloma: a case report. *Bone Marrow Transplant* 24: 685-687, 1999
 83. Björkstrand B, Ljungman P, Svensson H, et al: Allogeneic bone marrow transplantation versus autologous stem cell transplantation in multiple myeloma: a retrospective case-matched study from the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Blood* 88: 4711- 4718, 1996
 84. Cavo M, Terragna C, Martinelli G, et al: Molecular monitoring of minimal residual disease in patients in long-term complete remission after allogeneic stem cell transplantation for multiple myeloma. *Blood* 96: 355-357, 2000
 85. Gribben JG, Freedman AS, Neuberger D, et al: Immunologic purging of marrow assessed by PCR before autologous bone marrow transplantation for B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 325: 1525-1533, 1991

86. McLaughlin P, Grillo-Lopez AJ, Link BK, et al: Rituximab chimeric anti-CD20 monoclonal antibody therapy for relapsed indolent lymphoma: Half of patients respond to a four-dose treatment program. *J Clin Oncol* 16: 2825-2833, 1998
87. McLaughlin P, Hagemester FB, Swan F, et al: Intensive conventional-dose chemotherapy for stage IV low-grade lymphoma: high remission rates and reversion to negative of peripheral blood bcl-2 rearrangement. *Ann Oncol* 5, Suppl 2: 73-77, 1994
88. Cabanillas F. Molecular response assessed by PCR is the most important factor predicting failure free survival in indolent follicular lymphoma - Update of MDACC Series. Program and abstracts of Lymphoma: The Next Questions: Palm Desert, California, USA, 1999
89. Crawley CR, Foran JM, Gupta RK, et al: A phase II study to evaluate the combination of fludarabine, mitoxantrone and dexamethasone (FMD) in patients with follicular lymphoma. *Ann Oncol* 11: 861- 865, 2000
90. Horning SJ, Negrin RS, Hoppe RT, et al: High-dose therapy and autologous bone marrow transplantation for follicular lymphoma in first complete or partial remission: results of a phase II clinical trial. *Blood* 97: 404-409, 2001
91. Freedman AS, Neuberg D, Mauch P, et al: Long-Term Follow-Up of Autologous Bone Marrow Transplantation in Patients With Relapsed Follicular Lymphoma. *Blood* 94: 3325-3333; 1999
92. Gribben JG, Neuberg D, Freedman AS, et al: Detection by polymerase chain reaction of residual cells with the bcl 2 translocation is associated with increased risk of relapse after autologous bone marrow transplantation for B-cell lymphoma. *Blood* 81: 3449, 1993.
93. Andersen NS, Donovan JW, Borus JS, et al: Failure of immunologic purging in mantle cell lymphoma assessed by polymerase chain reaction detection of minimal residual disease. *Blood* 90: 4212-4221; 1997
94. Maloney DJ, Grillo-Lopez AJ, White CA, et al: IDEC-C2B8 (rituximab) anti-CD20 antibody therapy in patients with relapsed low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 90: 2188-2195, 1997
95. Coiffier B, Haioun C, Ketterer N, et al: Rituximab (anti-CD20 monoclonal antibody) for the treatment of patients with relapsing or refractory aggressive lymphoma: A multicenter phase II study. *Blood* 92: 1927-1932, 1998
96. Czuczman MS, Grillo-Lopez AJ, White CA, et al: Treatment of Patients With Low-Grade B-Cell Lymphoma With the Combination of Chimeric Anti-CD20 Monoclonal Antibody and CHOP Chemotherapy. *J Clin Oncol* 17: 268-276; 1999
97. Solal-Celigny Ph, Salles G, Brousse N, et al: Rituximab as first-line treatment of patients with follicular lymphoma (FL) and a low-burden tumor: clinical and molecular evaluation. *Blood*. 94: Abstract 2802, 1999
98. Emmanouilides C, Teletar M, Rosen P, et al: Excellent tolerance of rituxan when given after mitoxantrone-cyclophosphamide: An effective and safe combination for indolent NHL. *Blood* 94: Part 1, Suppl 1, 402, 1999
99. Vose JM, Link BK, Grossbard ML. Phase II study of rituximab in combination with CHOP chemotherapy in patients with previously untreated intermediate or high-grade non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol* 1999;10 (suppl 3):195a.
100. Foran JM, Rohatiner AZS, Cunningham D, et al: European Phase II Study of Rituximab (Chimeric Anti-CD20 Monoclonal Antibody) for Patients With Newly Diagnosed Mantle-Cell Lymphoma and Previously Treated Mantle-Cell Lymphoma, Immunocytoma, and Small B-Cell Lymphocytic Lymphoma. *J of Clin Oncol* 18: 317-324; 2000
101. Gianni AM, Magni M, Di Nicola M, et al: In vivo purging of circulating CD34+ progenitor cells in low-grade lymphoma with rituximab and high-dose chemotherapy. *Blood* 92: Part 1, Suppl 1, 481, 1998
102. Buckstein R, Imrie K, Spaner D, et al: Stem cell function and engraftment is not affected by „in vivo purging“ with rituximab for autologous stem cell treatment for patients with low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *Semin Oncol* 26 (suppl 4):115-122, 1999
103. Černý J, Trněný M, Slavičková A, Procházka B: The Clinical Outcome of Patients with B-cell Lymphoproliferative Disease (B-LPD) Seems to Be Improved by the Success in Induction of Polymerase Chain Reaction (PCR) Negativity Achieved by High Dose Therapy with Autologous Stem Cell Transplantation or Rituximab Therapy. *The Hematology Journal*. 2: 1, Suppl, 148-149, 2001
104. Trněný M, Černý J, Papajík T, Slavičková A, Procházka B, Indrák K, Kleiner P: Anti CD20 antibody (rituximab) therapy leads to high molecular remission rate with favourable outcome in patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 98, Part 1, Suppl, 2537, 2001
105. Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, et al: Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature* 403: 503- 511, 2000
106. Shipp M, Tamayo P, Angelo M, et al: Diffuse large B cell lymphoma outcome prediction by gene expression profiling. *Blood* 96: Part 1, Suppl, 948, 2000

informace

Vážení kolegové, milý přátelé,

jak se již stalo tradicí, i letos se koná druhý červnový víkend

Setkání mladých onkologů.

Proto bychom Vás rádi jménem organizačního výboru pozvali k účasti na této vzdělávací akci, které se v minulém roce zúčastnilo více než 80 lékařů.

Setkání se uskuteční ve dnech **6.-8. června 2003** v hotelu Medlov, Fryšava pod Žákovou horou, okres Žďár nad Sázavou.

Pro letošní rok budou systematicky diskutovány otázky diagnostiky a terapie plicního karcinomu a maligního melanomu.

Účastníkům bude v plné výši uhrazeno ubytování i stravování.

Přihlásit k účasti se lze pomocí webového formuláře umístěného na internetové stránce nebo písemně poštou na adresu: MUDr. Jan Novotný, Onkologická klinika VFN a 1. LF UK, U nemocnice 2, Praha 2, 128 08.

Za organizátory **MUDr. Jan Novotný, MUDr. Filip Janků**
Onkologická klinika VFN a 1. LF UK
U nemocnice 2
Praha 2, 128 08

PROGRAM SETKÁNÍ

Pátek 6. června *večeře*

Sobota 7. června

9.00– 9.05	Úvod
9.05– 9.20	Histopatologická klasifikace nádorů plic
9.20– 9.35	Epidemiologie a prevence plicních nádorů
9.30– 9.55	Zobrazovací metody v diagnostice plicních nádorů
9.55–10.05	Invasivní metody v diagnostice plicních nádorů
10.05–10.35	Paraneoplastické projevy plicních nádorů
10.35–10.45	<i>Firemní prezentace 1</i>
10.45–11.00	<i>Přestávka</i>

11.00–11.20	Chirurgická léčba plicních nádorů
11.20–11.50	Protinádorové léky s novými mechanismy účinku
11.50–12.00	<i>Firemní prezentace 2 BMS</i>
12.00–12.40	Léčba interních komplikací u nemocných se zhoubnými nádory

12. 40–12.50

13.00–14.00

14.00–14.30

14.30–14.50

14.50–15.05

15.05–15.15

15.15–15.30

15.30–16.10

16.10–16.30

16.30–16.45

16.45–16.55

18.30–19.30

20.00

Firemní prezentace 3

Oběd

Komplexní onkologická léčba malobuněčného plicního karcinomu

Profylaktické ozáření krania–ANO či NE ?

Novinky z ASCO meetingu

Firemní prezentace 4

Přestávka

Komplexní onkologická léčba nemalobuněčného plicního karcinomu

Léčba nemocných se zhoubnými nádory plic ve vyšším věku

Chemoterapie u nemocných v horším výkonostním stavu – ANO či NE ?

Firemní prezentace 5

Večeře

Společenský program

Neděle 8. června

9.00– 9.20	Plicní karcinoid
9.20– 9.40	Histopatologická klasifikace maligního melanomu
9.40– 9.55	Epidemiologie a prevence u maligního melanomu
9.55–10.10	Chirurgická léčba časných stádií maligního melanomu
10.10–10.30	Adjuvantní imunoterapie–ANO či NE
10.30–10.45	Přestávka
10.45–11.15	Léčba lokálně pokročilého a metastatického maligního melanomu
11.15–11.35	Nové postupy v léčbě maligního melanomu
11.35–11.45	<i>Firemní prezentace 6</i>
12.00	Oběd

„KRITÉRIA ONKOLOGICKÉ OPERABILITY U NEMALOBUNĚČNÉ FORMY PLICNÍ RAKOVINY“

„ONCOLOGIC OPERABILITY CRITERIA IN NON-SMALL CELL LUNG CANCER“

ČAPOV I., WECHSLER J., JEDLIČKA V., VLČEK J.¹, PEŠTÁL A., KATOLICKÁ J.², DOLEŽEL J.

I. CHIRURGICKÁ KLINIKA, FN U SVATÉ ANNY V BRNĚ

¹ KLINIKA FUNKČNÍ DIAGNOSTIKY A REHABILITACE, FN U SVATÉ ANNY V BRNĚ

² ODDĚLENÍ KLINICKÉ A RADIAČNÍ ONKOLOGIE, FN U SVATÉ ANNY V BRNĚ

Souhrn: Autoři ve své práci rozebírají pojmy jako jsou operabilita, reseabilita, jak v globálním, tak i v individuálním pojetí, u bronchogenního karcinomu. Definují kompletní a inkompletní resekci. Detailně popisují jednotlivá kritéria onkologické operability (nepřítomnost vzdálených metastáz, nepřítomnost postižení mediastinálních lymfatických uzlin, možnost chirurgického řešení lokálně pokročilých tumorů). Autoři jsou zastánci centralizace jak chirurgické, tak i komplexní péče o nemocné s bronchogenním karcinomem.

Klíčová slova: plicní rakovina - reseabilita - biologická operabilita - onkologická operabilita - kompletní resekce - N2 stupeň

Summary: The authors analyse in their paper concepts as operability and reseability of lung cancer in global and as well as individual conditions. They define completeness and incompleteness of radical surgery and describe very detailed criteria of oncologic operability. Criteria of oncologic operability consists from three conditions: 1) no evidence for distant metastasis, 2) no evidence for mediastinal lymph node infiltration, 3) possibility of surgery in locally advanced tumours. The authors recommend centralisation of special care for patients with lung cancer.

Key words: lung cancer - operability - reseability - radical surgery - completeness of surgery

Úvod

Plicní resekce představuje stále základní kámen v léčbě nemalobuněčné formy plicního karcinomu. Chirurgická léčba dosahuje nejlepších výsledků v časných stádiích nádorového onemocnění. Operace musí být vedeny na základě možnosti onkochirurgické radikality. Radikální operační výkon spočívá v odstranění tumoru se současným odstraněním regionálního lymfatického řečiště. K tomuto účelu se využívá co možná nejexaktnějšího předoperačního stagingu s využitím všech dostupných (i chirurgických) vyšetřovacích metod. Ze zobrazovacích metod pro anatomický staging mediastina si drží stále prvenství CT vyšetření s podáním dostatečného množství kontrastní látky. CT vyšetření bylo zavedeno do praxe po roce 1980 a brzy se stalo rutinní neinvazivní vyšetřovací metodou pro mediastinální staging. I když se v poslední době stále více využívá PET scanu, v našich podmínkách t.č. pracuje pouze jedno pracoviště a pro běžnou praxi je téměř nedostupné. Veškerá provedená vyšetření by měla poskytnout vyčerpávající informace o rozsahu onemocnění a možnosti radikální léčby. Postižení mediastinálních lymfatických uzlin představuje velmi nepříznivý prognostický faktor reseability a dlouhodobého přežívání. Většina autorů proto považuje za důležité exaktně diagnostikovat N2 stupeň onemocnění již před operací pro možnost využití neoadjuvantní léčby. Nedostatečně přesný chirurgický staging činí obtížnou i interpretaci řady multimodálních studií využívající neoadjuvantní léčbu. Řada studií zahrnuje nemocné s negativním či nejasným N2 stupněm. Kontraindikace plicní resekce závisí na buněčném typu nádoru, na rozsahu nádoru, na celkovém stavu nemocného. V další části se budeme věnovat jen nemalobuněčné formě plicní rakoviny. Téměř polovina nemocných v době stanovení diagnózy jeví již známky inoperability. Podle Pastorina má přibližně 30 % nemocných v době stanovení diagnózy reseabilitu onemocnění (29). Operabilitu plicního karcinomu je možné

posuzovat ze 2 hledisek (globálního a individuálního). Vzhledem k tomu, že ne vždy jsou tyto pojmy správně interpretovány, uvedeme jejich definice. V globálním měřítku vyjadřuje operabilita počet nemocných s plicní rakovinou, kteří jsou operováni ze všech diagnostikovaných případů. Operabilita se vyjadřuje v procentech. Podobně může být posuzována i reseabilita. Reseabilita je v globálním měřítku vždy menší než operabilita. Je dána rozdílem mezi operabilitou a počtem probatorních torakotomií. Reseabilita je rovněž udávána v procentech. Operabilita bronchogenního karcinomu v českých zemích je velmi nízká, i když postupně narůstá. V roce 1995 činila 11,7 % (36). Pro srovnání uvádíme hodnoty z jiných zemí: Španělsko 14-17%, Velká Británie 20%, USA 25-30%, Japonsko 40%. Individuální pojetí operability (synonyma onkologická či biologická operabilita) či reseability se týká jen daného nemocného. Jestliže je operabilita nádorového onemocnění spíše dána rozsahem onemocnění (N2, N3, M1), pak posuzování reseability souvisí spíše s technickými podmínkami a možnostmi soudobé chirurgie. Výběr nemocných k chirurgickému zákroku se neodvíjí pouze na základě tzv. technických faktorů reseability, ale zejména na podkladě biologické operability onemocnění. Technické faktory reseability znamenají možnost kompletního odstranění přítomného tumoru z anatomického hlediska. Hranice technické reseability se s vývojem nových technologií stále posouvá dopředu. Například je možné provést simultánní koronární bypass a plicní resekci s pomocí kardiiovaskulárního týmu. Biologická operabilita podle Mountain představuje velmi důležitý faktor v rozhodování pro eventuelní chirurgickou intervenci (26). Pro správný náhled uvádíme následující příklad. Pacient má malý periferní tumor T1, ale N3 stupeň onemocnění. Tumor je anatomicky a technicky reseabilní, ale onemocnění je považováno za inoperabilní. Počet pouhých explorací je výrazně ovlivněn zkušenostmi, ale i agresivitou chirurga,

tradiční pracoviště. Permanentní snaha o redukci neefektivních torakotomií spočívá i ve větším využívání videotorakoskopických vyšetření v úvodu operace. Činí tak již řada chirurgických pracovišť ve světě. Jen specializovaná torakochirurgická oddělení či centra mohou vykazovat nízké procento či promile probatorních torakotomií a naopak vysokou resekalibilitu, včetně lokálně pokročilých nádorů. V dnešní době jsme v Čechách a na Moravě spíše svědky toho, že někteří všeobecní chirurgové v honbě za body pro pojišťovny, i bez dostatečné erudice v hrudní chirurgii a zejména kvalitního nemocničního zázemí, mají tendenci provádět elektivní resekcí zákroky. S tímto trendem se zásadně neztotožňujeme. Benefit nemocného musí být nadřazen osobním ambicím.

Kompletní resekce versus inkompletní

Kompletní resekce zůstává základní ideou v léčbě nemalobuněčné formy plicního karcinomu. Posuzování kompletnosti resekce může být různé. Nejčastěji je kompletní resekce definována následujícími 4 faktory:

1. Chirurg musí být přesvědčen, že plánovaný zákrok bude radikální
2. Centrální okraje resekováných tkání musí být mikroskopicky bez nádorového postižení („tumor-free“ - R0). Vyšetření resekcí linií na zmrzlo se provádí zásadně peroperačně. Prodlužuje se tím sice operační výkon v našich podmínkách o 20 - 30 minut, ale operátor má jistotu radikální operace. V ojedinělých případech mohou být tato peroperační vyšetření falešně negativní.
3. Nejvzdáleněji uložená uzlina hraničních kompartmentů musí být mikroskopicky bez nádorového postižení. Je-li tato uzlina postižena tumorem, pak nelze resekci označit za kompletní
4. Pouzdra odebraných uzlin musí být intaktní

Úplnost (kompletnost) resekce tvoří spolu s N-stupněm onemocnění a histologickým typem nádorového onemocnění hlavní prediktory přežívání. Za kompletní je rovněž možné považovat resekci spojenou s mediastinální lymfadenektomií. Positivní histologický nálezy v lymfatických uzlinách nejvýše a nejnižší uložených stanic (oblastí či kompartmentů) při mediastinální lymfadenektomii považuje řada autorů za resekci inkompletní (18). Tradiční pojetí inkompletní resekce však spočívá ve dvou patologických nálezech - residuální tumor v resekcí linií a nálezy pozitivních nejvýše (či nejnižší) uložených mediastinálních uzlin. V literatuře je definitivní inkompletní resekce (R1) bronchu udávána v rozmezí 1,6 - 14 %. Dienemann a spol. prokázali residuální tumor v centrální resekcí linií bronchu u 88 nemocných, tj. 3,6% operovaných (8). Podobný výskyt (3,39 %) udává i Ghiribelli (12). Tumorózní infiltrace bronchu se může nacházet ve sliznici, v submukóze, peribronchiálně a jako Ca in situ. Klasifikaci mikroskopické residuální nemoci do 2 skupin poprvé popsal Cotton (5). Cotton nemocné rozdělil do skupiny se slizničním postižením (MMRD - mucosal microscopic residual disease) a extramukózním postižením (EMRD - extramucosal microscopic residual disease). Zatímco u spinocelulární formy se nachází častěji mukózní forma, pak u adenokarcinomu spíše forma peribronchiální. Residuální tumor v resekcí liniích představuje velké riziko recurence onemocnění. Přežívání u nemocných s mikroskopickým residuálním tumorem v bronchiálním pahýlu je horší než u nemocných s kompletní resekci. Liewald a spol. (19) našli zřetelně delší přežívání u nemocných s mukózní formou R1 (medián přežití 25 měsíců) než u nemocných s extramukózní formou (medián 10,3 měsíce).

Kritéria operability

Veškerá kritéria se vyvíjí a mění historicky v čase. Mění se na základě nových terapeutických postupů, zdokonalující se technické vybavenosti, využívání technických novinek, narůstajících zkušeností operátora, tradice pracoviště. Kritéria posuzo-

vání funkční operability jsou různá. Jejich cílem je eliminace či alespoň snížení chirurgického rizika. Pacient by měl tolerovat plicní resekci bez většího rizika permanentní neschopnosti či nadměrného rizika smrti.

Za kritéria onkologické operability jsou považovány :

1. nepřítomnost vzdálených metastáz.
2. nepřítomnost postižení mediastinálních lymfatických uzlin.
3. možnost resekalibility lokálně pokročilých nádorů.

Ad: 1. Nepřítomnost vzdálených metastáz

Všeobecně platí, že vzdálené metastázy (M1) jsou kontraindikací chirurgické léčby. Podle revize klasifikačního systému z roku 1997 je rovněž intrapulmonální ipsilaterální metastáza lokalizovaná v jiném laloku považována za M1. Existuje však několik výjimek. Jednou z nich může být například resekalibilita mozková solitární metastáza potvrzená CT a NMR. K vyloučení kostních metastáz se provádí laboratorní vyšetření, radioizotopová vyšetření, event. punkce kostní dřeně.

Ad: 2. Nepřítomnost postižení mediastinálních lymfatických uzlin

Předoperační nálezy postižení mediastinálních uzlin vylučuje však jen bezprostřední chirurgický zákrok a je indikována neoadjuvantní léčba. Samotná chirurgická léčba u lokálně pokročilého onemocnění je nedostatečná (25). N2 stupeň onemocnění zahrnuje velké spektrum nemocných a je nesmírně důležité definovat tu skupinu nemocných, která bude mít z tohoto kombinovaného agresivního přístupu benefit. Možnost neoadjuvantní léčby tzv. „sterilizovat mediastinum“ je velmi důležitým aspektem této kombinované léčby. Jen nemocní s dobrou odpovědí na chemoterapii jsou vhodnými kandidáty chirurgické léčby (16, 21). Nejpriznivější výsledky jsou pozorovány u nemocných s postižením pouze jedné uzliny či jedné stanice při nitrouzlinovém postižení. Postižení více lymfatických stanic signalizuje horší prognózu než u postižení jedné stanice, redukující přežívání nemocných až o 50 % (25). Nálezy uzlin s nádorovým šířením přes jejich pouzdro je všeobecně považován za nevhodný či kontraindikovaný pro chirurgickou léčbu a reprezentuje tak další podskupinu N2 stupně onemocnění. Řada studií prokázala význam indukční chemoterapie s ohledem na zvýšení resekalibility, tak i pětiletého přežívání u N2 stupně onemocnění (7). Nálezy N2 stupně onemocnění by rozhodně neměl znamenat kontraindikaci k operaci (14, 35). Je třeba poznamenat, že jen přibližně polovina zvětšených uzlin na CT znamenala ve skutečnosti jejich pozitivitu. Naopak malé (nezvětšené) lymfatické uzliny mohou obsahovat významná metastatická depozita, o čemž se opakovaně přesvědčujeme u adenokarcinomů.

Co vlastně znamená výraz zvětšená lymfatická uzlina?

Podle některých autorů je to 15mm, dle jiných 20mm v dlouhé ose, podle dalších více než 10mm v krátké ose. Zvětšená lymfatická uzlina není synonymem pro její metastatické postižení, ale indikací pro videomediastinoskopické ověření. Jiná je situace, jedná-li se o extranodální šíření metastatického procesu. Mediastinoskopickému a CT stagingu paratracheálních, mediastinálních a peribronchiálních uzlin v posledních letech úspěšně konkuruje endobronchiální ultrasonografie (EBUS) ve spojení s transbronchiální aspirační cytologií uzlin (UST-BNA) - (1, 27).

Pro dělení nemocných s N2 stupněm onemocnění existuje celá řada doporučení. Shields doporučuje dělit nemocné do dvou nesusoudných kategorií (34):

- A) Nemocní s klinicky evidentní nemocí
- B) S průkazem závažnosti nemoci až při využití invazivních metod

Každá z těchto kategorií může být dále členěna do 2 podskupin (celkem 4):

I) Symptomatický N2 stupeň onemocnění

Je možno pozorovat syndrom horní duté žíly, chrapot při parese nervus laryngeus recurrens, dysfagia, dyspnoe, postižení nervus phrenicus, často je přítomen maligní pleurální výpotek a vzdálené metastázy. Tato skupina představuje velmi pokročilé, již neresekovatelné onemocnění. Dvě třetiny nemocných s tímto nálezem zemírá do šesti měsíců.

II) Nález velkých, klinicky evidentních, ale asymptomatických mediastinálních lymfatických uzlin detekovaných rentgenologicky. U většiny nemocných se jedná již o neresekovatelné onemocnění. I když je onemocnění kompletně resekováno, prognóza je velmi nepříznivá. Pětileté přežívání je pozorováno cca u 9 % nemocných.

III) Pacienti bez zřetelného postižení mediastina na CT vyšetření, ale s N2 stupněm objeveným při předoperační mediastinální exploraci. Nemocní této skupiny jsou potenciálními kandidáty chirurgické léčby. Představují 10 - 20 % nemocných s N2 stupněm onemocnění. Při exploraci mediastina jsou nalezeny uzliny s intaktním pouzdrem, maximálně postižená jediná uzlina.

IV) Nemocní s nepoznanou formou N2 stupně onemocnění (latentní či okultní forma) u tumorů T1 - 2. Všichni jsou kandidáty na kompletní resekci a rovněž mají nejdelší přežívání ve srovnání s nemocnými předchozích skupin.

Nemocní, kteří měli předoperačně prokázané postižení mediastinálních uzlin, vykazovali nízký počet kompletních resekcí a 5-leté přežívání se pohybovalo okolo 9 % (před zavedením neoadjuvance). To je důvod, proč je biopsie mediastinálních uzlin vyžadována v řadě světových torakochirurgických center. Jiná je situace u nemocných, je-li průkaz postižení uzlin prokázán peroperačně. Magdeleinat a spol. nenalezli rozdíl v přežívání u nemocných s N1 stupněm versus N2 stupněm onemocnění (20). Tyto výsledky jsou v kontrastu s výsledky Maggiho a spol., kteří prokázali překvapující statisticky významný rozdíl v 5letém přežívání mezi skupinou N1 (46,1 %) a skupinou N2 (23,1 %). Nejčastěji postiženým místem lymfatických uzlin na straně pravé byla pozorována stanice č. 4, vlevo pak stanice č. 5 a 6.

Ad: 3. Možnost resekability lokálně pokročilých nádorů

Nemocní s lokálně pokročilým onemocněním, kde připadá v úvahu chirurgická léčba, jsou hodnoceni vždy individuálně multidisciplinární komisí. Již předoperačně vylučuje resekabilitu pozitivní cytologický nález v pleurálním výpotku. Předoperačně či peroperačně pak široké prorůstání do mediastina, s postižením n.phrenicus, n. laryngeus recurrens, s prorůstáním do perikardu, srdce, velkých cév, průdušnice, jícnu, extenzivní prorůstání do hrudní stěny, hrudních obratlů. Jedním z dalších důvodů je vytvořený syndrom horní duté žíly. Postižení bránice se vyskytuje asi u 0,5 % nemocných s lokálně pokročilým plicním tumorem (32).

Existuje standardní léčebný postup pro lokálně pokročilý nemalobuněčný plicní nádor?

Jestliže stadium IIIA je považováno za technicky potenciálně resekabilní, pak stadium IIIB již za neresekabilní. Neoadjuvantní léčba zvyšuje resekabilitu (3). Lokálně pokročilé tumory (st.IIIA, IIIB) reprezentují přibližně 30% všech NSCLC a mají špatnou prognózu. Všeobecně je vyžadována potřeba nových randomizovaných studií.

Stadium II B

V tomto stádiu nás zajímá především varianta T3 N0. Přibližně 5 - 8% plicních tumorů se lokálně šíří skrze parietální pleuru a infiltruje hrudní stěnu. Provádí se „en bloc“ resekce hrudní stěny s plicním parenchymem. Náhrada hrudní stěny je odvislá od rozsahu resekce a lokalizace defektu. Je-li defekt hrudní stěny menší než 5cm není vyžadována nutnost rekonstrukce. U větších defektů se k rekonstrukci používá jak protetického materiálu - speciální sítky buď samotné (Prolen mesh

či 2mm PTFE sítky Gore-tex) nebo speciálně upravené marle-xové sítky s methyl metakrylátem (tzv. „sandwich technique“), tak i svalových přesunů. Posuny svalových laloků jsou obvykle z m. serratus anterior, pectoralis major, latissimus dorsi a příležitostně z m. rectus abdominis. Výsledky resekce hrudní stěny jsou velmi dobré. Dlouhodobé přežívání po operacích pro plicní karcinom postihující hrudní stěnu je spojeno spíše se stavem postižení lymfatických utlin a kompletností resekce, než s hloubkou a rozsahem postižení hrudní stěny. Downey a spol. udávají 5-leté přežívání po R0 resekcí následující: T3N0M0 - 49%, T3N1M0 - 27%, T3N2M0 - 15 % (9). Rovněž se úspěšně provádí resekce Pancoastova tumoru (superior sulcus tumor) po předchozí radioterapii. Při postižení bránice se doporučuje en-bloc resekce bránice s tumorem. Doporučuje se široká bezpečnostní zóna přibližně 5cm. Není-li možná primární rekonstrukce používá se protetického materiálu.

Stadium III A (T3 N1, T1-3 N2)

Nemocní ve stadiu IIIA tvoří velmi heterogenní skupinu. Mountain označuje stadium IIIA za potenciálně resekabilní (27). Pro diagnostickou exploraci mediastina připadají v úvahu mediastinoskopie, torakoskopie a mediastinotomie. U invazivních vyšetřovacích technik hodnotíme jejich diagnostickou výtěžnost, procento komplikací a cenu vyšetření. Mediastinoskopie (nověji videomediastinoskopie) a torakoskopie (nověji videotorakoskopie) nejsou konkurenčními, ale navzájem se doplňujícími metodami. Videomediastinoskopie představuje nesporně důležitou součást vyhodnocení dostupných lymfatických uzlin mediastina a je velmi ceněna pro vysokou prognostickou hodnotu (6). Nemá totiž falešně pozitivních výsledků a počet falešně negativních by neměl přesahovat 10% (35). Při tomto vyšetření se zaměřujeme na uzliny stanice 2 (paratracheální horní), 3 (pretracheální), 4 (tracheobronchiální), 7 (subkariální). Tato metoda je jednoduchá při jemném a pečlivém provedení. Pacienta obvykle propouštíme do domácího léčení po 24 - 48 hodinách (6). Na některých pracovištích v zahraničí je prováděna videomediastinoskopie dokonce ambulantně. Na některých pracovištích představuje mediastinoskopie rutinní předoperační vyšetření. Uzliny aortálního okénka a preaortální uzliny jsou nejlépe přístupné torakoskopicky. Možný je, ale i přístup z rozšířené krční mediastinoskopie. Jednoznačně zastáváme konsensus torakochirurgických - onkologických center k absolutní indikaci k mediastinoskopii (8):

1. uzliny větší než 1cm v krátké ose
2. vyhodnocení před neoadjuvantní terapií
3. adenokarcinom či nediferencovaný karcinom s nevětšními uzlinami

N2 stupeň onemocnění ve skupině epidermoidního karcinomu vykazuje signifikantně lepší prognózu než ve skupině non-epidermoidní (4). Infiltrace mediastinální pleury či perikardu je nepříznivým prognostickým faktorem. Tumor jakékoliv velikosti postihující viscerální pleuru je označován jako T2. Japan Lung Cancer Society klasifikuje postižení pleury do 4 skupin s označením p0 až p3. Postižení viscerální pleury je častěji spojeno s výskytem N2 stupněm onemocnění než s výskytem N0 či N1 (22). Vzhledem ke N2 stupni onemocnění je léčba a výběr kritérií pro agresivní chirurgickou léčbu stále kontroverzní (4, 13). Samotná chirurgická léčba je nedostatečná. Kirm se spolupracovníky prokázali příznivý vliv neoadjuvantní léčby na snížení stadia (downstaging) během operace u 41% nemocných (15). Zatímco někteří autoři považují chemoterapii za rizikový faktor, jiní nepozorovali vyšší pooperační morbiditu (10, 37). Pass se spolupracovníky pozorovali po neoadjuvantní chemoterapii nejen vyšší resekabilitu, ale i delší přežívání nemocných (28). Za prediktivní faktory resekability považují pouze histologický typ nádoru (ne věk, pohlaví, LDH, CEA, ztrátu hmotnosti, předoperační ozáření). Zatímco squamózní typ nádoru byl resekován až v 90% procentech, ostatní jen v 67 %. Řada autorů považuje za nepříznivé faktory u N2 stupně onemocnění následující parametry:

- a) Kombinace vysokého T stupně a extranodálního šíření
- b) Klinické známky N2 stupně onemocnění (paresa rekurentu vlevo apod.)
- c) Levostranný tumor v kombinaci s metastázami v subkariálních uzlinách
- d) Mnohočetné postižení uzlin v různých lymfatických skupinách (4, 24, 39)

Chirurgický zákrok by neměl být prováděn u extenzivní formy N2 stupně onemocnění (T3 N2) nebo u non-epidermoidní skupiny N2 tumorů (4). Pětileté přežívání při postižení jedné stanice je 24,5 %, u mnohočetného postižení 17,7 % (21). U T3 lézí byla pozorována místa mediastinální infiltrace zejména kolem plicních cév, perikardu a mediastinální pleura a tukové tkáně. Postižení jedné mediastinální struktury u T3 pozoroval Martini (94) ve 2/3 případů (23). U T4 byla mediastinální infiltrace postižena zejména aorta na straně levé a horní dutá žíla na straně pravé. Rozsah mediastinálního postižení předurčuje resekabilitu. Zatímco u T3 byla možná kompletní resekce v 66% případů, pak u T4 jen v 18 % případů.

Stadium III B

U forem (T4 N0-1) se objevují v poslední době zprávy (spíše však formou kasuistik) o úspěšné chirurgické léčbě. Centrálně lokalizované léze T4 jsou často technicky neresekabilní (30, 31). Symptomy a prognóza T4 závisí na oblasti postižení a stupni invaze - průdušnice, jícen, obratle, horní dutá žíla (VCS), aorta, levá plicní tepna (2, 11). Oblast postižení, stupeň invaze a postižení mediastinálních lymfatických uzlin jsou limitujícími faktory chirurgického řešení. Pětileté přežívání nemocných ve stadiu IIIB je udávána kolem 5%. Klepetko se spolupracovníky referují o 7 úspěšně operovaných nemocných s T4 infiltrující hrudní aortu (17). Fukuse s kolektivem referují o úspěšné chirurgické léčbě nemocných, u kterých byla 13x postižena aorta, 2x podklíčková tepna, 11x VCS, 14x levá plicní tepna. Pacienti měli relativně dlouhé přežívání a to pravděpodobně z důvodů intaktní vnitřní vrstvy cév. Při postižení v celé tloušťce cév hrozí nebezpečí založení vzdálených metastáz. Letalita byla v této skupině velmi nízká (4,8 %). Spaggiari a Pastorino popisují kombinovaný operační postup - rukávová resekce průdušnice s resekci horní duté žíly. Autoři sami uvádějí, že výkon je spojen s nejistým onkologickým benefitem (38). Tyto extenzivní resekce pro nemalobuněčný plicní karcinom jsou prováděny

jen velmi zřídka a stejně příležitostně je o těchto operacích referováno v odborné literatuře. V odborné literatuře existují vyjma kasuistik jen tři práce ve kterých je referováno o využití tohoto postupu u více než tří nemocných (Spaggiari 4, Dartevelle 6, Tsuchiya 12). Po technické stránce při minimálním postižení stěny VCS je možná tangenciální resekce, avšak při postižení více než třetiny obvodu VCS je nutná její resekce s náhradou protézou, obvykle PTFE. Spaggiari popisuje vysokou pooperační morbiditu (až 50%), ale nulovou pooperační letalitu. Tyto operace byly prováděny pouze u nemocných stádia T4 N0. Chirurgická léčba plicního karcinomu postihujícího aortální okénko je velmi problematická. Téměř vždy je postižen n. laryngeus recurrens. Vždy je doporučeno provedení plicní angiografie. Podle Saitoha je limitujícím faktorem jeden centimetr intaktní proximální části levé plicní arterie. Saitoha operoval tímto způsobem 11 nemocných (33). U všech využito kardiopulmonálního bypassu. Jako operačního přístupu bylo použito u všech kombinace sternotomie a anteroaxilární torakotomie. Všichni nemocní předoperačně podstoupili neoadjuvantní léčbu (Cis-Platina), která zvýšila resekabilitu u těchto pokročilých forem. Ve všech případech byla provedena mediastinoskopie, která je považována za zásadní stagingovou metodu určující optimální terapeutický postup (38). Extenzivní resekce s sebou přináší vysokou morbiditu a letalitu. Obzvláště je tedy nutná pečlivá exaktní selekce pacientů vhodných k tomuto zákroku. Před vlastní chirurgickou léčbou doporučují Martini se spolupracovníky u tumorů postihující velké mediastinální struktury, ale i periferní tumory infiltrující hrudní stěnu indukční chemoterapii či chemoradioterapii (23). U těchto nemocných je nutné pomocí mediastinoskopie vyloučit nemocné s N2 stupněm onemocnění. Všeobecně však stále platí, že stádia IIIB a IV nejsou indikovány k chirurgické léčbě.

Závěr

Smyslem a zásadou každé operace musí být benefit pro pacienta. Operace by neměla mít negativní vliv na následnou kvalitu života. Komplexní zvládnutí celé problematiky je možné pouze na bázi intenzivní multidisciplinární spolupráce při využití nejnovějších vědeckých poznatků.

Poděkování: Práce vznikla za podpory grantu IGA MZ ČR ND/6582-3 a ND/6161-3.

Literatura

1. Becker HD, Messerschmidt E, Schindelbeck F, Ott S. Endobronchial Ultrasound a new dimension in bronchology. *Med Thor* 1997, 50, 145-159
2. Benej R, Profant K, Kálog J, Horák M. Rekonstrukcia trachey - jej súčasné možnosti v našich podmínkach. *Head and Neck Diseases*, 1992, 3-4, 25-27
3. Buccheri, G. Is there a standard treatment for locally advanced non-small cell lung cancer? *Chest* 109, 1996, 4, 864-6
4. Cangemi V, Volpino P., D'Andrea A, Chiarotti F, Tomassini R, Piat G. Results of surgical treatment of stage IIIA non-small cell lung cancer. *Eur J Cardiothor Surg*, 1995, 9, 352-9
5. Cotton RE. The bronchial spread of lung cancer. *Br J Dis Chest* 1959, 53, 142-50
6. Čapov, I., Wechsler, J., Jedlička V., Spurný, V.: Systematická mediastinální lymfadenektomie. Edice kontinuálního vzdělávání v medicíně. I. Vydání. Masarykova univerzita Brno, 2000, 92 stran.
7. De Leyen P, Vansteenkiste J, Cuypers P, Deneffe G, Van Raemdonck D, Coosemans W, Verschakelen J, Lerut T. Role of cervical mediastinoscopy in staging of non-small cell lung cancer without enlarged mediastinal lymph nodes on CT scan. *Eur J Cardio-thor Surg* 1997, 12, 706-12.
8. Dienemann H, Trainer C, Hoffmann H, Bülzbruck H, Muley T, Kayser K, Vogt-Moykopf I. Inkomplette Resektionen bei Bronchialcarcinom: morbidität und prognose. *Chirurg* 1997, 68, 1014-9
9. Downey RJ, Martini A, Rusch VW, Bains MS, Korst RJ, Ginsberg RJ. Extent of chest wall invasion and survival in patients with lung cancer. *Ann Thorac Surg* 1999, 68, 188-93.
10. Fowler WC, Langer JC, Curran WJ, Keller SM. Postoperative complications after combined neoadjuvant treatment of lung cancer. *Ann Thorac Surg* 1993, 55, 986-9
11. Fukuse T, Wada H, Hitomi S. Extended operation for non-small cell lung cancer invading great vessels and left atrium. *Eur J Cardio-thor Surg* 1997, 11 664-9.
12. Ghiribelli C, Voltolini L, Paladini P, Luzzi L, Di Bisceglie M, Gotti G. Treatment and survival after lung resection for non-small cell lung cancer in patients with microscopic residual disease at the bronchial stump. *Eur J Cardiothor Surg* 1999, 16, 555-9
13. Goldstraw P, Mannam G, Kaplan D, Michail P. Surgical management of non-small cell lung cancer with ipsilateral mediastinal metastases (N2 disease). *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994, 107, 19-28
14. Jedlička V, Čapov I, Peštál A. Postavení chirurgie ve stadiu a terapii pokročilého nemalobuněčného plicního karcinomu. *Klin Onkol* 1999, 12, 5-12
15. Kim, DH., Lynch, TJ., Mentzer, SJ., Lee, TH., Strauss, GM., Elias, AD., Skarin, AT., Sugarbaker, DJ.: Multimodality therapy of patients with stage IIIA, N2 non-small-cell lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993, 106, 696-702.
16. Klein J, Bohanes T, Tichý T, Král V, Kolek V, Neoral Č, Aujeský R, Grygárková I. Odhad metastatického potenciálu plicního karcinomu. *Rozhř.* *Chir* 2000, 79, 10, 460-3
17. Klepetko, W., Wissler, W., Birsan T., Mares P., Taghavi, S., Kupilik, N., Wolner, E.: T4 Lung tumors with infiltration of the thoracic aorta: is an operation reasonable? *Ann Thorac Surg* 1999, 67, 340-4
18. Lacasse Y, Bucher HC, Wong E, Griffith L, Walter S, Ginsberg RJ, Guyatt GH. „Incomplete resection“ in non-small cell lung cancer: need for a new definition. *Ann Thorac Surg* 1998, 65, 220-6
19. Liewald F, Hatz R, Dienemann H, Sunder-Plassmann L. Importance of microscopic residual disease at the bronchial margin after resection for non-small-cell carcinoma of the lung. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992, 140, 408
20. Magdeleinat, P., Alifano, M., Benbrahim, C., Spaggiari, L., Porrello, C., Puyo, P.: Surgical treatment of lung cancer invading the chest wall: results and prognostic factors. *Ann Thorac Surg* 2001, 71, 1094-9.
21. Maggi G, Casadio C, Mancuso M, Oliaro A, Cianci R, Ruffini E. Resection and radical lymphadenectomy for lung cancer: prognostic significance of lymphatic metastases. *Int Surg* 1990, 75, 17-21

22. Manac_h D, Riquet M, Medioni J, Le Pimpec-Barthes F, Dujon A, Danel C. Visceral pleura invasion by non-small cell lung cancer: an underrated bad prognostic factor. *Ann Thorac Surg* 2001, 71, 1088-93
23. Martini A, Ginsberg R. Surgical approach to non-small cell lung cancer stage IIIA. *Hematol Oncol Clin North Am* 1990, 4, 1121-1131
24. Martini A, Yellin A, Ginsberg R, Bains MS, Burt ME, McCormack PM, Rusch VW. Management of non-small cell lung cancer with direct mediastinal involvement. *Ann Thorac Surg* 1994, 58, 1447-51
25. Mathisen DJ, Wain JC, Wright C, Choi A, Carey R, Hilgenberg A, Grossbard M, Lynch T, Grillo H. Assessment of preoperative accelerated radiotherapy and chemotherapy in stage IIIA (N2) non-small cell lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996, 111, 123-33
26. Mountain CF. Expanded possibilities for surgical treatment of lung cancer. Survival in stage IIIa disease. *Chest* 1990, 97, 1045-51
27. Orens JB, Dally B, Britt EJ. Endobronchial ultrasound via the fiberoptic bronchoscope. *Semin Respir Critic Care Med* 1997, 18, 6, 593-601
28. Pass HI, Pogrebnik HW, Steinberg SM, Mulshine J, Minna J. Randomized trial of neoadjuvant therapy for lung cancer: interim analysis. *Ann Thorac Surg* 1992, 53, 992-8
29. Pastorino U. Benefits of neoadjuvant chemotherapy in NSCLC. *Chest* 1996, 109 (supl 5), 96S-101S
30. Rendina EA, Venuta F, De Giacomo T, Ciccone AM, Ruvolo G, Coloni GF, Ricci C. Induction chemotherapy for T4 centrally located non-small cell lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1999, 117, 225-33
31. Rendina EA, Venuta F, De Giacomo T, Ciccone AM, Moretti M, Ruvolo G, Coloni GF. Sleeve resection and prosthetic reconstruction of the pulmonary artery for lung cancer. *Ann Thorac Surg* 1999, 68, 995-1002
32. Rocco G, Rendina e, Meroni A, Venuta F, Della Pona C, De Giacomo T. and oth.: Prognostic factors after surgical treatment of lung cancer invading the diaphragm. *Ann Thorac Surg* 1999, 68, 2065-8
33. Saitoh Y, Minami K, Tokunou M, Omiya H, Umamoto M, Imamura H, Yonezu S, Okamura A. Results of surgery for bronchogenic carcinoma located in the aortic window. *Lung cancer* 1997, 18, 47-56
34. Shields TW. The significance of ipsilateral mediastinal lymph node metastasis (N2 disease) in non-small cell carcinoma of the lung: a commentary. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1990, 99, 48-53.
35. Schirren J, Richter W, Schneider P und Vogt-Moykopf I. Grundlagen und Ergebnisse der systematischen Lymphknotendissektion beim operierten Bronchialcarcinom. *Chirurg* 1996, 67, 869, 876
36. Schütznér J, Pafko P, Stolz A. Rakovina plic - zlepšila se operabilita a prognóza? *Praktický lékař* 2000, 80, 9, 533-4.
37. Siegenthaler M, Pisters K, Merriman K, Roth J, Swisher S, Walsh G. Vaporician A, Smythe W, Putnam JJ. Preoperative chemotherapy for lung cancer does not increase surgical morbidity. *Ann Thorac Surg* 2001, 71, 1105-1112
38. Spaggiari, L., Pastorino, U.: Combined tracheal sleeve and superior vena cava resections for non-small cell lung cancer. *Ann Thorac Surg* 2000, 70, 1172-5.
39. Watanabe Y, Shimizu J, Oda M, Hayashi Y, Watanabe S, Iwa T. Results of surgical treatment in patients with IIIA non-small cell lung cancer. *Thorac Cardiovasc Surg* 1991, 39, 44-49

knihy

ONCOLOGIC EMERGENCIES

JOHNSTON, P. G., SPENCE, R. A. J. (Eds.)
Oxford University Press, Oxford 2002
368 str., 94 obr., 93 tab., ISBN 0-19-850867-0, cena GBP 29,15

Autoři této zajímavé knihy, onkologové z Belfastu, sestavili s 31 příspěvovateli tuto aktuální knihu, v níž popisují akutní stavy v onkologii, jejich kliniku, diagnostiku a léčbu. Látku rozčlenili do 16 kapitol podle orgánového postižení.

Kardiovaskulární akutní stavy jsou u karcinomatiků běžné, nejčastěji jde o perikardiální výpotek, dále o kardiomyopatii vedoucí k srdečnímu selhání. Změny se mohou vyskytnout po operaci, po ozařování a nejčastěji po chemoterapii, jež může vyvolat anginózní bolesti, arytmií a náhlou smrt. Radiace může způsobit řadu patologických obrazů, onemocnění perikardu nebo infarkt myokardu. Častým nežádoucím účinkem je tromboembolizace s případným syndromem horní duté žíly.

Neurologické komplikace se nacházejí hlavně u dlouhodobě nemocných: známky komprese a rozsev ložisek v mozku, míše, plénách a v periferních nervech. Relativně častá je komprese míchy tumorem, zvýšení nitrolebečního tlaku, krvácení, infarkt mozku a metastázy v CNS. Metastázy v mozku pocházejí nejčastěji z plic, prsu a melanomu, dále se vyskytují u leukémie a lymfomů. Výrazně mohou být porušeny oči a optický nerv. Další kapitolu tvoří metabolické patologické stavy, a to hyperkalcemie, hyponatremie, hypokalémie a hypomagneziémie, do této skupiny se řadí také paraneoplastické syndromy. Akutní respirační stavy u nemocných s malignitami, pneumonie, plicní embolizace, krvácení, jsou časté. Šířeji je diskutována otázka a význam dyspnoe.

Urologické akutní stavy jsou rovněž časté, většinou jde o infekci močového traktu, o obstrukci a retenci moči. Gastrointestinální akutní stavy představují obstipaci, diareu, obstrukci, nauzeu a vomitus. Zvláště cisplatina a karboplatina jsou výrazně emetogenní. Hepatické, biliární a pankreatické akutní stavy tvoří hlavně maligní ikterus nebo ascites, vzácnější komplikace vznikají po transplantaci kostní dřeně jako projevy rejekce. Dosti místa je věnováno portální hypertenzi, varixům jícnu a akutní pankreatitidě. Z akutních komplikací skeletu se uplatňují metastázy a fraktury, probrány jsou hlavně patologické zlomeniny a jejich ošetření.

Psychiatrické komplikace jsou odvozeny od základní choroby, k nim přistupují osobní krize, anxiózy a deprese. Autoři rozvíjejí rovněž diskusi o suicidiích. Onkologické komplikace u dětí jsou velmi podobné komplikacím u dospělých pacientů. Akutní stavy mohou vyvolat interkurentní infekce. Z hematologických komplikací je podrobně rozebírána trombocytopenie. Z dermatologických stavů akutního charakteru mají význam hlavně paraneoplastické fenomény. Akutní stavy po ozařování ustoupily do pozadí, radioterapie je přesněji cílená a kombinuje se s chemoterapií. Výtčet komplikací je doplněn seznamem preparátů, které jsou zařazeny do léčebného arzenálu ve Velké Británii a USA. Adresa nakladatelství: Oxford University Press, Great Clarendon Street, Oxford OX2 6DP, United Kingdom. V. R., V. H.

COGNITIVE BEHAVIOUR THERAPY FOR PEOPLE WITH CANCER, SECOND EDITION

MOOREY, S., GREER, S.
Oxford University Press, Oxford 2002
232 s., 8 obr., 20 tab., ISBN 0-19-850866-2, cena 24,95 GBP

První část této knihy dvou anglických psychiatrů z pracovišť v Oxfordu se zabývá některými důležitými klinickými, teoretickými a empirickými aspekty psychologie. Shrnují se pocity pacientů, kteří se dovídají o svém onemocnění; někteří se přenesou i přes nejobtížnější fáze choroby, jiní trpí pocitem opuštěnosti, bezmocnosti i anxiózitou. Autoři rozvinují adjuvantní psychologickou terapii (APT) – program kognitivní behaviorální terapie určený pro pacienty s malignitami. Od abstrakcí přecházejí ke specifickým otázkám a odpovědím, které mohou být použity během léčby. Autoři diskutují o kognitivních základech deprese, anxiety a fatalismu a emočních mechanismech. Kladně se odpovídá na otázku, zda kognitivní terapie zlepšuje kvalitu života. Je zkoumána otázka, zda psychoterapie může ovlivnit u pacienta dobu přežití a odkazuje na publikované práce, které prodloužení života prokázaly.

Druhá část knihy je v podstatě podrobným návodem na APT. Autoři se pokouší určit místo psychologické léčby v onkologii; poukazuje se na to, že lékaři a sestry pracující v tomto oboru by měli zvládnout dovednosti komunikace s nemocnými a rozlišit psychologický distres a popřípadě předat pacienta do vhodné léčebné skupiny. Dále je podán přehled poruch, jež jsou pro psychoterapii vhodné, méně vhodné a zcela nevhodné. Jsou vytyčeny hlavní úkoly APT, které směřují k vývoji efektivních strategií boje s maligním nádorem – jsou probrány komponenty a techniky APT fáze terapie v celém průběhu choroby. Posuzují se zkušenosti vyjadřování emocí v APT se snahou o supresi negativních; emoce jsou spolu s kognitivní emocionálně spojeny. Pojednává se o emočním stresu pacienta a zvýšení jeho nízké adaptability, hledají se alternativy, jsou váženy výhody a nevýhody, dochází ke známým dekatastrofikace. Jsou probrány aplikace kognitivních technik, metody boje se strachem, s obavami z recidivy, s hněvem nemocného, který se cítí ukřivděn tím, že onemocněl. Zvláštní laskavý přístup musí být orientován vůči pacientům s pokročilou terminální nemocí. Porovnání individuální a skupinové psychoterapie ukazuje, že oba typy jsou stejně účinné. V závěru jsou základní poznatky a zkušenosti sestaveny v doplňcích, jež ukazují některá schemata a formuláře užívané v APT.

Zajímavá kniha je určena především pro psychoonkology, lékaře, sestry a pečovatele, kteří vedou své pacienty k aktivnímu přístupu při postižení maligním nádorovým procesem. Napomůže při konkrétním zvládnutí pacienta a poskytne množství rad jak pro pracovníky odpovídajících klinických disciplín, tak pro sociální pracovníky, pro pacienty a členy jejich rodin. Adresa nakladatelství: Oxford University Press, Great Clarendon Street, Oxford OX2 6DP, UK. V. R., V. H.

P53 HOMOLOGNÍ PROTEINY: JEDNA GENOVÁ RODINA - ROZDÍLNÉ FUNKCE? JEJICH EXPRESE JE ALTEROVÁNA PŘI PŘECHODU Z PREKANCERÓZY DO INVAZIVNÍHO SPINOCELULÁRNÍHO KARCINOMU

P53 HOMOLOGUES PROTEINS: ONE GENE FAMILY-DIFFERENT FUNCTIONS? THEIR EXPRESSION IS ALTERED DURING TRANSITION FROM DYSPLASIA INTO INVASIVE SPINOCELULAR CARCINOMA

REJTHAR, A.¹, NENUTIL, R.², ČEŠKOVÁ, P.³, MÍŠEK, I.³, BERÁNEK, M.³, VOJTĚŠEK, B.³

¹ I. PATOLOGICKO-ANATOMICKÝ ÚSTAV, FAKULTNÍ NEMOCNICE U SVATÉ ANNY, BRNO

² ÚSTAV PATOLOGIE, FAKULTNÍ NEMOCNICE BOHUNICE, BIOPTICKÁ STANICE PORODNICE, BRNO

³ ZÁKLADNA EXPERIMENTÁLNÍ ONKOLOGIE, MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV, BRNO

Souhrn: Východisko: Geny TP73 a TP63 kódují proteiny, jež jsou strukturální a funkční homology proteinu p53, aktivují podobně jako protein p53 rozdílné cílové promotory a mohou indukovat apoptózu nádorových buněk. K prokázání významu těchto proteinů při cervikální karcinogenezi je nutno provést imunohistochemickou analýzu exprese proteinů p73 a p63 a jejich izoform. **Soubor nemocných a metodika:** Imunohistochemická analýza exprese studovaných proteinů byla provedena na souboru 35 dysplazií, 10 karcinomů a 45 normálních tkání. K dané analýze bylo použito monoklonálních a polyklonálních protilátek rozlišujících jak některé cílové epitopy jednotlivých izoform tak epitopy sdílené více izoformami. **Výsledky:** Výsledky dosažené v dané studii prokázaly, že exprese C-terminální izoformy p73 α je v normální tkáni silně omezena a pouze výjimečně (malá část CIN III a sporadické spinocelulární karcinomy) se nachází mimo buňky, které jsou v kontaktu s bazální membránou, zatímco ostatní p73 izoformy jsou exprimovány velmi silně, pravděpodobně v souvislosti s proliferací aktivitou léze. Výsledky získané s protilátkou detekující všechny p63 izoformy ukazují vysokou expresi tohoto proteinu v souvislosti s proliferací aktivitou, bez jednoznačné souvislosti s morfologií léze. **Závěr:** Z námi získaných výsledků vyplývá nutnost analýzy exprese jednotlivých izoform proteinů p73 a p63, která je nezbytná k analýze jejich biologických funkcí a pochopení jejich úlohy na regulaci buněčného cyklu a především při regulaci buněčné diferenciaci a vztahu k bazální membráně u dlaždicového epitelu.

Klíčová slova: cervix, carcinoma, p73, p63,

Abstract: Background: The TP73 and TP63 genes, a structural and functional homologues of p53, activate various p53-responsive promoters and induce tumour cell apoptosis. To clarify the role of these proteins in cervical carcinogenesis, it is necessary to analyse p73 and p63 protein expression using immunohistochemistry. **Patients and methods:** We analysed expression of studied proteins on 35 dysplasia, 10 carcinoma and 45 normal tissues using monoclonal and polyclonal antibodies recognising either target epitope specific to one isoform or target epitope sheared with many isoforms. **Results:** Our results showed that expression of C-terminal isoform p73 α is very limited in normal tissue and only sporadically (small proportion of CIN III and random spinocellular carcinomas) can be found outside of cells that are in contact with basal membrane while the other p73 isoforms are expressed strongly in relation with proliferating activity of the tumour. Results obtained with the antibody recognising the p63 isoforms showed their aberrant expression in connection with proliferation but without any relation to the morphology of the lesion. **Conclusion:** Analysis of expression of different isoforms of p73 and p63 is necessary for understanding of their biological functions, their role in cell cycle and predominantly in the process of cell differentiation and linkage relation to basal membrane of squamous epithelium.

Key words: cervix, carcinoma, p73, p53

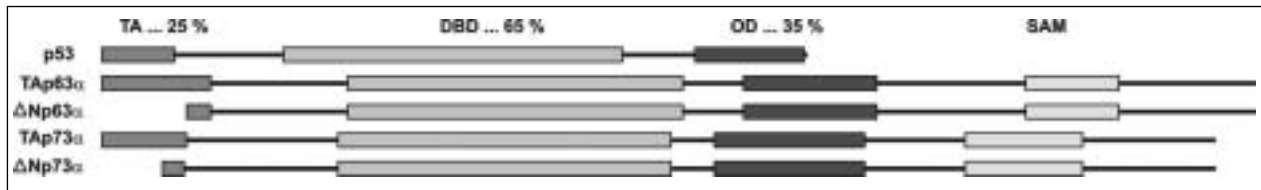
Teoretický úvod

Protein p53 je antionkogen nejčastěji podléhající genetickým změnám nalézáným v lidských nádorech (1, 2). Tento protein je znám jako transkripční faktor, který kontroluje silnou stresovou odpověď buněk integrací „upstream“ signálů vyvolaných různými typy poškození DNA a nevhodných onkogeních stimulů. Protein p53 může být indukován a stabilizován poškozením DNA (3), hypoxií (4), defekty mitotického vřetenka (5) popřípadě aktivací onkogenů nebo virů (6, 7). Aktivovaný protein p53 vyvolává apoptózu, zástavu buněčného cyklu a v některých případech dokonce senescenci (pro přehled (8, 9)). Cílem těchto aktivit proteinu p53 je ochrana organismu proti tvorbě nádorových onemocnění. Ztráta funkce proteinu p53 je

sledována u většiny typů lidských nádorů, což může být způsobeno přímo vznikem mutací v genu pro p53, to je nejčastější příčina inaktivace p53 (10), poškozením jaderného transportu proteinu p53 (11, 12), ztrátou aktivátoru p14ARF (13) nebo amplifikací proteinu MDM2, který je antagonistou proteinu p53 (14). Důležitost zachování funkční aktivity proteinu p53 jako transkripčního faktoru, a tím schopnosti jeho vazby na DNA, je podporována skutečností, že převážná většina mutací nalezených v genu pro p53 u rozličných lidských malignit buď částečně nebo zcela inaktivuje jeho DNA vazebnou aktivitu (15, 16). Tak jako všechny ostatní transkripční faktory, je protein p53 standardní molekula s konzervativní transkripčně aktivací doménou (TAD), DNA-vazebnou doménou (DVD) a oligo-

Obř. 1: Schematické srovnání struktury proteinů p53, p63 a p73.

Na obrázku jsou schematicky zobrazeny proteiny p53, p73 a p63 ve své proporcionální velikosti. Jsou vyznačeny jednotlivé strukturální domény proteinů a procenta strukturální identity mezi proteinem p53 a homology p73 a p63, je naznačen rozdíl mezi transkripčně aktivními a inaktivními isoformami.



merizační doménou (OD). Člověk i myš nesoucí zárodečné mutace se vyvíjejí normálně, ale vykazují vyšší náchylnost ke vzniku celé řady typů nádorových onemocnění (17, 18). Ztěžto poznatků lze konstatovat, že protein p53 není nezbytný pro normální vývoj organismu, ale má důležitou úlohu při kontrole genetické informace s cílem zabránit přenosu poškozené DNA na nově se tvořící buňky (19).

Vzhledem k tomu, že protein p53 má centrální úlohu v procesu karcinogeneze, byly prováděny rozsáhlé studie hledající homology tohoto proteinu, ale po dobu celých 20 let se nepodařilo tyto homology objevit. Teprve v roce 1997, byl nalezen gen TP73 kódující protein p73 (20) a v roce 1998 gen TP63 kódující protein p63 (21). Gen TP63 byl nalezen několika skupinami, což vedlo k jeho rozlišnému značení (KET, p51A, p51B, p40, p73L a NBP). Z důvodu velké strukturální podobnosti s proteinem p53 oba geny vyvolaly stabilní zájem mnoha laboratoří a to umožnilo získání velkého množství informací o jejich biologických funkcích. Za necelých pět let se podařilo pochopit jak podobnosti mezi p53 a jeho homology tak rovněž překvapivé rozdíly v jejich funkcích. Oba geny homologní s genem pro p53 kódují proteiny, které mají jak zcela nové funkce, odlišné od p53, tak funkce shodné s p53. Když byly tyto homology poprvé objeveny, byly považovány za antionkogenní krácející ve stopách proteinu p53 a podílející se na inhibici nádorové přeměny buněk a na kontrole buněčného cyklu. Tyto poznatky vycházely ze sekvenční homologie těchto proteinů s p53 a především ze shodnosti a zachování funkčních domén u různých organismů. Proteiny p73 a p63 se shodují s 60% aminokyselinových zbytků nalézáných v DNA vazebné oblasti (DVD) proteinu p53 včetně zachování všech DNA kontaktních a strukturálních sekvencí, které jsou nejčastějším místem mutací p53 u nádorů. Příkladem je dokonce zachování teplotně senzitivního zbytku Ala¹⁴³ ze sekvence p53 v sekvencích proteinů p63 a p73. Protein p73 navíc vykazuje 38% homologii s proteinem p53 v oblasti oligomerizační domény (OD) a 29% homologii v oblasti transaktivační domény (TA) (Obrázek 1.). Nezkrácená α forma obou proteinů se vyznačuje přítomností SAM domény, která je důležitá pro interakce s jinými proteiny a je o ní známo, že se vyskytuje u širokého spektra proteinů participujících na vývoji (22, 23).

Struktura genů TP73 a TP63 je mnohem komplexnější vzhledem k jednodušší struktuře genu p53. Lidský gen p53 má pouze jeden promotor kódující jeden protein tvořený 393 aminokyselinami. Tím se liší od genů TP63 a TP73, které využívají přepisů z alternativních promotorů a dávají tak vznik různým formám proteinů. Geny TP63 a TP73 mají dva promotory (P1, P2), které dávají vznik dvěma funkčně diametrálně odlišným proteinům označovaným TAp63, TAp73 (obsahující TA doménu; přepis z P1) a Δ Np63, Δ Np73 (TA doména je deletovaná; přepis z P2). TA proteiny mohou napodobovat transaktivační funkci proteinu p53 *in vitro* v buněčných liniích včetně transaktivační mnoha p53 cílových genů jako jsou p21^{WAF1}, Bax, Mdm2, Gadd45 a 14-3-3 σ (13, 20, 21, 24, 25). Tyto transkripčně aktivní varianty hrají důležitou úlohu rovněž při kontrole buněčného růstu (indukují zástavu růstu) a/nebo při indukci programované buněčné smrti. Δ Np63 a Δ Np73 formy se nacházejí jak u člověka tak u myši a vykazují negativní dominance vůči svým TA variantám a vůči p53 jak *in vivo* (v myším

modelu) tak v transfekovaných lidských buňkách a mohou tak inhibovat jejich antionkogenní funkci. Celá problematika homologů proteinu p53 je komplikována skutečností, že dochází ke vzniku C-koncových sestřihových variant proteinů p73 a p63 (nedochází k přepisu jednoho nebo několika exonů, případně dochází k alternativnímu přepisu). U proteinu p73 byly detekovány C-koncové isoformy p73a (nezkrácená isoforma), p73 β , p73 γ , p73 δ , p73 ϵ , p73 ξ , p73 κ a p73 η , u proteinu p63 to byly tři C-koncové isoformy p63 α (nezkrácená isoforma), p63 β a p63 γ (20, 21, 26, 27). Rozdílný sestřih v C-koncové oblasti dává tedy vznik celé řadě variant proteinů p63 a p73, čímž dochází k dalším regulacím funkcí TA a Δ N forem proteinů. Různé C-koncové isoformy proteinu p73 se liší v transaktivační aktivitě. Obecně se předpokládá a bylo ukázáno, že C-koncové deleční mutantní proteiny p73 α vykazují výrazně vyšší transaktivační schopnost než samotná p73a (28). Existují rovněž funkční rozdíly u obou forem TAp63 α a TAp73 α . Zatímco TAp73 α je velmi účinný v transaktivačních a apoptotických testech, TAp63 α velmi slabý (21). Rozdíly ve funkcích výše uváděných homologů nelze vysvětlit strukturální rozdílností a je nutno provést další strukturálně-funkční analýzy, které by objasnily jakým způsobem změny C-koncové oblasti mohou ovlivnit funkci. Obecně lze říci, že každá z isoform proteinů p73 a p63 kombinující různý N-koncový a C-koncový sestřih vykazují rozdílné transaktivační a protein-protein interakční schopnosti, a tak společně s proteinem p53 vytváří regulační síť, která může velice jemně reagovat na aktuální stav buňky. Gen TP73 se nachází na chromozomu 1p36.33, který podléhá časté ztrátě heterozygoty (LOH) u nádorů prsu, neuroblastomů a celé řady jiných lidských nádorů (20). Výše uváděná skutečnost spolu s funkční podobností p73 a p53 vedla k původnímu označení p73 jako antionkogenu (20). Výsledky genetických studií ukázaly, že p73 není klasický nádorový supresor Knudsonova typu což podle definice znamená, že u něj nedochází ke ztrátě jeho funkce během maligní přeměny buňky. Analýzou 909 primárních nádorů bylo detekováno pouze 5 bodových mutací (29, 30) z čehož dvě bodové mutace byly nalezeny u neuroblastomů (31) a po jedné bodové mutaci u karcinomu prsu (32), karcinomu plic (33) a CNS-nádorů (34). Tím bylo potvrzeno, že ke ztrátě funkce p73 nedochází vznikem mutací. Za epigenetické vysvětlení, které mělo naplnit dvoustupňovou hypotézu (v průběhu maligní přeměny bylo nutno jedním zásahem inaktivovat pomocí LOH pouze přepisovanou alelu) byl původně považován imprinting lokusu genu TP73. Ten je ale spíše neobvyklý, a pokud je přítomen, tak se jeho výskyt liší v různých tkáních, u různých jednotlivců, a v žádném případě nekoreluje s hladinou proteinu p73 (27, 35-37). Je rovněž známo, že v případech karcinomu plic, jícnu a ledvin je specificky aktivována druhá alela genu TP73 (ztráta imprintingu) (38-40). Protein p73 se rovněž liší od proteinu p53 tím, že není inaktivován virovými proteiny, které se běžně podílejí na inaktivaci proteinu p53 (SV40 T antigen, Ad E1B 55 kDa) (41, 42). Rozporný názor existuje u HPV E6, kde je zřejmé, že protein E6 není zodpovědný za degradaci proteinu p73 (43, 44), ale není už tak jasné, zda protein E6 jak vysoce rizikových tak nízkorizikových HPV kmenů může inaktivovat transkripčně aktivní funkci proteinu p73 (45, 46). Zajímavé výsledky byly

získány z celé řady laboratoří analyzujících expresi proteinu p73 z širokého spektra nádorů (nádory prsu, plic, jícnu, žaludku, tlustého střeva, vaječníku, močového měchýře atd.). Tyto potvrzují skutečnost, že nejčastěji identifikovatelná změna spojená s nádorem je zvýšená exprese proteinu p73 a nikoliv ztráta exprese. Tyto výsledky jasně podporují názor, že protein p73 hraje důležitou roli v procesu maligní přeměny buňky.

Lidský gen TP63 se nachází na chromozomu 3p v oblasti, která je často amplifikována u dlaždicobuněčného karcinomu. Limitované výsledky, analyzující výskyt inaktivujících mutací, potvrdily, že mutace nejsou hlavní příčinou inaktivace proteinu p63, ale že mnohem důležitější je zvýšená regulace dominantně negativních forem Δ Np63. Při analýze 47 karcinomů močového měchýře nebyla nalezena bodová mutace v genu TP63 (47). Pouze jediná bodová mutace (Ala148Pro) byla nalezena při analýze 66 různých typů karcinomů, dvě bodové mutace byly nalezeny v genu TP63 při analýze 35 nádorových buněčných linií (48). Některé případy karcinomu plic a dlaždicobuněčného karcinomu v oblasti hlavy a krku, vykazují zvýšenou expresi proteinu p63 spojenou s mírnou amplifikací genu TP63 (49).

V předkládané práci jsme shrnuli dosavadní poznatky o rodině strukturálně podobných proteinů p63, p73 a p53 a provedli jsme pilotní studii exprese proteinů p73 a p63 u spinocelulárních karcinomů a dysplazií děložního čípku.

Materiál a metody

Soubor pacientek

Do studie byl zařazen histopatologický parafinový materiál od 45 pacientek s CIN II/III a/nebo s invazivním karcinomem dlaždicových buněk děložního čípku. Studované vzorky byly získány z diagnostických excizi, konizátů, eventuálně z hysterektomií. Tkáňový materiál byl volen tak, aby obsahoval rovněž normální ektocervikální sliznici, která sloužila jako vnitřní kontrola. Histopatologická diagnóza zahrnovala CIN I (5), CIN II (5), CIN III (25), dlaždicobuněčný karcinom (9) a nediferencovaný karcinom (1). Tkáňový materiál byl fixován v neutrálním 4% formaldehydu a zalit do parafinu. Tkáňové řezy byly připraveny o tloušťce 4 μ m a fixovány na elektrostaticky nabitá skla (Superfrost Plus)

Imunohistochemická detekce proteinů p73 α a p63 α .

Rutině připravené vzorky v parafinových blocích byly nakrájeny a přeneseny na silanizovaná skla, řezy odparafinovány v xylenu a rehydratovány. Endogenní peroxidázová aktivita byla blokována po dobu 15 minut 3% roztokem H_2O_2 v PBS (fyziologický roztok pufrovaný fosfátem na pH 7,5). Odmaskování antigenních epitopů bylo provedeno následovně: (i) pro detekci p73 α proteinu povařením řezů po dobu 40 minut při 97 °C v roztoku 1mM EDTA-NaOH, pH 8,0; (ii) pro detekci p63 α proteinu zahřátím na teplotu 97 °C po dobu 40 minut v citrátovém pufru pH 6,0. Po promytí v PBS (3x5 minut) byly z důvodu zablokování nespecifické vazebné aktivity řezy převrstveny na dobu 15 minut roztokem 5% nízkotučného mléka v TBS (fyziologický roztok pufrovaný Tris na pH 7,6). Primární monoklonální protilátky a polyklonální protilátky byly aplikovány na řezy při teplotě 4 °C přes noc. Po trojnásobném promytí v PBS byla nanášena anti-myší resp. anti-králíčí sekundární protilátka značená biotinem a ABC reagentie (Vector Elite ABC kit, Vector) přesně dle návodu a doporučení dodavatelem. Peroxidázová aktivita byla vizualizována kitem DAB+ (Dako, Denmark). Po promytí v destilované vodě byly řezy dobarveny Gillovým hematoxylinem, dehydratovány, projasněny a zamontovány pro mikroskopické zhodnocení.

Monoclonal antibodies

p73 α -1.1 – monoklonální protilátka rozlišující C-koncovou oblast proteinu p73 α (sekvenci aminokyselin QDLKQGH-DYSTAQQ) (50).

p73-1.1 - monoklonální protilátka rozlišující všechny izoformy proteinu p73 (50)

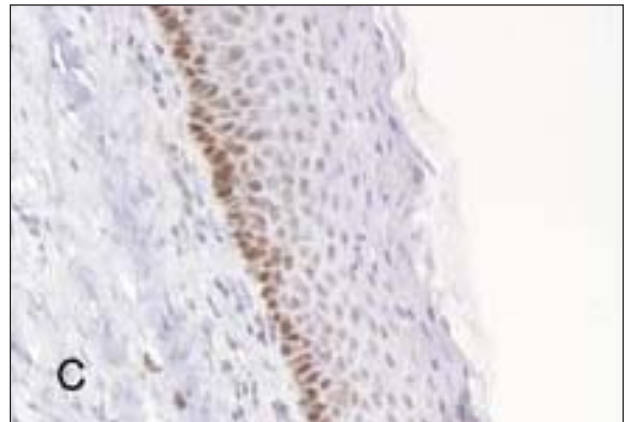
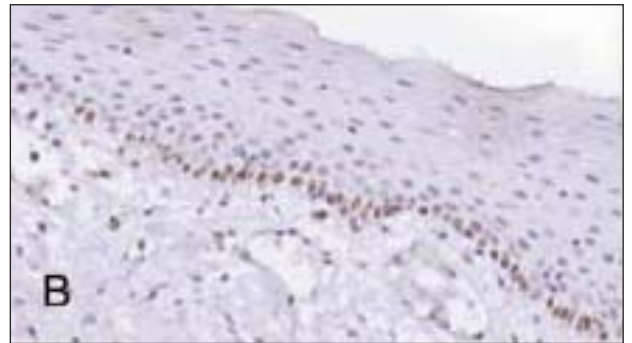
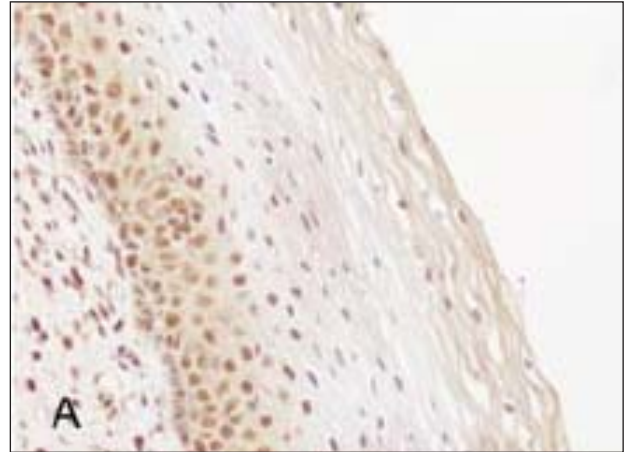
p63 - KN- α králíčí polyklonální protilátka připravená proti sekvenci aminokyselin DFNFDMDARRNKQQRIKEEGE (51)

Výsledky

Na souboru 45 pacientek se stanovenou diagnózou dlaždicobuněčný karcinom (9), nediferencovaný karcinom (1) a CIN I – CIN III (35), jsme provedli pilotní imunohistochemickou analýzu exprese proteinů p73 α a p63 pomocí námi připravených specifických protilátek. Normální ektocervikální epitel exprimuje protein p63 bazálně a suprabazálně až do 2/3 tloušťky, exprese je jaderná, přítomná rovněž ve stromatu (fibroblasty, endotel) - Obr. 2A. Exprese p73 α je rovněž jaderná, ome-

Obr. 2: Exprese p63 a p73 v normálním dlaždicovém epitelu.

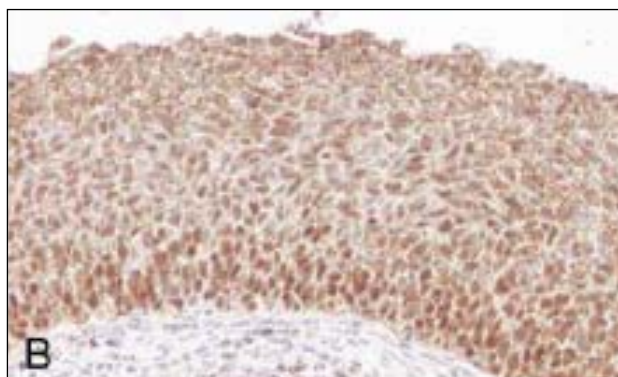
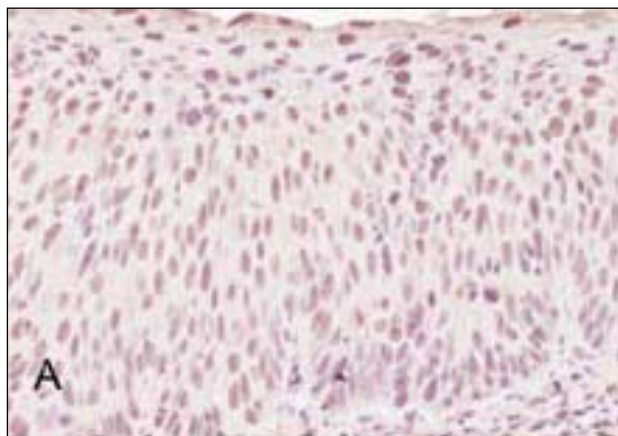
Barvení p63 je nejintenzivnější v parabazálních buňkách dlaždicového epitelu, je však pozitivní i část buněk bazálních a buňky intermediární vrstvy. Rovněž intenzivně se barví stromální buňky (2A). p73 α izoforma (2B) je exprimována pouze v bazální vrstvě dlaždicového epitelu. Barvení protilátkou proti všem izoformám p73 (2C) je ve srovnání s p73 α intenzivnější a vyskytuje se i v parabazálních buňkách.



žená na parabazální vrstvu dlaždicového epitelu (*obr. 2B*). Expresie všech izoform p73 (*obr. 2C*) je širší, jaderná i cytoplasmatická. V dysplastických lézích a nádorech jsme pozorovali konstantní vysokou expresi p63 (*obr. 3A*) a vysokou imunopozitivitu p73 stanovenou pomocí protilátky proti všem izoformám. (*obr. 3B*). Zajímavá je expresie p73 α : imunopozitivita v bazální vrstvě dlaždicového epitelu je zachována v CIN I-II, i v drtivé většině CIN III (32 z 35) - *obr. 4A, 4B*. Ve třech případech CIN III bylo pozorováno rozšíření exprese do parabazálních vrstev. V invazivních karcinomech byla naopak pozorována úplná ztráta exprese p73 α (5 z 10), případně heterogenní barvení s vymizením v části nádoru, a to zejména v oblastech s vysoce infiltrativním růstem (4 z 10) - *obr. 4C*. Pouze v jednom případě bylo u spinocelulárního karcinomu pozorováno dispersní barvení jader na p73 α mimo oblasti přiléhající ke stratumu, analogické expresi p63 nebo ostatních izoform p73.

Obr. 3: Expresie všech izoform p73 a p63 v CIN.

Jak p63 (3A), tak p73 (3B) vykazují v CIN i spinocelulárních karcinomech silnou, prakticky difúzní expresi.

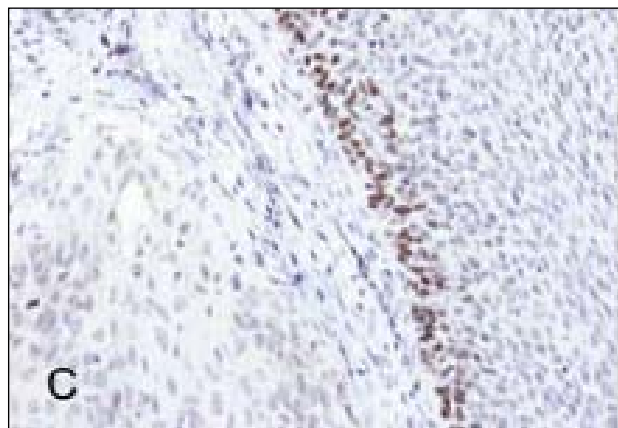
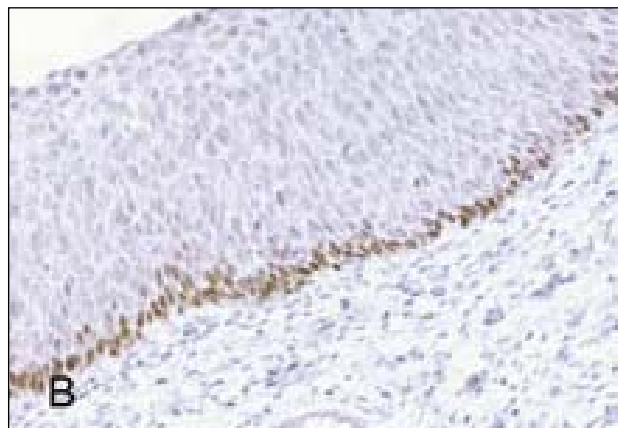
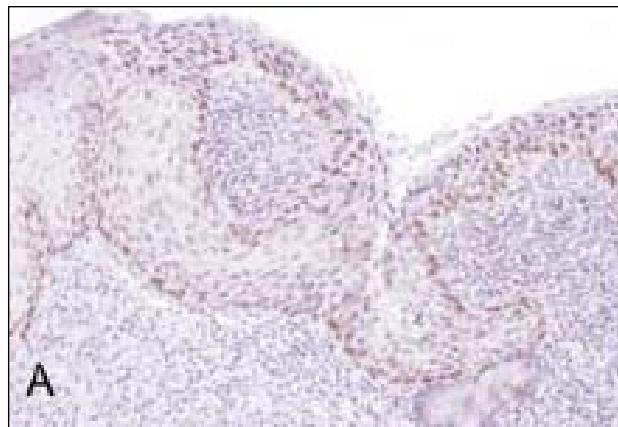


Diskuse

Protein p53 byl středem zájmu onkologického výzkumu od doby, kdy se podařilo prokázat, že ztráta a inaktivace tohoto proteinu přispívá k vývoji velkého množství lidských nádorů. Typickým mechanismem inaktivace proteinu p53 je vznik bodových mutací, z nichž většina se nachází v DNA vazebné doméně, cytoplasmatický výskyt tohoto proteinu a zvýšená expresie virových nebo buněčných proteinů, které mohou interagovat s proteinem p53 a inhibovat jeho funkci. Mnoho funkcí proteinu p53 je zprostředkováno jeho transkripční aktivitou, která může být indukována různými stresovými podmínkami, kdy dochází k akumulaci proteinu p53 především jeho stabilizací nebo posttranslačními modifikacemi C- a N-koncových domén tohoto proteinu. Otázkou času bylo objevení homologů tohoto supresorového proteinu, které by se projevovaly stejnou nebo alespoň obdobnou funkcí.

Obr. 4: Expresie p73a v CIN a spinocelulárním karcinomu.

Na přechodu normálního epitelu (4A vlevo) do CIN III (4A vpravo) je zřejmé, že topika exprese p73a je v CIN III překvapivě zachována. Typický nále v CIN III (4B) vynikne při srovnání s 3A, 3B. Invazivní spinocelulární karcinomy jsou většinou buď p73a negativní, nebo vykazují heterogenní expresi: 4C vlevo negativní část nádoru, 4C vpravo pozitivní část nádoru s typickou „bazální“ expresí.



V této práci jsou uvedeny výsledky analýzy exprese proteinů p73 a p63 homologů proteinu p53 na souboru 35 dysplazií, 10 karcinomů a 45 normálních tkání čípku děložního a provedena jejich vzájemná korelace včetně analýzy vztahu k maligní přeměně dané normální tkáně a analýze jednotlivých izoformem.

Aberantní expresie proteinů p73 a p63 byla detekována již dříve u 40% karcinomů močového měchýře (52), u karcinomů prsu (27), adenokarcinomů a karcinomů kolorekta (53), (54) a také u mnohočetného synchronního karcinomu žaludku. (55). Přestože bylo provedeno mnoho funkčních studií na různých buněčných liniích i nádorech, mechanismus zodpovědný za

tyto změny v expresi obou proteinů doposud nebyl vysvětlen. Situaci kolem analýzy homologů proteinu p53 komplikuje existence celé řady jak transkripčně aktivních tak transkripčně neaktivních izoforem vznikajících alternativními sestřihem. Tyto izoformy se vyznačují různými funkcemi a je překvapující, že většina doposud prováděných studií zabývajících se analýzou těchto homologů v normální a nádorové tkáni, ať již na úrovni proteinové nebo mRNA, nerozlišuje mezi expresí individuálních izoforem. S využitím námi připravených monoklonálních a polyklonálních protilátek, rozlišujících jak jednotlivé izoformy proteinů p73 a p63 tak více izoforem současně, jsme provedli analýzu exprese těchto proteinů v neoplastickém epitelu čípku. Naše výsledky ukázaly, že p73 α izofорма je exprimovaná v normální tkáni a není většinou exprimována ve tkáni nádorové zatímco zbývající izoformy proteinu p73 jsou exprimovány jak v normální tak nádorové tkáni, kde jejich exprese může být zachována nebo dokonce zvýšena. Exprese p73 α je zřejmě striktně topicky regulována a omezena na epitelové buňky přiléhající k bazální membráně. Tyto výsledky jsou v souladu s publikovanými pracemi, které z využitím jak RT-PCR tak imunohistochemické detekce u karcinomů prsu a nádorů orofaciální oblasti ukázaly, že p73 α izoforma se nachází převážně v normální tkáni a její exprese se snižuje u nádorů. Zbývající izoformy lze pak detekovat i ve tkáních nádorových (56), (57). Exprese proteinu p63 je na rozdíl od proteinu p73 topicky odlišná a širší - není vázána na epitelové buňky ani na sousedství s bazální membránou. Rovněž exprese ostatních izoforem p73 není topicky vázána a v dysplastických lézích, i nádorech se spíše zvyšuje.

Z námi dosažených výsledků tedy vyplývá, že exprese C-terminální izoformy p73 α (Δ Np73 α) je za normálních okolností silně topicky i tkáňově omezena a pouze výjimečně (malá část CIN III a sporadicky spinocelulární karcinomy) se ocitá mimo epitelové buňky, které jsou v kontaktu s bazální membránou. Ostatní p73 izoformy jsou exprimovány velmi silně, možná v souvislosti s proliferací aktivitou léze. Ztráta nebo topicky aberantní exprese p73a zřejmě odráží schopnost invaze epitelálních buněk, případně je způsobena změnou jejich vztahu k bazální membráně. Výsledky získané s protilátkou rozlišující p63 ukazují vysokou expresi tohoto proteinu v prekancerózách i nádorech, opět možná v souvislosti s proliferací aktivitou, bez jednoznačné souvislosti s morfologií léze. Zde ovšem nebyla zatím provedena podrobnější analýza pro jednotlivé izoformy.

Práce jednoznačně potvrzuje nutnost vývoje imunoreagencií schopných detekovat jednotlivé izoformy proteinů p73 a p63 a provedení analýzy jejich proteinové exprese na panelu normálních a nádorových tkání různého původu. Ztráta korelace mezi expresí proteinů p73 a p63 ukazuje na skutečnost, že tyto proteiny se nemohou vzájemně nahradit, pokud jeden z nich je inaktivován. Jejich biologické funkce jsou patrně velmi rozdílné a kromě podílu na regulaci buněčného cyklu patrně zahrnují i regulaci buněčné diference a vztahu k bazální membráně u dlaždicového epitelu.

Poděkování:

Práce byla podporována IGA MZ ČR číslo 6404-3.

Literatura

- Hollstein M., Shomer B., Greenblatt M., Soussi T., Hovig E., Montesano R. and Harris C. C.: Somatic point mutations in the p53 gene of human tumors and cell lines: updated compilation. *Nucleic Acids Res* 1996; 24(1):141-6.
- Hollstein M., Sidransky D., Vogelstein B. and Harris C. C.: p53 mutations in human cancers. *Science* 1991; 253(5015):49-53.
- Levine A. J.: p53, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell* 1997; 88(3):323-31.
- Graeber T. G., Osmanian C., Jacks T., Housman D. E., Koch C. J., Lowe S. W. and Giaccia A. J.: Hypoxia-mediated selection of cells with diminished apoptotic potential in solid tumours. *Nature* 1996; 379(6560):88-91.
- Cross S. M., Sanchez C. A., Morgan C. A., Schimke M. K., Ramel S., Idzerda R. L., Raskind W. H. and Reid B. J.: A p53-dependent mouse spindle checkpoint. *Science* 1995; 267(5202):1353-6.
- Vousden K.: Interactions of human papillomavirus transforming proteins with the products of tumor suppressor genes. *Faseb J* 1993; 7(10):872-9.
- Wu X., Bayle J. H., Olson D. and Levine A. J.: The p53-mdm-2 autoregulatory feedback loop. *Genes Dev* 1993; 7(7A):1126-32.
- Kotala V., Uldrijan S., Nenutil R. and Vojtesek B.: Protein p53 a protinádorová terapie. *Klinická onkologie* 2002; 15(3):98-101.
- Uldrijan S., Kotala V. and Vojtesek B.: Regulate stability a aktivitu nádorového supresoru p53. *Chem. Listy* 2002; 96(145-9).
- Vogelstein B., Lane D. and Levine A. J.: Surfing the p53 network. *Nature* 2000; 408(6810):307-10.
- Stommel J. M., Marchenko N. D., Jimenez G. S., Moll U. M., Hope T. J. and Wahl G. M.: A leucine-rich nuclear export signal in the p53 tetramerization domain: regulation of subcellular localization and p53 activity by NES masking. *Embo J* 1999; 18(6):1660-72.
- Moll U. M., Ostermeyer A. G., Ahomadegbe J. C., Mathieu M. C. and Riou G.: p53 mediated tumor cell response to chemotherapeutic DNA damage: a preliminary study in matched pairs of breast cancer biopsies. *Hum Pathol* 1995; 26(12):1293-301.
- Yang A., Walker N., Bronson R., Kaghad M., Oosterwegel M., Bonnin J., Vagner C., Bonnet H., Dikkes P., Sharpe A., McKeon F. and Caput D.: p73-deficient mice have neurological, pheromonal and inflammatory defects but lack spontaneous tumours. *Nature* 2000; 404(6773):99-103.
- Oliner J. D., Kinzler K. W., Meltzer P. S., George D. L. and Vogelstein B.: Amplification of a gene encoding a p53-associated protein in human sarcomas. *Nature* 1992; 358(6381):80-3.
- Pavletich N. P., Chambers K. A. and Pabo C. O.: The DNA-binding domain of p53 contains the four conserved regions and the major mutation hot spots. *Genes Dev* 1993; 7(12B):2556-64.
- Di Como C. J. and Prives C.: Human tumor-derived p53 proteins exhibit binding site selectivity and temperature sensitivity for transactivation in a yeast-based assay. *Oncogene* 1998; 16(19):2527-39.
- Donehower L. A., Harvey M., Slagle B. L., McArthur M. J., Montgomery C. A., Jr., Butel J. S. and Bradley A.: Mice deficient for p53 are developmentally normal but susceptible to spontaneous tumours. *Nature* 1992; 356(6366):215-21.
- Malkin D., Li F. P., Strong L. C., Fraumeni J. F., Jr., Nelson C. E., Kim D. H., Kassel J., Gryka M. A., Bischoff F. Z., Tainsky M. A. and et al.: Germ line p53 mutations in a familial syndrome of breast cancer, sarcomas, and other neoplasms. *Science* 1990; 250(4985):1233-8.
- Lane D. P.: Cancer. p53, guardian of the genome. *Nature* 1992; 358(6381):15-6.
- Kaghad M., Bonnet H., Yang A., Creancier L., Biscan J. C., Valent A., Minty A., Chalou P., Lelias J. M., Dumont X., Ferrara P., McKeon F. and Caput D.: Monoallelically expressed gene related to p53 at 1p36, a region frequently deleted in neuroblastoma and other human cancers. *Cell* 1997; 90(4):809-19.
- Yang A., Kaghad M., Wang Y., Gillett E., Fleming M. D., Dotsch V., Andrews N. C., Caput D. and McKeon F.: p63, a p53 homolog at 3q27-29, encodes multiple products with transactivating, death-inducing, and dominant-negative activities. *Mol Cell* 1998; 2(3):305-16.
- Wang W. K., Bycroft M., Foster N. W., Buckle A. M., Fersht A. R. and Chen Y. W.: Structure of the C-terminal sterile alpha-motif (SAM) domain of human p73 alpha. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 2001; 57(Pt 4):545-51.
- Chi S. W., Ayed A. and Arrowsmith C. H.: Solution structure of a conserved C-terminal domain of p73 with structural homology to the SAM domain. *Embo J* 1999; 18(16):4438-45.
- Jost C. A., Marin M. C. and Kaelin W. G., Jr.: p73 is a simian [correction of human] p53-related protein that can induce apoptosis. *Nature* 1997; 389(6647):191-4.
- Zhu J., Jiang J., Zhou W. and Chen X.: The potential tumor suppressor p73 differentially regulates cellular p53 target genes. *Cancer Res* 1998; 58(22):5061-5.
- De Laurenzi V., Costanzo A., Barcaroli D., Terrinoni A., Falco M., Annicchiarico-Petruzzelli M., Levrero M. and Melino G.: Two new p73 splice variants, gamma and delta, with different transcriptional activity. *J Exp Med* 1998; 188(9):1763-8.
- Zaika A. I., Kovalev S., Marchenko N. D. and Moll U. M.: Overexpression of the wild type p73 gene in breast cancer tissues and cell lines. *Cancer Res* 1999; 59(13):3257-63.
- Ueda Y., Hijikata M., Takagi S., Chiba T. and Shimotohno K.: Transcriptional activities of p73 splicing variants are regulated by intervariant association. *Biochem J* 2001; 356(Pt 3):859-66.
- Stiewe T. and Putzer B. M.: Role of p73 in malignancy: Tumor suppressor or oncogene? *Cell Death Differ* 2002; 9(3):237-45.
- Leverro M., De Laurenzi V., Costanzo A., Gong J., Wang J. Y. and Melino G.: The p53/p63/p73 family of transcription factors: overlapping and distinct functions. *J Cell Sci* 2000; 113(Pt 10):1661-70.

31. Ichimiya S., Nimura Y., Kageyama H., Takada N., Sunahara M., Shishikura T., Nakamura Y., Sakiyama S., Seki N., Ohira M., Kaneko Y., McKeon F., Caput D. and Nakagawara A.: p73 at chromosome 1p36.3 is lost in advanced stage neuroblastoma but its mutation is infrequent. *Oncogene* 1999; 18(4):1061-6.
32. Han S., Semba S., Abe T., Makino N., Furukawa T., Fukushima S., Takahashi H., Sakurada A., Sato M., Shiiha K., Matsuno S., Nimura Y., Nakagawara A. and Horii A.: Infrequent somatic mutations of the p73 gene in various human cancers. *Eur J Surg Oncol* 1999; 25(2):194-8.
33. Ikawa S., Nakagawara A. and Ikawa Y.: p53 family genes: structural comparison, expression and mutation. *Cell Death Differ* 1999; 6(12):1154-61.
34. Lomas J., Bello M. J., Arjona D., Gonzalez-Gomez P., Alonso M. E., de Campos J. M., Vaquero J., Ruiz-Barnes P., Sarasa J. L., Casartelli C. and Rey J. A.: Analysis of p73 gene in meningiomas with deletion at 1p. *Cancer Genet Cytogenet* 2001; 129(1):88-91.
35. Kovalev S., Marchenko N., Swendeman S., LaQuaglia M. and Moll U. M.: Expression level, allelic origin, and mutation analysis of the p73 gene in neuroblastoma tumors and cell lines. *Cell Growth Differ* 1998; 9(11):897-903.
36. Nomoto S., Haruki N., Kondo M., Konishi H. and Takahashi T.: Search for mutations and examination of allelic expression imbalance of the p73 gene at 1p36.33 in human lung cancers. *Cancer Res* 1998; 58(7):1380-3.
37. Tsao H., Zhang X., Majewski P. and Haluska F. G.: Mutational and expression analysis of the p73 gene in melanoma cell lines. *Cancer Res* 1999; 59(1):172-4.
38. Cai Y. C., Yang G. Y., Nie Y., Wang L. D., Zhao X., Song Y. L., Seril D. N., Liao J., Xing E. P. and Yang C. S.: Molecular alterations of p73 in human esophageal squamous cell carcinomas: loss of heterozygosity occurs frequently; loss of imprinting and elevation of p73 expression may be related to defective p53. *Carcinogenesis* 2000; 21(4):683-9.
39. Mai M., Qian C., Yokomizo A., Tindall D. J., Bostwick D., Polychronakos C., Smith D. I. and Liu W.: Loss of imprinting and allele switching of p73 in renal cell carcinoma. *Oncogene* 1998; 17(13):1739-41.
40. Mai M., Yokomizo A., Qian C., Yang P., Tindall D. J., Smith D. I. and Liu W.: Activation of p73 silent allele in lung cancer. *Cancer Res* 1998; 58(11):2347-9.
41. Reichelt M., Zang K. D., Seifert M., Welter C. and Ruffing T.: The yeast two-hybrid system reveals no interaction between p73 alpha and SV40 large T-antigen. *Arch Virol* 1999; 144(3):621-6.
42. Wienzek S., Roth J. and Döbelstein M.: E1B 55-kilodalton oncoproteins of adenovirus types 5 and 12 inactivate and relocalize p53, but not p51 or p73, and cooperate with E4orf6 proteins to destabilize p53. *J Virol* 2000; 74(1):193-202.
43. Marin M. C., Jost C. A., Irwin M. S., DeCaprio J. A., Caput D. and Kaelin W. G., Jr.: Viral oncoproteins discriminate between p53 and the p53 homolog p73. *Mol Cell Biol* 1998; 18(11):6316-24.
44. Balint E., Bates S. and Vousden K. H.: Mdm2 binds p73 alpha without targeting degradation. *Oncogene* 1999; 18(27):3923-9.
45. Prabhu N. S., Somasundaram K., Satyamoorthy K., Herlyn M. and El-Deiry W. S.: p73beta, unlike p53, suppresses growth and induces apoptosis of human papillomavirus E6-expressing cancer cells. *Int J Oncol* 1998; 13(1):5-9.
46. Park J. S., Kim E. J., Lee J. Y., Sin H. S., Namkoong S. E. and Um S. J.: Functional inactivation of p73, a homolog of p53 tumor suppressor protein, by human papillomavirus E6 proteins. *Int J Cancer* 2001; 91(6):822-7.
47. Park B. J., Lee S. J., Kim J. I., Lee C. H., Chang S. G., Park J. H. and Chi S. G.: Frequent alteration of p63 expression in human primary bladder carcinomas. *Cancer Res* 2000; 60(13):3370-4.
48. Osada M., Ohba M., Kawahara C., Ishioka C., Kanamaru R., Katoh I., Ikawa Y., Nimura Y., Nakagawara A., Obinata M. and Ikawa S.: Cloning and functional analysis of human p51, which structurally and functionally resembles p53. *Nat Med* 1998; 4(7):839-43.
49. Hibi K., Trink B., Patturajan M., Westra W. H., Caballero O. L., Hill D. E., Ratovitski E. A., Jen J. and Sidransky D.: AIS is an oncogene amplified in squamous cell carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97(10):5462-7.
50. Ceskova P., Nenutil R., Bray S., Svitakova M., Babcanova S., Uldrijan S. and Vojtesek B.: New monoclonal antibodies recognizing the p53 tumour suppressor protein homologue p73. *Folia Biol* 2001; 47(6):211-4.
51. Nyländer K., Vojtesek B., Nenutil R., Lindgren B., Roos G., Zhangxiang W., Sjöstrom B., Dahlqvist A. and Coates P. J.: Differential expression of p63 isoforms in normal tissues and neoplastic cells. *J Pathol* 2002; 198(4):417-27.
52. Chi S. G., Chang S. G., Lee S. J., Lee C. H., Kim J. I. and Park J. H.: Elevated and biallelic expression of p73 is associated with progression of human bladder cancer. *Cancer Res* 1999; 59(12):2791-3.
53. Sun X. F.: p73 overexpression is a prognostic factor in patients with colorectal adenocarcinoma. *Clin Cancer Res* 2002; 8(1):165-70.
54. Liu L., Cui X., Sakaguchi T., Sasaki M., Suda T. and Hatakeyama K.: Expression of p73 in colorectal carcinoma: clinicopathological relevance. *J Int Med Res* 2001; 29(4):297-303.
55. Tannapfel A., Schmelzer S., Benicke M., Klimpfinger M., Kohlhaw K., Mossner J., Engeland K. and Wittekind C.: Expression of the p53 homologues p63 and p73 in multiple simultaneous gastric cancer. *J Pathol* 2001; 195(2):163-70.
56. Brooks L. A., Sullivan A., O'Nions J., Bell A., Dunne B., Tidy J. A., Evans D. J., Osin P., Vouden K. H., Gusterson B., Farrell P. J., Storey A., Gasco M., Sakai T. and Crook T.: E7 proteins from oncogenic human papillomavirus types transactivate p73: role in cervical intraepithelial neoplasia. *Br J Cancer* 2002; 86(2):263-8.
57. Faridoni-Laurens L., Bosq J., Janot F., Vayssade M., Le Bihan M. L., Kaghad M., Caput D., Benard J. and Ahomadegbe J. C.: P73 expression in basal layers of head and neck squamous epithelium: a role in differentiation and carcinogenesis in concert with p53 and p63? *Oncogene* 2001; 20(38):5302-12.

knihy

LUNG CANCER

GINSBERG, R. J. (Ed.)

B. C. Decker Inc., Hamilton 2002

182 str., 150 obr., 33 tab., ISBN 1-55009-099-2, cena 99,95 GBP

Editorem této pozoruhodné knihy, sestávající z 13 kapitol, je vedoucí lékař oddělení hrudní chirurgie na Univerzitě v Torontu. Shromáždil příspěvky od 20 dalších odborníků převážně z USA.

V první kapitole o epidemiologii se uvádí, že ca plic a bronchů se stal nejčastějším ze všech karcinomů; jeho výskyt měl stoupající tendenci až do r. 1991, kdy došlo v USA k poklesu v důsledku sníženého kouření. U žen vzestup trvá, je však pomalejší. Díky kampaním proti kouření dochází k poklesu výskytu i 8 suspektních karcinomů, které mohou přispět ke vzniku plicního karcinomu (2. kap.). Efektivita screeningu nebyla prokázána. Kladné výsledky lze očekávat od spirálního CT umožňujícího objevit léze o průměru 2–3 mm. Slibné je rovněž užít PET s možností dobrého rozlišení benigních a maligních lézí. Do úvahy přichází také stanovení monoklonálních protilátek a fluorescenční bronchoskopie. Ve třetí kapitole je přehledně probrána histopatologie karcinomu plic.

Ve čtvrté kapitole se pojednává o subjektivních a objektivních klinických příznacích plicního ca. Ke stanovení stadia je užita TNM klasifikace, detailně jsou demonstrovány diagnostické postupy a typy používaných biopsií. Podrobně jsou popsány paraneoplastické syndromy (5. kap.). V 6. kapitole se vyzdvihuje užitečnost CT a PET, dále jsou zařa-

zeny klinické studie u 19 nemocných doprovázené hlavně CT a PET snímky s detailním rozбором pozorování při různé extenzitě nemoci. Tematem 7. kap. jsou nálezy ca in situ a okultní plicní karcinomy.

8. kapitola je věnována lokálnímu a lokoregionálnímu nemalobuněčnému karcinomu a jeho charakteristikám u různých kategorií. Jsou uvedeny zásady sledování pacientů, užívané diagnostické postupy a jejich výsledky, léčebné postupy radioterapeutické, chirurgické a chemoterapeutické s charakteristikou nových agens. V 9. kap. jsou stručně uvedeny zásady sledování pacientů po resekci pro ca plic. Temata dalších kapitol: pokroky v léčbě metastatických nemalobuněčných karcinomů, léčba při recidivách nádorů a metastázách, léčebné postupy u malobuněčných karcinomů, výhledy do budoucna – poznámky k prevenci, screeningu, fluorescenční bronchoskopii a „nízkozátěžové“ spirální CT. Jsou zmíněny nové léčebné strategie, fotodynamická terapie, minimálně invazivní chirurgické techniky, terapie zaměřená na růstové faktory, antiangiogenetická léčba, imunoterapie a genová léčba.

Kvalitně vypravená kniha shrnuje vynikajícím způsobem současné znalosti o karcinomu plic a bronchů. Sevěřený text s množstvím tabulek s barevným podtiskem a četnými ilustracemi, hlavně diagnostickými, zpestřuje zajímavou publikaci. Příložený CD-ROM obsahuje kompletní text a ilustrace ve formátu PDF. O publikaci bude bezpochyby zájem mezi pneumology, onkology, radioterapeuty, lékaři v nukleární medicíně a konečně i mezi všeobecnými lékaři. Kniha vychází v edici *Atlas of Clinical Oncology* podporované společností *American Cancer Society*. V Evropě knihu distribuuje Harcourt Publishers Limited, Customer Service Department, Foots Cray High Street, Sidcup, Kent, DA14 5HP, UK.
V. R., V. H.

PŘEDOPERAČNÍ CHEMORADIOTERAPIE S KAPECITABINEM V LÉČBĚ LOKÁLNĚ POKROČILÉHO ADENOKARCINOMU REKTA

PREOPERATIVE CHEMORADIOTHERAPY WITH CAPECITABINE IN TREATMENT OF LOCALLY ADVANCED RECTAL ADENOCARCINOMA

KOCÁKOVÁ I.¹, ŠPELDA S.¹, KOCÁK I.¹, BRANČÍKOVÁ D.⁵, ŠLAMPA P.³, VETCHÁ H.¹, KOVÁŘOVÁ M.¹, PENKA I.⁴, ŠEFR R.⁴, SVOBODA M.², SUTORÝ M.⁶, VYZULA R.¹

¹ KLINIKA KOMPLEXNÍ ONKOLOGICKÉ PÉČE, MOÚ, BRNO

² ODDĚLENÍ EXPERIMENTÁLNÍ ONKOLOGIE, MOÚ, BRNO

³ ODDĚLENÍ RADIAČNÍ ONKOLOGIE, MOÚ BRNO

⁴ ODDĚLENÍ CHIRURGIE, MOÚ BRNO

⁵ ODDĚLENÍ KLINICKÉ A RADIAČNÍ ONKOLOGIE, FN U SVATÉ ANNY, BRNO

⁶ ÚRAZOVÁ NEMOCNICE, BRNO

Souhrn: Bylo prokázáno, že předoperační radioterapie zlepšuje léčebné výsledky u lokálně pokročilého karcinomu rekta. Cytotoxický účinek může být dále potencován přidáním fluoropyrimidinového cytostatika s radiosenzibilizačním účinkem. Předoperační konkomitantní radioterapie s kapecitabinem byla s tímto cílem indikována u pacientů s rektálním adenokarcinomem, cT3-4, a/nebo N+ hodnoceno podle endorektálního sonografického vyšetření, M0. Kapecitabin v dávce 825 mg/m² byl podáván dvakrát denně konkomitantně s radioterapií na oblast pánve v denní dávce 1,8Gy do dávky 45Gy s následným boostem 50,4Gy. Bylo léčeno 34 pacientů, medián věku 62 let, 24 mužů, 10 žen. Radikální resekce reziduálního nádoru byla provedena u 33 pacientů. Lokalizace tumoru byla následující: dolní rektum (0-5 cm) u 12 pacientů, střední rektum (5-10 cm) u 19 pacientů, horní rektum (>10 cm) u 3 pacientů. Amputace rekta byla provedena u 8 (23,5%) pacientů a resekce tumoru se zachováním anu u 23 (76,5%) pacientů. Patologická kompletní remise byla verifikována u 7 (20,6%) pacientů. Mikroskopické reziduum v nádorovém resekatu bylo zjištěno u 6 pacientů, celkem bylo dosaženo u 13 (38%) pacientů kompletní nebo téměř kompletní remise onemocnění. Adjuvantní chemoterapie 4 cykly kapecitabinu v dávce 2500 mg/m² D1-14 byla indikována u 13 pacientů, u kterých byl reziduální tumor klasifikován jako pT3-4 nebo pN+. Konkomitantní chemoradioterapie s kapecitabinem představuje možnost zvýšení počtu sfinkter šetřících operací.

Klíčová slova: předoperační chemoterapie, kapecitabin, konkomitantní radioterapie

Summary: Preoperative radiotherapy has been proved to improve the outcome in locally advanced undissected rectal cancer. The addition of the fluoropyrimidine drug with radiosensitizing effect may further potentiate cytotoxic effect. With this aim capecitabine and concomitant radiotherapy was applied preoperatively to patients with rectal adenocarcinoma, cT3-4, and/or N+ by transrectal sonography, M0. Capecitabine 825 mg/m² twice daily was given concomitantly with pelvic radiotherapy 1,8 Gy daily up to 45 Gy followed by a boost up to 50,4 Gy. 34 patients (pts), median age 62 years, 24 males, 10 females were treated. Radical resection of residual cancer has been done in 33 pts. The lower rectum (0-5 cm) was affected in 12 pts, the middle rectum (5-10 cm) in 19 and upper rectum (>10 cm) in 3 patients. Rectal amputation was performed in 8 (23,5%) pts, the anus preserving surgery was done in all the others(76,5%). Pathological complete response has been verified in 7 (20,6%) pts. Microscopic residuum was found in 6 patients, so there were 13 (38%) pts with substantial remission. Adjuvant chemotherapy with 4 cycles of capecitabine 2500 mg/m² D1-14 was applied to 13 pts in whose residual tumor pT3-4 or pN+ after surgery were found. The concomitant radiotherapy with capecitabine appears to increase the chance for rectum sparing surgery.

Key words: preoperative chemotherapy, capecitabine, concomitant radiotherapy

ÚVOD

Rektální karcinom (RK) představuje v České republice závažný onkologický problém. Incidence karcinomu konečníku byla v České republice v r.1997 u mužů 25,6/100 000 obyvatel, u žen 14,5/100 000 obyvatel, čímž se řadíme na první místo v celosvětových statistikách v počtu těchto nádorů. Své prvenství máme i co do mortality na karcinom rekta a tlustého střeva. Karcinom rekta představuje 7% všech nádorových úmrtí, přičemž mortalita na toto onemocnění je téměř dvakrát vyšší u mužů než žen. Prognóza onemocnění je závislá na klinickém stádiu v době stanovení diagnózy, závisí na hloubce transmurální invaze a přítomnosti či absenci uzlinových metastáz. Pětileté přežití u karcinomu rekta je 55%-60%. U pacientů s časným stádiem onemocnění (Tis, T1, N0) je přibližně 90%, prognóza se výrazně zhoršuje u karcinomu distálního rekta, zejména lokálně pokročilých nádorů (T3, T4 a v případech uzlinových metastáz).

Operace je nejefektivnější způsob léčby, kurativní resekce je

možná v 70-80% případech. Vzhledem k vysokému procentu lokálních recidiv (20-60%) se pooperační (adjuvantní) chemoradioterapie stala standardním doporučením pro léčbu lokálně pokročilých nádorů rekta (\geq T3). Vede ke snížení rizika lokálních recidiv, vzdálené diseminace a k zlepšení pětiletého přežití (1-6).

Randomizovanými studiemi byla prokázána při použití předoperační radioterapie u lokálně pokročilých adenokarcinomů rekta (stadium T₃, T₄ nebo N+) větší lokální kontrola onemocnění, ale i nižší toxicita (myelotoxicita, kožní toxicita) než u pooperační radioterapie. Předoperační radioterapie v dávce 20-30 Gy se však ukázala jako nedostatečně efektivní. Klasická (konvenční) předoperační RT v dávce 45 Gy \pm boost na lůžko nádoru dosahuje vysokého procenta lokální kontroly (>90%), u lokálně pokročilých a níže sedících tumorů zvyšuje procento sfinkter zachovávajících operací, procento patologických kompletních remisí (pCR) se pohybuje kolem 10% (7-11).

Pozornost se v poslední době u lokálně pokročilých karcinomů rekta (stadium T₃, T₄ nebo N+) zaměřila na strategii konkomitantní aplikace předoperační radioterapie s cytotoxickými látkami, nejčastěji s 5-fluorouracilem (5-FU). Potenciální výhodou této kombinované léčebné modality je rozdílný mechanismus působení cytostatik a záření na heterogenní nádorovou populaci. Řada interakcí při současném podání radioterapie a chemoterapie zvyšuje účinnost léčby ve srovnání s podáním sekvenčním (buněčná synchronizace, prevence vzniku rezistentních klonů, inhibice opravy DNA poškozené radioterapií některými cytostatiky, eradikace mikrometastáz, vyšší distribuce cytostatika do nádoru s intaktním cévním řečištěm, větší pravděpodobnost odpovědi oxygenovaných buněk na radioterapii, menší pravděpodobnost radiačního poškození tenkého střeva, které není fixované v pánvi...). Redukce nádoru po neoadjuvantní léčbě (downstaging) tak může u nízké sedících nádorů konečnicku zabránit mutilující abdominoperineální resekci rekta. Dle publikovaných dat je chemoradioterapií s využitím 5-FU jako radiosenzibilizátoru v neoadjuvantním podání dosahováno kolem 10%-50% pCR. Signifikantně vyšší procento léčebných odpovědí je pozorováno při kontinuálním podání 5-FU, navíc tyto režimy při tříletém sledování léčebných výsledků prokázaly i lepší celkové přežití (68% vs 76%) a méně relapsů onemocnění (56% vs 67%). Výhodou těchto režimů je i nižší výskyt hematologické a gastrointestinální toxicity, vyžadují však inzerci centrálního žilního katetru s častými následnými komplikacemi (trombóza, krvácení, infekční komplikace, pneumotorax), které negativně ovlivňují kvalitu života onkologických pacientů (12-21).

V současnosti probíhá v indikaci indukční chemoradioterapie u lokálně pokročilého karcinomu rekta celá řada klinických studií fáze I/II s cílem vyhodnotit efektivitu a toxicitu nových cytostatik – raltitrexedu, irinotekanu a oxalipatinu (22-30). Zlatým standardem v této indikaci však dosud zůstává 5-FU. Jedním z hlavních mechanismů účinku 5-FU je inhibice enzymu thymidylátsyntázy (TS), která hraje rozhodující úlohu v de novo syntéze thymidinu. Dalším kritickým enzymem, který ovlivňuje antitumorozní účinek 5-FU, je enzym dihydropyrimidin-dehydrogenáza (DPD). Zodpovídá za katabolickou konverzi 5-FU. Snaha zvýšit účinnost a tolerabilitu fluoropyrimidinových cytostatik vedla k vývoji kapecitabinu, který je postupně, selektivně konvertován prostřednictvím tří enzymů-karboxylesterázy (CE), cytidindeaminázy (CyD) a thymidinofosforilázy (TP) na cytotoxický 5-FU v nádorových buňkách. Na základě preklinických a klinických studií se tento přípravek jeví slibným v kombinaci s předoperační RT. Dlouhodobou inhibicí enzymu TS imituje kontinuální podání 5-FU. Předpokladem vzájemné potenciace obou léčebných modalit je i farmakokinetickými studii prokázána vyšší aktivita enzymu TP a CyD v nádorových buňkách kolorektálního karcinomu než v okolní zdravé tkáni, s čímž koreluje průkaz vyšší koncentrace 5-FU v nádoru než v intaktní tkáni. Rovněž byla prokázána nižší plazmatická koncentrace 5-FU po podání kapecitabinu, než po podání infuzního nebo bolusového 5-FU, což predikuje nižší systémovou toxicitu přípravku v porovnání s 5-FU režimy. Příznivější bezpečnostní profil kapecitabinu v porovnání s bolusovým FU/FA Mayo režimem je nyní již podložen randomizovanými klinickými studii III. fáze, rovněž jako preference orální formy chemoterapie pacienty. Protnádorový účinek kapecitabinu koreluje s expresí TP, jejíž aktivita, jak ukazují studie na xenoinplantátech, se zvyšuje v průběhu RT. Zřejmě ale závisí i na vzájemné interakci dalších enzymů-TS a DPD. Konkomitantní chemoradioterapie s kapecitabinem tak teoreticky představuje mnohem praktičtější alternativu než dosud užívaný radiosenzitizer 5-FU (31-43).

CÍL PRÁCE A METODIKA

Na našem pracovišti používáme kombinaci kapecitabinu se standardní předoperační radioterapií pánve u pacientů s lokál-

ně pokročilým, nemetastazujícím rektálním karcinomem od října 2001. Do protokolu klinického sledování bylo dosud zařazeno 42 pacientů. Primárním cílem naší práce je vyhodnocení míry patologických kompletních remisí (pCR), sekundárním cílem pak vyhodnocení efektivity režimu (objektivní odpovědi), stanovení počtu sfinkter šetřících operací, vyhodnocení toxicity konkomitantní léčby, monitorování biomarkerů fluoropyrimidinového metabolismu (TP, DPD, TS) a TNF alfa v nádoru v průběhu konkomitantní léčby s cílem zjistit, zda dochází ke změnám aktivity těchto enzymů a zda stanovení poměru TP k DPD může sloužit jako prediktivní ukazatel odpovědi na kapecitabin. V tří a pětiletém sledování půjde o zhodnocení frekvence lokálních recidiv, výskytu vzdálených metastáz, celkového přežití pacientů a srovnání efektivity tohoto léčebného schématu se standardní předoperační radioterapií nebo chemoradioterapií s 5-FU. K tomuto srovnání budou použity retrospektivní data.

Do klinického sledování byli zařazeni pacienti, kteří splňovali následující vstupní kritéria:

- histologicky verifikovaný adenokarcinom rekta
- lokálně pokročilé onemocnění (klinické stadium cT3, cT4, event. N+, fixovaný nádor, nádor primárně inoperabilní)
- věk 18–75 let
- ECOG performance status: 0–2
- uspokojivé hematologické a biochemické parametry: neutrofilů >2x10⁹/L, trombocyty > 100 x 10⁹/L, bilirubin < 1,5násobek horní hranice normy, transaminasy (AST, ALT) < 2,5násobek horní hranice normy, kreatinin v séru < 140 umol/L nebo clearance kreatininu > 60 ml/min.
- předpoklad přežití minimálně 3 měsíce
- předpoklad spolupráce pacienta
- podpis informovaného souhlasu

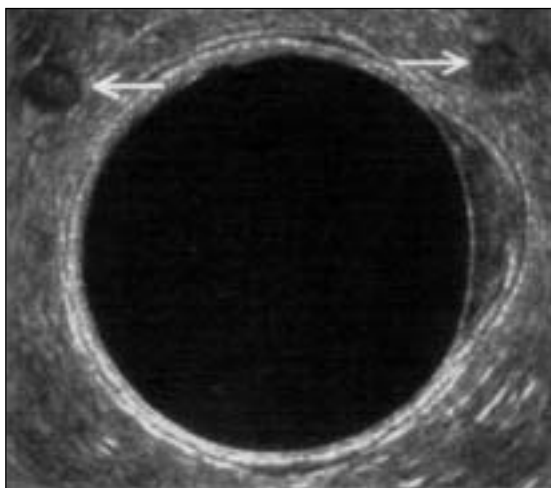
Vylučujícími kritérii zařazení do protokolu byla některá z níže uvedených skutečností:

- předchozí radioterapie nebo chemoterapie pro karcinom rekta
- aktivní infekce
- nádorová duplicita v posledních pěti letech s výjimkou basaliomu a ca cervicis uteri in situ
- těhotenství a kojení
- městnavá srdeční slabost, angina pectoris, infarkt myokardu v posledním roce před zařazením do studie, nekontrolovatelná hypertenze, závažná arytmie
- závažná neurologická nebo psychiatrická onemocnění včetně demence
- malabsorpční syndrom

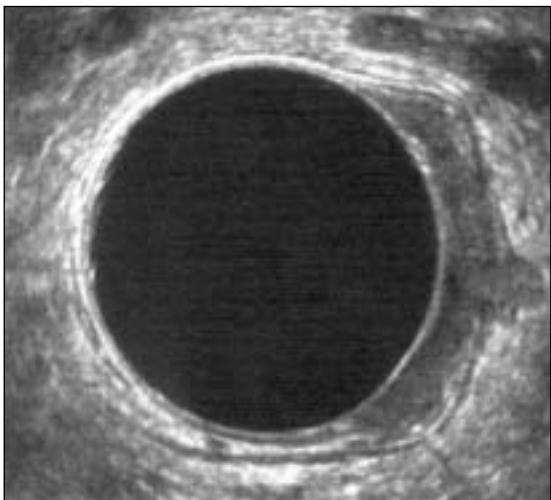
K určení klinického stadia onemocnění provádíme přesný předoperační staging (cTNM) zahrnující rtg plic, CT břicha a pánve, event. NMR u fixovaných rektálních nádorů (UZ jater v případě diferencially diagnostické nejasnosti o možných metastázách), pankoloskopii nebo rektoskopii a irrigoskopii s dvojitým kontrastem, sledování CEA jako hlavního markeru s uváděnou senzitivitou 50-60% a Ca 19-9 jako vedlejšího markeru. Urologické vyšetření indikujeme při nálezu hematurie nebo při urologické symptomatologii, u žen doplňujeme gynekologické vyšetření. V rámci lokálního stagingu je nezbytným vyšetřením endosonografie rekta rotační sondou k posouzení penetrace nádoru stěnou střeva a k detekci metastáz v regionálních lymfatických uzlinách (obrázek č. 1–3). Dle literárních údajů je senzitivita tohoto vyšetření kolem 90% (44,45). Lokalizace nádoru je měřena rigidním rektoskopem od anodermální linie. Tato informace je důležitá zejména pro určení typu následného chirurgického zákroku. Zatímco nádory dolní třetiny rekta (0–5 cm) jsou bez předoperační léčby řešitelné pouze amputací rekta, nádory horní třetiny rekta (10–15 cm) lze takřka vždy řešit resekci a anastomózou, problematická je střední třetina rekta (5–10cm).

Obr. č. 1: rektální endosonografie

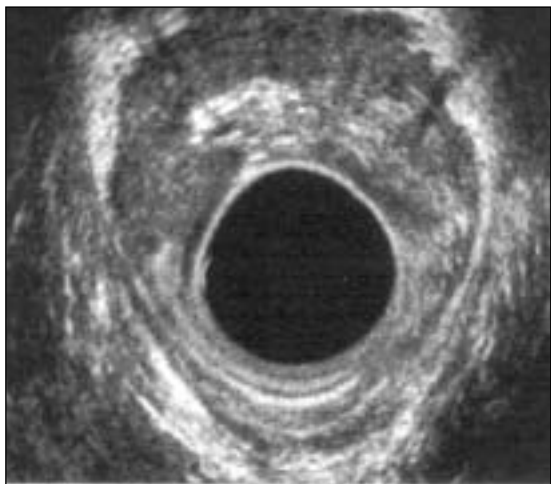
cT2 léze: Tumorózní infiltrace omezená na stěnu střeva, znatelné rozrušení submukózy, invaze do muskularis propria. Intaktní přechod perirektální tukové tkáně je znakem ohraničení tumoru na střevní stěnu. Metastatické lymfatické uzliny jsou zobrazeny jako dobře ohraničené hypoechoгенní léze (šipky).

**Obr. č. 2: rektální endosonografie**

cT3 léze: Invaze do perirektálního tuku. Přerůstání tumoru do perirektálního tuku se zobrazuje porušením vnější bílé linie.

**Obr. č. 3: rektální endosonografie**

cT4 léze – invaze do vagíny, sonograficky je zřetelná ztráta hyperechoгенního rozhraní mezi nádorem a okolní zdravou tkání.

**Přehled vyšetření provedených do 4 týdnů před zařazením do studie:**

- anamnéza a fyzikální vyšetření
- konkomitantní onemocnění a léčba
- rektoskopie s odběrem nádorové tkáně na histologické vyšetření a stanovení enzymů: TP, DPD, TS a TNF alfa
- EKG
- rtg plic, CT břicha a pánve
- hematologie, biochemie, nádorové markery (CEA, event. CA 19 – 9)
- endosonografie rektu
- ECOG performance status (PS)
- písemný informovaný souhlas

Z 42 zařazených pacientů je stran efektivity a toxicity konkomitantní léčby vyhodnotitelných 34 pacientů, 24 mužů, 10 žen, medián věku 62 let. Bližší charakteristiku souboru ukazuje tabulka č.1. Z prezentovaného souboru bylo 11 pacientů léčeno na participujícím Oddělení klinické a radiační onkologie FN U svaté Anny. Dominujícími klinickými symptomy onemocnění u pacientů léčených v MOU bylo krvácení z konečníku, tenezmy a průjemovité stolice, váhový úbytek byl zaznamenán u 4 pacientů, anemie u 8 pacientů a elevace CEA před zahájením léčby u 9 pacientů, tabulka č.2. Doporučené léčebné schéma trvá necelých 6 týdnů (obr. č.4). U všech pacientů podáváme tablety kapecitabinu (Xeloda) 825 mg/m² dvakrát

Tab. č. 1: Charakteristika souboru 34 pacientů léčených konkomitantní chemoradioterapií.

Parametr	
Počet pacientů	34
muži/ženy	24/10
Medián věku (rozmezí): roky	62 (33–75)
Medián PS (rozmezí)	0 (0–1)
Lokalizace nádoru (měřeno rigidním rektoskopem od anodermální linie: 0–15cm)	
dolní rektum (0–5cm)	12
střední rektum (5–10cm)	19
horní rektum (10–15cm)	3
Histologické typy adenokarcinomu z probatorní excize:	
tubulární adenoCa	6
hlenotvorný adenoCa	4
cyliandrocelulární adenoCa	1
adenoCa blíže neurčen	23

Tab. č. 2: Klinická symptomatologie a laboratorní abnormality, hodnoceno u 23 pacientů.

Medián trvání klinických symptomů (rozmezí): měsíce	7 (1-25)
Symptom	počet pacientů
enteroragie	13
průjem	6
zácpa	1
střídání průjmu a zácpy	3
hleny ve stolici	7
tenezmy	8
váhový úbytek (více jak 5% tělesné váhy)	4
anemie	8
hypoproteinemie	2
elevace CEA před zahájením léčby	9

Obr. č. 4: Schéma neoadjuvantní konkomitantní chemoradioterapie.

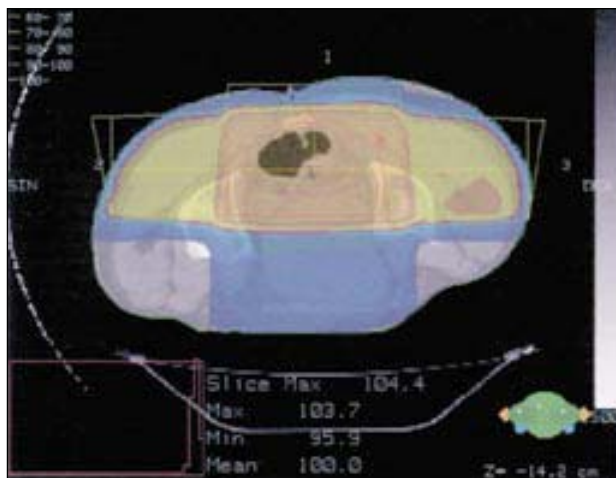
Kapecitabin tbl. den 1.– 38. dvakrát denně 825mg/m²						
Radioterapie	↑↑↑↑↑	↑↑↑↑↑	↑↑↑↑↑	↑↑↑↑↑	↑↑↑↑↑	↑↑↑
Den	1	8	15	22	29	36 38
	týden 1	týden 2	týden 3	týden 4	týden 5	týden 6
RT v denní dávce 1,8 Gy na oblast pánve, 45 Gy/25 frakcí, boost do celkové dávky 50,4 Gy						

denně, přičemž první dávku 2 hodiny před radioterapií, druhou dávku za 12 hodin po dávce první, kontinuálně po celou dobu radioterapie, 38 dnů. Standardní dávka radioterapie je 180 cGy denně, v 25 frakcích je tak dosaženo celkové dávky na oblast pánve 45,0 Gy, s následujícím boostem ve třech frakcích do celkové dávky 50,4 Gy. Přibližná doba celkové radioterapie je 5,5 týdne (obr.č.5,6). V rámci protokolu klinického sledování monitorujeme fyziologické funkce, základní hematologické a biochemické parametry, hodnotíme toxicitu a afektivitu režimu. Podrobný algoritmus vyšetření uvádíme v následujícím textu a schematicky v tab. č.3.

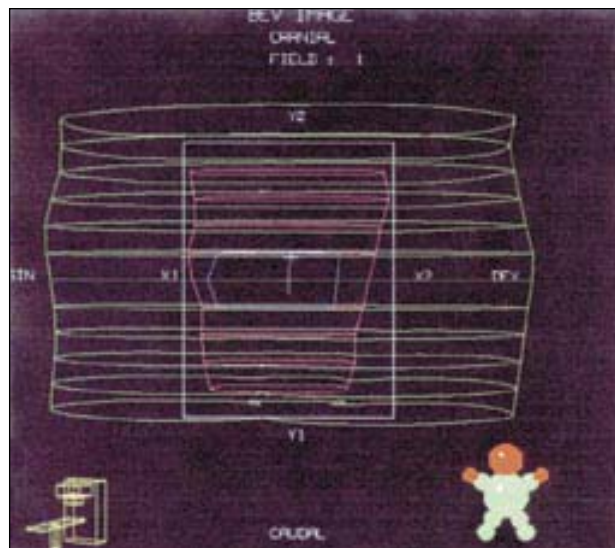
Tab. č. 3: Přehled vyšetření v průběhu konkomitantní chemoradioterapie.

Konkomitantní onemocnění a medikace	Před léčbou	Neoadjuvantní chemoradioterapie: Kapecitabin 825mg/m ² 2x denně a radioterapie 1,8Gy denně							
		Jedenkrát týdně	X	X	X	X	X	X	2 týdny před operací
Fyzikální vyšetření TK, P, váha	X	X	X	X	X	X	X	X	
ECOG PS	X	týdně	X	X	X	X	X	X	
Nežádoucí účinky léčby		týdně	X	X	X	X	X	X	X
hematologie	X	X	X	X	X	X	X	X	
biochemie	X	X	X	X	X	X	X	X	
CEA	X								X*
CT břicha, pánve	X								X
Rektoskopie s odběrem	X			X					
Rektální endosono	X								X
Patologický staging									X

Obr. č. 5: Karcinom konečníku - isodózní součtový plán předoperačního ozařování malé pánve v poloze na břiše. Kombinace tří konvergentních polí, „T technika“, brzdný svazek lineárního urychlovače, 18 MV.



Obr. č. 6: Radioterapie karcinomu rekta - zobrazení dorzálního pole z pohledu svazku záření (BEV).



Během neoadjuvantní chemoradioterapie provádíme 1x týdně :

- fyzikální vyšetření ,TK, P, váha, sledování kožní reakce v ozařovaném poli
- ECOG PS
- KO, diff., jaterní testy, kreatinin, celková bílkovina, albumin
- Kontrolní rektoskopie s odběrem nádorové tkáně na stanovení hladiny TP,TS,DPD a TNF alfa (7–14 den od zahájení konkomitantní léčby)
- zaznamenávání nežádoucích účinků léčby

Ke zhodnocení terapeutického efektu provádíme dva týdny před plánovanou operací kontrolní:

- CT pánve
- CEA *(byla-li před léčbou hodnota CEA elevována)
- rektální endosonografii

Operace a stanovení patologického stagingu (pT, pN) následuje do šesti týdnů od skončené konkomitantní léčby.

Adjuvantní chemoterapii indikujeme u pacientů, u kterých byl před zahájením léčby klasifikován tumor cT4, dále v případě pT3, pT4 a vždy v případě pN+. Podáváme čtyři cykly kapecitabinu v dávce 1250mg/m², 2x denně, den 1.-14., interval 3 týdny. Před každým cyklem chemoterapie hodnotíme:

- KO, diff., biochemie – jaterní testy, celková bílkovina, albumin, kreatinin
- ECOG performance status
- zaznamenávání nežádoucích účinků léčby

VÝSLEDKY

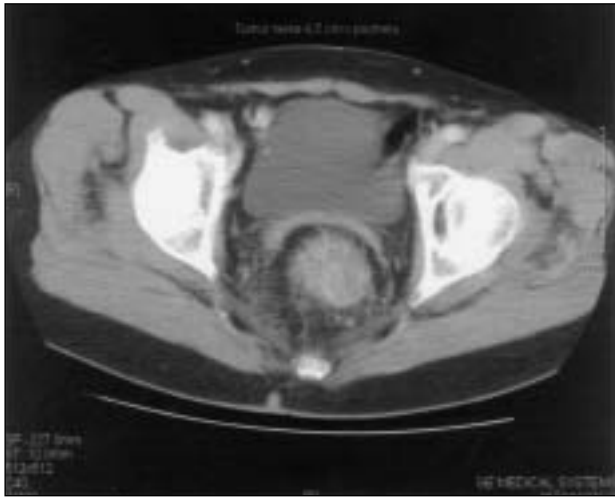
34 pacientů je po ukončené chemoradioterapii s následným přešetřením ke zhodnocení terapeutického efektu. 33 pacientů bylo do šesti týdnů od skončené předoperační léčby

resektováno. U 32 pacientů (94%) byla podána 100% plánovaná dávka radioterapie a kapecitabinu, pouze u 2 pacientů byl léčebný režim zkrácený o 1 týden (20% dávková redukce), v jednom případě z důvodu netropenie třetího stupně (G3), u druhého pacienta z důvodu průjmů G3. U žádného pacienta nebylo nutné provést před zahájením nebo v průběhu léčby odlehčovací kolostomie. Medián sledování pacientů je 6 měsíců (rozmezí 1-15 měsíců), všichni pacienti jsou dosud bez známek lokální recidivy či známek vzdálené diseminace.

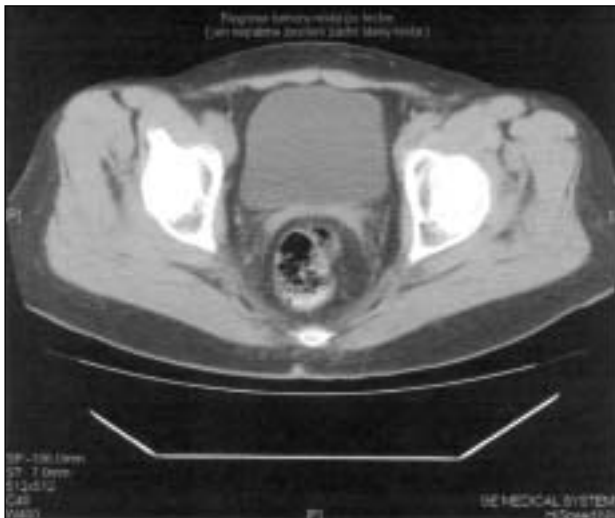
Vyhodnocení efektivity režimu:

- Dle kontrolního CT pánve a kontrolní endosonografie rektu jsme zaznamenali výraznou regresí tumoru (downstaging) u všech pacientů (obr. č. 7, 8).
- Rovněž došlo u všech pacientů k významné regresí nádoru při srovnání výchozího klinického stadia cTN s následným patologickým stadiem pTN.
- U 9 pacientů s předoperační elevací CEA došlo k normalizaci nádorového markeru.
- Patologická kompletní remise pCR byla zaznamenána u 7 pacientů (21%), mikroskopické reziduum nádoru pR s průkazem ojedinělé viabilní buňky bylo nalezeno u dalších 6 pacientů, celkově byla kompletní nebo téměř kompletní remise onemocnění dosažena u 38% pacientů.

Obr. č. 7a: CT pánve před zahájením konkomitantní chemoradioterapie.



Obr. č. 7b: CT pánve po skončení konkomitantní chemoradioterapie.



Obr. č. 8a: CT pánve před zahájením konkomitantní chemoradioterapie.



Obr. č. 8b: CT pánve po skončení konkomitantní chemoradioterapie.



- U 30 pacientů s lokalizací nádoru v distálním nebo středním rektu, kteří byli iniciálně vzhledem k pokročilosti onemocnění kandidáty na amputaci rektu, byla tato provedena jen u 8 pacientů (27%), u ostatních pacientů byla provedena sfinkter šetřící operace (73%).
- U jednoho pacienta s lokalizací pokročilého nádoru rektu hned za svěračem (dle rektoskopického a endosonografického vyšetření) bylo konkomitantní chemoradioterapií dosaženo dle zobrazovacích metod kompletní remise onemocnění a normalizace CEA markeru. Opakovaným bioptickým vyšetřením nebyla prokázána aktivita onemocnění. Následný chirurgický zákrok nebyl na přání pacienta indikován.
- V průběhu neoadjuvantní léčby došlo u všech pacientů s vyjádřenou symptomatologií onemocnění (krvácení, algický syndrom) k vymizení nebo alespoň výraznému zmírnění těchto projevů.
- Adjuvantní chemoterapie byla indikována při patologickém stagingu pT3,T4 nebo pN+ u 13 pacientů.

Vyhodnocení toxicity režimu:

- V průběhu léčby nebyla u žádného z 34 hodnotitelných pacientů zaznamenána život ohrožující komplikace.
- Nebyla zaznamenána slizniční, kožní nebo hematologická toxicita čtvrtého stupně.
- U žádného pacienta nedošlo ke zhoršení PS nebo váhového úbytku.

- Nebyla zaznamenána elevace jaterních testů, nebo zhoršení v dalších laboratorních parametrech: urea, kreatinin, albumin, celková bílkovina.
- Nejčastějšími nežádoucími účinky léčby byla hematologická a slizniční toxicita a kožní reakce v ozařovaném poli. Leukopenie 3. stupně se vyskytla u 1 pacienta (3%), lokální dermatitida 3. stupně u 2 pacientů (6%), u 3 pacientů (9%) průjem 3. stupně, (tab. č. 4).
- V průběhu adjuvantní chemoterapie se u 1 pacienta manifestoval hand foot syndrom 2. stupně a průjem 3.-4. stupně vyžadující přechodnou hospitalizaci.

Tab. č.4: Hodnocení nežádoucích účinků neoadjuvantní chemoradioterapie, hodnoceno 34 pacientů.

Časná toxicita (dny-týdny)	
A. Hematologická toxicita (G1-G4)	počet pacientů
anemie	G1:7, G2:0, G3:0, G4:0
leukopenie	G1:5, G2:6, G3:1, G4:0
trombocytopenie	G1:0, G2:0, G3:0, G4:0
B. Nehematologická toxicita (G1-G4)	počet pacientů
postradiační dermatitida	G1:9, G2:7, G3:2, G4:0
průjem	G1:4, G2:1, G3:2, G4:0
infekční-uretroprostatitida	1
Oddálená toxicita (týdny-měsíce)	
postradiační cystitida	1

DISKUSE

Neoadjuvantní chemoradioterapie se s úspěchem používá jako kurativní metoda v léčbě epidermoidního karcinomu anu již od 70.let. Vzhledem k chemo a radiosenzitivitě tohoto onemocnění jsou léčebné výsledky této indukční chemoradioterapie srovnatelné s chirurgickou mutilující resekcí anorekta. Ačkoliv má karcinom rekta jinou biologickou povahu, přínos adjuvantní chemoradioterapie u karcinomu rekta klinického stadia II a III, ve smyslu snížení rizika lokálních recidiv, vzdálené diseminace a prodloužení pětiletého přežití, je podložen randomizovanými klinickými studiemi. GITSG a Mayo/NCCTG randomizované studie prokazují při použití samotné adjuvantní RT u karcinomu rekta pT3 nebo pN1-2 snížení rizika lokální recidivy o 50%, přidání radiosenzitizéru 5-FU toto riziko snižuje o dalších 10-12% a zvyšuje pětileté přežití z 50% na 60-65% (46,47).

Se zlepšením lokální kontroly a přežití při použití této kombinované léčebné modalitě se však zvyšuje také incidence akutní toxicity v porovnání s užitím samotné adjuvantní radioterapie. Celkový výskyt toxicity třetího stupně u konkomitanti léčby u GITSG a Mayo/NCCTG 79-47-51 studie byl 25% až 50%. Pooperační RT a aplikaci šesti cyklů chemoterapie ve studii GITSG ukončilo pouze 65% pacientů, ve studii Mayo/NCCTG jen 50% pacientů (45,46). Miller prezentuje vyšší procento těžkých až život ohrožujících průjmů ve studii Mayo/NCCTG 79-47-51 při užití chemoradioterapie versus samotné radioterapie (22% vs. 4%, P = 0,01, ref. 48). Nevýhodou pooperační RT je zvýšené riziko zavzetí klíček tenkého střeva do ozařovaného pole, potenciálně menší odpověď hypoxického lůžka tumoru na RT a rozšíření radiačního pole po APR zahrnující i perineální jizvu (49). Mayo/NCCTG 86-47-51 studie porovnávala účinnost a toxicitu bolusového versus kontinuálně podávaného 5-FU v adjuvantní indikaci. Při mediánu sledování 46 měsíců bylo u pacientů s kontinuální aplikací 5-FU zaznamenáno signifikantně méně relapsů onemocnění (37% vs. 47%, P = 0,01), nižší incidence vzdálených metastáz (31% vs. 40%, P = 0,03) a zlepšené čtyřleté přežití (70% vs. 60%, P = 0,005). Tato data potvrdila, že 5-FU užitý jako radiosenzitizér je mnohem efektivnější v kontinuálním

než bolusovém podání. Rozdíly byly také zaznamenány v incidenci akutní toxicity. Po podání kontinuálního 5-FU měli pacienti signifikantně častěji průjem třetího stupně (24% vs. 14%, P <0,01), signifikantně byl však nižší výskyt leukopenie třetího stupně (2% vs. 11%, P <0,01) v porovnání s režimem s bolusovým 5-FU. (50, 51). Vyšší účinnost kontinuálního 5-FU vedla k navržení INT 0114 studie. Primárním cílem této studie bylo vyhodnocení efektivity a toxicity adjuvantní chemoradioterapie, při které byly čtyři cykly 5-FU podávány bolusově +/- s leukovorinem nebo levamisolem a dva cykly 5-FU v kontinuální infuzi po dobu RT. Při mediánu sledování 4 let nebyl zaznamenán rozdíl v procentu výskytu lokálních recidiv mezi čtyřmi skupinami léčených pacientů (5-FU: 12%, 5-FU a leukovorin: 9%, 5-FU a levamisol: 13%, nebo 5-FU a leukovorin a levamisol: 9%). Nebyl zaznamenán ani rozdíl v tříletém přežití: 78%, 80%, 79%, 79%. Celková incidence toxicity třetího stupně byla vysoká a srovnatelná ve všech čtyřech skupinách pacientů: 76%, 72%, 70%, 75% (52). Na základě proběhlých studií je doporučován bolusově nebo kontinuálně podávaný 5-FU v kombinaci s RT v adjuvantní léčbě rektálního karcinomu klinického stadia II a III, vzhledem k poměrně značné toxicitě konkomitanti léčby však adjuvantní režim 35-50% pacientů nedokončí.

Synergni účinek radioterapie a chemoterapie, prokazatelně lepší tolerance předoperační radioterapie versus pooperační radioterapie vytváří všechny předpoklady pro uplatnění této kombinované léčebné modalitě v neoadjuvantní indikaci lokálně pokročilých adenokarcinomů rekta. Interakce chemo a radioterapie na různých úrovních heterogenní nádorové populace vytváří i předpoklady prevence vzniku rezistentních nádorových buněčných klonů, eliminace vzdálených mikrometastáz a regresí nádoru umožňuje zvýšení počtu sfinkter šetřících operací. Nejčastěji používaným radiosenzibilizátorem v této indikaci je v současnosti 5-fluorouracil v bolusovém nebo kontinuálním podání, případně v kombinaci s biomodulátory, převážně leukovorinem. Rozdílná účinnost a spektrum toxicity těchto režimů závisí na dávce, schématu a způsobu aplikace 5-FU. Infuzní varianty umožňují zvýšení celkové dávky 5-FU v jednom cyklu, mají vyšší procento léčebných odpovědí a díky nižší toxicitě jsou vhodné do kombinace s radioterapií. Nutností je však centrální žilní přístup vzhledem k lokální iritaci periferních žil. Chirurgické řešení je doporučováno provést 4-6 týdnů po ukončení neoadjuvantní terapie, kdy se plně projeví účinek kombinované léčby. Odezni akutní změny po ozáření, ještě se neprojeví chronické změny normálních tkání po ozáření a dochází k maximální regresi nádoru (53). Přínos většiny těchto studií v hodnocení efektivity a toxicity konkomitanti léčby je omezen malým počtem léčených pacientů, v některých studiích jsou příznivé léčebné výsledky ovlivněny také indikací neoadjuvantní chemoradioterapie u pacientů s časným stadiem karcinomu rekta (cT1-2, N0). Ve studii NSABP bylo dosaženo po neoadjuvantní chemoradioterapii s 5-FU u pacientů s karcinomem rekta 23% sfinkter šetřících operací (54), 44% zachovaných operací uvádí studie Lyon R90-01 (51), jiné studie prokazují sfinkter šetřící operaci až v 75% (55-58). Některé studie používají ve svém schématu bolusový 5-FU (59, 60), jiné kontinuální aplikaci 5-FU (61, 62). Společně vyhodnocení těchto posledních čtyř studií prokázalo 9-29% pCR a výskyt toxicity třetího stupně ve 21-25%, omezená data však nedovolují validní srovnání režimů s bolusovým nebo kontinuálním podání 5-FU. Cílem tří randomizovaných klinických studií u pacientů s klinicky resektabilním, cT3 karcinomem rekta bylo porovnání toxicity a účinnosti předoperační versus pooperační chemoradioterapie. Byla použita konvenční dávka a technika RT se současným podáním 5-FU. U pacientů před zahájením neoadjuvantní léčby byl posouzen typ následné chirurgické operace a hodnocen počet sfinkter šetřících operací po chemoradioterapii. První dvě americké studie byly pro nedostatečný počet pacientů ukončeny. Na výsledky

německá studie CAO/ARO/AIO 94, která zařadila přes 800 pacientů se čeká. Otázkou zůstává, zda odpověď nádoru na neoadjuvantní chemoradioterapii predikuje léčebné výsledky. Většina studií uvádí, že zvýšení počtu sfinkter šetřících operací koresponduje se zvýšenou odpovědí nádoru na léčbu. Diskutabilní je, zda u podskupiny pacientů, u kterých bylo neoadjuvantní léčbou dosaženo kompletní remise, je stále ještě nutný radikální chirurgický zákrok. Analýza 88 pacientů s karcinomem rekta klinického stadia cT3-4, kteří obdrželi předoperační radioterapii +/- 5-FU a leukovorin, prokázala snížení rizika lokální recidivy (4% vs. 15%) a signifikantní zvýšení 5-letého přežití (100% vs. 45%, $P = 0,01$) u pacientů, kteří dosáhli kompletní nebo téměř kompletní patologické remise (pT0-2, pN0) ve srovnání s pacienty s pT3-4 nebo pN1-2 (63). Ahmad ve své práci uvádí, že dosažení pCR u pacientů po chemoradioterapii predikuje lepší přežití a delší bezpříznakové období. V souboru 315 pacientů s karcinomem rekta cT3-4 zaznamenal pCR u 49 pacientů, při pětiletém sledování 96% pacientů s dosaženou pCR žilo, z nich 91% bylo bez známkou lokální recidivy (64). Habr-Gama v souboru 118 pacientů s karcinomem rekta cT1-3 léčených předoperační RT v dávce 50,4 Gy v konkomitanci s 5-FU a leukovorinem měl u 36 pacientů biopticky ověřenou kompletní remisi, z nich 30 pacientů nepodstoupilo chirurgický zákrok. Při mediánu sledování 36 měsíců bylo 28 pacientů (93%) bez známkou aktivity onemocnění. Ačkoliv výsledky této studie jsou fascinující, následný radikální chirurgický zákrok zůstává stále standardním doporučením (65). Pouze u podskupiny pacientů, kteří jsou z důvodu interkurencí neschopni operace

v celkové anestezii nebo radikální chirurgický zákrok odmítnou, lze zvážit jako alternativu lokální excizi (66).

ZÁVĚR

Vzrůstající zájem o zařazení neoadjuvantní chemoradioterapie do léčebného algoritmu u lokálně pokročilého karcinomu rekta vychází z možnosti zvýšení počtu kurativních (RO) resekcí a zvýšení počtu sfinkter šetřících operací dosažených regresí tumoru. Volba optimálního cytostatika je předmětem zájmu mnoha klinických studií. Kombinace předoperační radioterapie s kapecitabinem, preferenčně aktivovaným na 5-FU v nádoru, zjednodušuje chemoradioterapii, je vysoce praktická pro pacienty a nabízí tak potenciál pro nahrazení bolusového nebo kontinuálního 5-FU. V našem souboru bylo dosaženo konkomitantní chemoradioterapií s kapecitabinem u všech 34 léčených pacientů výrazné regrese primárního tumoru podle kontrolního CT vyšetření páneve a rektální endosonografie, u 73% pacientů byla provedena sfinkter šetřící operace. Patologická kompletní remise pCR byla zaznamenána u 7 pacientů (21%), mikroskopické reziduum nádoru pR bylo nalezeno u dalších 6 pacientů (17%). Režim měl příznivý bezpečnostní profil. Toxicita třetího stupně se vyskytla jen u 5 pacientů (14%). Adjuvantní chemoterapie čtyřmi cykly kapecitabinu byla indikována jen u 13 pacientů (39%). Šesti týdní neoadjuvantní radioterapie s kapecitabinem se jeví efektivním a bezpečným postupem zvyšující pravděpodobnost provedení anus šetřící resekce lokoregionálně pokročilých nádorů rekta. U velkého počtu pacientů umožňuje i výrazné zkrácení celkové doby onkologické léčby a zlepšení kvality života.

Literatura:

1. Fisher B et al. (1988). Post-operative adjuvant chemotherapy or radiation therapy for rectal cancer: results from NSABP protocol R-01 Natl Cancer Inst 80:21-9
2. Thomas RPM et al (1988) Adjuvant post-operative radiotherapy and chemotherapy in rectal carcinoma: a review of the Gastrointestinal Tumor Study Group experience. *Radiation Oncol* 13:245-52
3. O'Connell MJ et al (1994) Improving adjuvant therapy by combining protracted infusion fluorouracil with radiation therapy after curative surgery. *N Engl J Med* 331:502-7
4. NIH Consensus Conference. Adjuvant therapy with colon and rectal cancer. *JAMA* 264(11): 1444-1450, 1990
5. Gastrointestinal Tumor Study Group. Survival after postoperative combination treatment of rectal cancer. *N Engl J Med* 315:1294-1295, 1986.
6. Krook JE, Moertel CG, Gunderson L, et al. Effective surgical adjuvant therapy for high-risk rectal carcinoma. *N Engl J Med* 324:710-715, 1991.
7. Stockholm Colorectal Cancer Study Group. Randomized study on preoperative radiotherapy in rectal carcinoma. *Ann Surg Oncol* 3:423-430, 1996.
8. Dosoretz DE, Gunderson LL, Hedberg S, Hoskins B, Blitzer PH, Shipley W, Cohen A. Preoperative irradiation for unresectable rectal rectosigmoid carcinomas. *Cancer* 52:814.
9. Marks G, Mohiuddin M, Kakic J. New Hope and promise for sphincter preservation in the management of cancer of the rectum. *Semin Oncol* 18:388-398, 1991.
10. Mendenhall WM, Bland KI, Copeland EM, Summers GE, Pfaff WW, Soubra WW, Million RR. Does preoperative radiation therapy enhance the probability of local control and survival in high-risk distal rectal cancer? *Ann. Surg.* 215:696-706; 1992.
11. Ahmad NR, Marks G, Mohiuddin M. High-dose preoperative radiation for cancer of the rectum: Impact of radiation dose on patterns of failure and survival. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 27:773-778, 1993.
12. Valentini V, Coco C, Cellini N, Piccicocchi A, Genovesi D, Mantint G, Barbaro B, Cogliandolo S, Mattana C, Ambesi-Impiomato F, Tedesco M, Cosimelli M. Preoperative chemoradiation for extraperitoneal T3 rectal cancer: acute toxicity, tumor response, and sphincter preservation. *Int J Radiation Oncology Biol Phys* 40:1067-1075, 1998.
13. Chen ET, Mohiuddin M, Brodovsky H, Fishbein G, Marks G. Downstaging of advanced rectal cancer following combined preoperative chemotherapy and high dose radiation, *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 30:169-175, 1994.
14. Landry JC, Kroetz MJ, Wood WC, Bhan S, Smith RG, Costa M, Daneker GW, York MR, Sarma PR, Lynn M, Ward AA, McGinley PH, Davis LW. Preoperative irradiation and fluorouracil chemotherapy for locally advanced rectosigmoid carcinoma: Phase I-II Study. *Radiology* 188:423-426, 1993.
15. Minsky BD, Cohen AM, Kemeny N, Enker WE, Kelson DP, Reichman B, Saltz L, Sigurdson ER, Frankel J. Enhancement of radiation-induced downstaging of rectal cancer by fluorouracil and high-dose leucovorin chemotherapy. *J Clin Oncol* 10:79-84, 1992.
16. Chan A, Wong A, Langevin J, Khoo R. Preoperative concurrent 5-fluorouracil infusion, mitomycin-c and pelvic radiation therapy in tethered and fixed rectal carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 25:791-799, 1993.
17. Rich TA, Skibber JM, Ajani JA, et al: Preoperative infusional chemoradiation therapy for stage T3 rectal cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 32:1025-1029, 1995.
18. Mohiuddin M, Regine W, John W, Hagihara P, McGrath P, Kenady D, Marks G. Preoperative chemoradiation in fixed T4 distal rectal cancer: Dose time factors for pathological complete response. Presented at the 40th Annual Meeting of ASTRO, October 1998.
19. Minsky BD, Cohen AM, Enker WE, Kemeny N, Kelsen DP, Reichman B, et al. Combined modality therapy of rectal cancer: Decreased acute toxicity with the pre-operative approach. *J Clin Oncol* 1992;10:1218-1224.
20. Maghfoor I, Wilkes J, Kuvshinov B, Westgate S, Bryer M, Pery MC, et al. Neoadjuvant chemoradiotherapy with sphincter-sparing surgery for low lying rectal cancer. *Proc ASCO* 1997;16:274a (Abstract)
21. Grann A, Minsky BD, Cohen AM, Saltz L, Guillem JG, Paty PB, et al. Preliminary results of pre-operative 5-Fluorouracil (5-FU), low dose leucovorin, and concurrent radiation therapy for resectable T3 rectal cancer. *Dis Colon Rectum* 1997;40:515-522.
22. Marsh RW, Chu NM, Vauthey JN, Mendenhall WM, Lauwers GY, Bewsher C, et al. Preoperative treatment of patients with locally advanced unresectable rectal adenocarcinoma utilizing continuous chronobiologically shaped 5-fluorouracil infusion and radiation therapy. *Cancer* 1996;78:217-225.
23. Valentini V, Morganti AG, Fiorentino G, Luzzi S, Smaniotto D, Turriziani A, et al. Chemoradiation with raltitrexed (Tomudex) and concomitant preoperative radiotherapy has potential in the treatment of stage II/III resectable rectal cancer. *Proc ASCO* 1999;18:257a (Abstract)
24. James RD, Price P, Smith M. Raltitrexed (Tomudex) plus radiotherapy is well tolerated and warrants further investigation in patients with advanced inoperable/recurrent rectal cancer. *Proc ASCO* 1999;18:288a (Abstract)
25. Felii J, Calvillo J, Escibano A, De Castro J, Espinosa A, Ordonez A, et al. Neoadjuvant therapy of rectal carcinoma with UFT-folinic acid (LV) plus radiotherapy. *Proc ASCO* 1999;18:239a (Abstract)
26. Pfeiffer P. Concurrent UFT/L-leucovorin and curative intended radiotherapy (60 Gy) in patients with locally advanced rectal cancer (LARC): a phase I/II trial. *Proc ASCO* 2000;19:255a (Abstract)
27. Mitchell E, Ahmad N, Fry RD, Anne PR, Rakanic J, Goldstein SD, et al. Combined modality therapy of locally advanced or recurrent adenocarcinoma of the rectum: preliminary report of a phase I trial of chemotherapy (CT) with CPT-11, 5-FU, and concomitant irradiation (RT). *Proc ASCO* 1999;18:247a (Abstract)

28. Minsky BD, O'Reilly E, Wong D, Sharma S, Paty P, Guillem J, et al. Daily low-dose irinotecan (CPT-11) plus pelvic irradiation as preoperative treatment of locally advanced rectal cancer. *Proc ASCO* 1999; 18:266a (Abstract)
29. Anne P, Mitchell EP, Ahmad N, Fry RD, Rakinic J, Goldstein SD, et al. Radiosensitization in locally advanced adenocarcinoma of the rectum using combined modality therapy (CMT) with CPT-11, 5-fluorouracil, concomitant irradiation. *Proc ASCO* 2000;19:250a (Abstract)
30. Carraro S, Roca E, Cartelli C, Rafailovici L, Lougedo M, Wasserman E, et al. Oxaliplatin (OXA), 5-fluorouracil (5-FU) and leucovorin (LV) plus radiotherapy in unresectable rectal cancer (URC): preliminary results. *Proc ASCO* 2000;19:291a (Abstract)
31. Miwa M, Ura M, Nishida M, et al. Design of a novel oral fluoropyrimidine carbamate, capecitabine, which generates 5-fluorouracil selectively in tumours by enzymes concentrated in human liver and cancer tissue. *Eur J Cancer* 1998;34:1274.
32. Ishikawa T, Sawada N, Sekiguchi F, et al. Xeloda (capecitabine), a new oral fluoropyrimidine carbamate with an improved efficacy profile over other fluoropyrimidines. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1997;A79:6(abst).
33. Ishikawa T, Utoh M, Sawada N, et al. Tumor selective delivery of 5-fluorouracil by capecitabine, a new oral fluoropyrimidine carbamate, in human cancer xenografts. *Biochem Pharmacol* 1998;55:1091.
34. Schüller J, Cassidy J, Dumont E, et al. Preferential activation of capecitabine in tumor following oral administration in colorectal cancer patients. *Cancer Chemother Pharmacol* 2000, 45:291-7.
35. Coustere C, Menétré F, Sommadossi JP et al. A mathematical model of the kinetics of 5-fluorouracil and its metabolites in cancer patients. *Cancer Chemother Pharmacol* 1991, 28: 123-9.
36. Stein TA, Bailey B, Burns GP. Comparison of 5-fluorouracil anabolite levels after intravenous bolus and continuous infusion. *Cancer Chemother Pharmacol* 1994, 34:293-6.
37. Sawada N et al. (1999) X-ray irradiation induces thymidine phosphorylase and enhances the efficacy of capecitabine (Xeloda) in human cancer xenografts. *Clinical Cancer Research* Vol 5, 2948-2953
38. Makean M, Planting A, Twelves C et al. (1998) Phase I and pharmacologic study of intermittent twice-daily oral therapy with capecitabine in patients with advanced and/or metastatic cancer. *J Clin Oncol*; 16(9):2977-85
39. Beck A, Etienne MC, Cheradame S, et al. A role for dihydropyrimidine dehydrogenase and thymidylate synthase in tumour sensitivity to fluorouracil. *Eur J Cancer* 1994;30:1517.
40. Hoff PM, Ansari R, Batist G et al. Comparison of oral capecitabine versus intravenous fluorouracil plus leucovorin as first-line treatment in 605 patients with metastatic colorectal cancer: results of a randomized phase III study. *J Clin Oncol* 2001;19:2282-92.
41. Van Cutsem E, Twelves C, Cassidy J et al. Oral Xeloda® (capecitabine) compared with intravenous 5-fluorouracil plus leucovorin (Mayo Clinic regimen) in patients with metastatic colorectal cancer: results of a large phase III study. *J Clin Oncol*
42. Hoff PM. Capecitabine as first-line treatment for colorectal cancer (CRC): integrated results of 1207 patients (pts) from 2 randomized, phase III studies. On behalf of the Capecitabine CRC Study Group. *Ann Oncol* 2000;11(Suppl. 4):60 (Abstract 263).
43. Reese T, Tanner J, Frings S et al. Capecitabine combined with simultaneous radiotherapy in rectal cancer: a phase-I-study. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2000;48(3 Suppl.):120 (Abstract 20).
44. Tempero M, Brand R, Haldeman, K, et al.: New imaging techniques in colorectal cancer. *Semin Oncol*, 22, 1995, s. 448-471 cancer. *Semin Oncol*, 22, 1995, s. 448-471
45. Bernini A, Deen KI, Madoff RD, Wong WD. Preoperative adjuvant radiation with chemotherapy for rectal cancer: its impact on stage of disease and the role of endorectal ultrasound. *Ann Surg Oncol* 1996;3: 131-135.
46. Gastrointestinal Tumor Study Group. Prolongation of the disease-free interval in surgically treated rectal carcinoma. *N Engl J Med* 1985;312:1465.
47. Gastrointestinal Tumor Study Group. Adjuvant therapy of colon cancer: results of a prospectively randomized trial. *N Engl J Med* 1984;310:737.
48. Miller RC, Martenson JA, Sargent DJ, et al. Acute diarrhea during rectal adjuvant postoperative pelvic radiation therapy (RT) with or without 5-fluorouracil: a detailed analysis of toxicity from a randomized North Central Cancer Treatment Group study. *Proc ASCO* 1998;17:279a.
49. Minsky BD, Conti JA, Huang Y, Knopf K. The relationship of acute gastrointestinal toxicity and the volume of irradiated small bowel in patients receiving combined modality therapy for rectal cancer. *J Clin Oncol* 1995;13:1409.
50. O'Connell MJ, Martenson JA, Weiland HS, et al. Improving adjuvant therapy for rectal cancer by combining protracted infusion fluorouracil with radiation therapy after curative surgery. *N Engl J Med* 1994;331:502.
51. O'Connell M, Weiland H, Krook J, et al. Lack of value for methyl CCNU as a component of effective rectal cancer surgical adjuvant therapy. Interim analysis of intergroup protocol 86-47-51. *Proc ASCO* 1991;10:134.
52. Tepper JE, O'Connell MJ, Petroni GR, et al. Adjuvant postoperative fluorouracil-modulated chemotherapy combined with pelvic radiation therapy for rectal cancer: initial results of Intergroup 0114. *J Clin Oncol* 1997;15:2030.
53. Francois Y, Nemoz CJ, Baulieux J, Vignal J, Grandjean JP, Partensky C, et al. A influential of the interval between preoperative radiation therapy and surgery on downstaging and on the rate of sphincter-sparing surgery for rectal cancer: The Lyon R90-01 randomized trial. *J Clin Oncol* 1999;17:2396-2402.
54. Hyams DM, Mamounas EP, Petrelli N, Rockette H, Jones J, Weiland S, et al. A clinical trial to evaluate the worth of preoperative multimodality therapy in patients with operable carcinoma of the rectum. A progress report of the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project protocol R0-3. *Dis Colon Rectum* 1997;40:131-139.
55. Maghfoor I, Wilkes J, Kuvshinov B, Westgate S, Bryer M, Perry MC, et al. Neoadjuvant chemoradiotherapy with sphincter-sparing surgery for low lying rectal cancer. *Proc ASCO* 1997;16:274a (Abstract)
56. Grann A, Feng C, Wong D, Saltz L, Paty P, Guillem J, et al. Pre-op combined modality therapy (CMT) for uT3 rectal cancer. *Proc ASCO* 2000;19:249a (Abstract)
57. Valentini V, Coco C, Cellini N, Genovesi D, Mantini G, Barbaro B, et al. Preoperative chemoradiation for extraperitoneal T3 rectal cancer: acute toxicity, tumor response, and sphincter preservation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1998;40:1067-1075.
58. Chari RS, Tyler DS, Anscher MS, Russel L, Clary BM, Hathorn J, et al. Preoperative radiation and chemotherapy in the treatment of adenocarcinoma of the rectum. *Ann Surg* 1995;221:778-787.
59. Grann A, Feng C, Wong D, Saltz L, Paty P, Guillem J, et al. Pre-op combined modality therapy (CMT) for uT3 rectal cancer. *Proc ASCO* 2000;19:249a (Abstract)
60. Stryker SJ, Kiel KD, Rademaker A, Shaw JM, Ujiki GT, Poticha SM. Preoperative „chemoradiation“ for stages II and II rectal carcinoma. *Arch Surg* 1996;131:514-519.
61. Rich TA, Skibber JM, Ajani JA, Buchholz DJ, Cleary KR, Dubrow RA, et al. Preoperative Infusional chemoradiation therapy for stage T3 rectal cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1995;32:1025-1029.
62. Rich TA. Infusional chemoradiation for operable rectal cancer: post-, pre-, or nonoperative management? *Oncology* 1997;11:295-315.
63. Kaminsky-Forrester MC, Conroy T, Luporsi E, et al. Prognostic implications of downstaging following preoperative radiation therapy for operable T3-T4 rectal cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1998;42:935.
64. Ahmad NR, Nagle DA, Topham A. Pathologic complete response predicts long-term survival following preoperative radiation therapy for rectal cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1997;39:284
65. Habr-Gama A, Santinho B, de Souza PM, et al. Low rectal cancer. Impact of radiation and chemotherapy on surgical treatment. *Dis Colon Rectum* 1998;41:1087
66. Ahmad NR, Nagle DA. Preoperative radiation therapy followed by local excision. *Semin Radiat Oncol* 1998;8:36.

DOCETAXEL V LÉČBĚ POKROČILÉHO NEMALOBUNĚČNÉHO KARCINOMU PLIC

DOCETAXEL IN THE TREATMENT OF ADVANCED NON-SMALL CELL LUNG CANCER

KATOLICKÁ J.

ODDĚLENÍ KLINICKÉ A RADIAČNÍ ONKOLOGIE, FAKULTNÍ NEMOCNICE U SVATÉ ANNY, BRNO

Souhrn: V letech 1980 až 1990 chemoterapie založená na platině prokázala prodloužení přežití pacientů s metastatickým nemalobuněčným karcinomem plic. V poslední dekádě se v terapii těchto nemocných uplatňují nová cytostatika. V I. linii terapie nemalobuněčného bronchogenního karcinomu je monoterapií docetaxelem dosaženo léčebné odpovědi u 39 % pacientů. Průměrná doba přežití je 9 měsíců a 39 % nemocných přežívá jeden rok. Docetaxel jako první prokázal efektivitu i v II. linii, kde se léčebné odpovědi v monoterapii pohybují kolem 20 %. V trialech srovnávajících docetaxel 75 mg/m² versus podpůrná péče bylo prokázáno prodloužení přežití nemocných léčených chemoterapií. U pokročilého nemalobuněčného bronchogenního karcinomu je docetaxel podáván také v kombinačních režimech, a to zejména s cisplatinou, carboplatinou, gemcitabinem a vinorelbinem. V práci jsou uvedena data, která podporují týdenní aplikaci docetaxelu v této indikaci.

Klíčová slova: pokročilý nemalobuněčný bronchogenní karcinom, docetaxel, chemoterapie, léčebná odpověď, přežití, podpůrná terapie, docetaxel v týdenním podání

Summary: In the 1980s and 1990s platinum-based chemotherapy was shown to improve survival in patients with metastatic non-small cell lung cancer (NSCLC). Over the last decade a range of new agents has become available for treatment of patients with NSCLC. Docetaxel, in particular, is the first drug shown to be beneficial in the second-line setting. Used first line in NSCLC, single-agent docetaxel produces a pooled response rate of approximately 31% with median survival exceeding 9 months and 39% overall one-year survival. Used second-line, the response rate to single agent docetaxel in phase II trials is approximately 20%. In the trial docetaxel versus best supportive care, docetaxel 75 mg/m² produced survival advantages compared with the control patients who received supportive care only. Docetaxel also has been extensively studied in combination regimens, particularly with cisplatin, carboplatin, gemcitabine and vinorelbine. These combinations have shown substantial activity. We present data supporting the use of weekly docetaxel and achieving toxicity benefits that are not bought at the expense of antitumor efficacy.

Key words: advanced non-small cell lung cancer, docetaxel, chemotherapy, response rate, survival, supportive care, weekly docetaxel

Nádory plic představují jeden se závažných terapeutických problémů současné onkologie. Nejvíce pacientů, asi 33 % - 40 %, přichází s lokálně pokročilým či metastatickým onemocněním, což výrazně snižuje terapeutické možnosti.

Nemalobuněčný bronchogenní karcinom představuje 75 % - 80 % všech plicních nádorů. Jeho terapie prošla dlouhým vývojem - a to od alkylačních látek přes platinové deriváty až k cytostatikům III. generace jako vinorelbin, gemcitabin, irinotekan a zejména taxany - paclitaxel, docetaxel. Efektivita těchto preparátů není pouze v prodloužení přežití či větším počtů odpovědí na léčbu, ale také ve zlepšení kvality života a redukcí symptomů u onkologicky nemocných.

Docetaxel: látka přírodního původu, původně izolován z jehličí evropského tisů (*Taxus baccata*). Mechanismus jeho účinku spočívá v inhibici depolymerizace mikrotubulů. Efekt docetaxelu a taxanů obecně lze shrnout do 5 bodů:

1. eliminují funkci mikrotubulů při mitose
2. omezují buněčnou motilitu, transport intracelulárních granulí a sekreci humorálních působků z buněk
3. inhibují angiogenesi
4. prokazují antimetastatickou aktivitu prostřednictvím inhibice matrix metaloproteinás
5. indukují Bcl - 2 fosforylaci a apoptosu

Ve studiích fáze I byla doporučena dávka docetaxelu pro tří-týdenní podání 75 mg/m² až 100 mg/m². Jedním z nežádoucích účinků byly edémy a retence tekutin, které ale po dostatečné premedikaci dexamethasonem dosahovaly minimálních počtů.

Docetaxel v tří-týdenním schématu podání

Monoterapie

Studie fáze II

Ve studiích fáze II u nepředléčených pacientů s lokálně pokročilým či metastatickým onemocněním, kde pacienti ve stadiu IV představovali většinu, byl docetaxel aplikován v dávce 100 mg/m² v 3týdenním intervalu za premedikace kortikoidy. Byly zaznamenány léčebné odpovědi od 21 % do 33 %, medián přežití přibližně 9 měsíců (v rozmezí 6 až 11 měsíců), jednorocní přežití 39 %⁽¹⁻⁴⁾, viz tab. 1.

Toxicita při tomto dávkování byla významná, ale akceptovatelná, nejčastěji se jednalo o neutropenii G4. Febrilní neutropenie byla u 19 % pacientů, retence tekutin v méně než 1 %. Docetaxel byl ve studiích fáze II také aplikován v dávce 75 mg/m²⁽⁵⁾ a v Japonsku v dávce 60 mg/m²^(6,7). U 167 pacientů léčených 60 mg/m² byl medián trvání odpovědi 42 týdnů a jednorocní přežití 41 %.

Tab. 1: Docetaxel v třítydenním schématu - studie fáze II.

studie	počet pacientů	léčebná odpověď	odpověď; medián	jednoroční přežití
		(%)	(měsíce)	(%)
Fossela ⁽¹⁾	39	33	11	45
Francis ⁽²⁾	29	38	6	22
Burris ⁽³⁾	48	27	7	nehodnoceno
Cerny ⁽⁴⁾	42	21	11	nehodnoceno
celkem	158	29	9	39

Studie fáze III**TAX 317**

Prospektivní randomizovaná studie TAX 317 srovnává docetaxel 75 mg/m², docetaxel 100 mg/m² versus podpůrná péče (BSC) u pacientů s nemalobuněčným bronchogenním karcinomem předléčených chemoterapií s platinovým derivátem ve stadiu IIIB/IV, nemocní předléčení paclitaxelem byli ze studie vyřazeni.⁽⁸⁾ Výsledky jednoznačně ukazují benefit pro monoterapii docetaxelem a to zejména v dávce 75 mg/m². Viz tab. 2.

Tab. 2: TAX 317: 2. linie léčby NSCLC.

	celkem	docetaxel 75 mg/m ²	docetaxel 100 mg/m ²	BSC
počet pacientů	103	55	48	100
odpověď (%)				
PR	7,1	7,1	7,1	-
SD	42,7	47,3	37,5	-
PD	33,0	32,7	33,3	-
nehodnoceno (%)	8,4	14,5	22,9	-
doba trvání odpovědi;				
medián (měsíce)	5,8	5,8	5,3	
přežití; medián (měsíce)	7,0	7,5	5,9	4,6
jednoleté přežití (%)	29	37	19	19

Febrilní neutropenie byla zaznamenána u 12 pacientů (3 úmrtí, všichni při dávce 100 mg/m²). Viz tab. 3.

Tab. 3: TAX 317: toxicita G 3/4.

	docetaxel 75 mg/m ²	docetaxel 100 mg/m ²	BSC
počet pacientů	55	49	100
Hematologická toxicita (%)			
Neutropenie	67,3	85,7	-
febrilní neutropenie	1,8	22,4	-
úmrtí na sepsi	0	6,1	-
Trombocytopenie	0	2,0	-
Nehematologická toxicita (%)			
průjem	1,8	4,1	0
retence tekutin	0	0	0
neuromotorická	1,8	4,1	3,0
plicní	20,0	36,7	30,0

Studie fáze III**TAX 320**

Další randomizovaná studie fáze III, která probíhala v 23 centrech ve Spojených státech s názvem TAX 320⁽¹⁰⁾, srovnáva-

la docetaxel 75 mg/m², docetaxel 100 mg/m² i. v. v 3týdenních intervalech v 1hodinové infúzi s kontrolním ramenem vinorelbin 30 mg/m² i. v. den 1, 8, 15 v intervalu 3 týdny nebo ifosfamid 2 g/m² i. v. den 1 - 3 v intervalu 3 týdny; všichni pacienti byli předléčení chemoterapeutickým režimem založeným na platinovém derivátu.

Více jak 85 % nemocných bylo ve stadiu IV a více jak 1/3 byla předléčená paclitaxelem. Do studie bylo zařazeno 373 pacientů, 125 léčeno docetaxelem 100 mg/m², 125 docetaxelem 75 mg/m², 89 v kontrolní skupině léčeno vinorelbinem a 34 ifosfamidem.

Parciální remise byla zaznamenána v 11 % u ramena s docetaxelem 100 mg/m², v 7 % u docetaxelu 75 mg/m² a v 1 % u kontrolního ramena vinorelbin/ifosfamid. Doba trvání odpovědi 9,1 měsíce byla nejdelší u docetaxelu 75 mg/m² a rovněž nejdelší bylo jednoleté přežití s 32 %.

Tab. 4: TAX 320: 2. linie léčby NSCLC.

	docetaxel 75 mg/m ²	docetaxel 100 mg/m ²	vinorelbin/ifosfamid
počet pacientů	125	125	123
odpověď - PR (%)	8	12	1
doba trvání odpovědi;			
medián (měsíce)	9,1	7,5	5,9
přežití; medián (měsíce)	5,7	5,5	5,6
jednoleté přežití (%)	32	21	19

Z toxicity byla neutropenie G 4 nejvíce zaznamenána u obou ramen s docetaxelem - 54 % u docetaxelu 75 mg/m², 77 % u docetaxelu 100 mg/m², v kontrolním rameni vinorelbin/ifosfamid 30 %. Byla zaznamenána 4 úmrtí související s terapií, 2 u docetaxelu 100 mg/m², a 2 u kontrolního ramene vinorelbin/ifosfamid.

Když se podíváme na další tabulku (tab. 5), která srovnává odpovědi u pacientů předléčených paclitaxelem v předchozích chemoterapeutických režimech, zjistíme že nebyl zaznamenán žádný rozdíl. Z toho vyplývá, že docetaxel lze použít i u pacientů předléčených paclitaxelem.

Tab. 5: TAX 320: pacienti předléčení paclitaxelem.

	docetaxel 75 mg/m ²	docetaxel 100 mg/m ²	vinorelbin/ifosfamid
A. všichni pacienti			
počet pacientů	125	125	123
jednoleté přežití (%)	21	32	19
B. pacienti nepředléčení paclitaxelem			
počet pacientů	86	73	73
jednoleté přežití (%)	23	33	20
C: pacienti předléčení paclitaxelem			
počet pacientů	39	52	50
jednoleté přežití (%)	16	30	17

Kombinované režimy

Docetaxel a platinové deriváty

Docetaxel + cisplatina

Ve třech studiích fáze I⁽¹¹⁻¹³⁾ byla prokázána účinnost kombinace cisplatina/docetaxel, a jako dávky pro další studie fáze II byli doporučeni pro docetaxel 75 mg/m² a cisplatinu 75 až 100 mg/m², dle japonských studií se jednalo o dávky doceta-

xel 60 mg/m² a cisplatina 80 mg/m². Odpovědi v těchto raných trialech byly 46 %, 44 %, 48 %.

V tabulce č. 6 je uvedeno 9 studií fáze II (14 - 22), které ukazují, že odpovědi u pacientů s lokálně pokročilým či metastatickým onemocněním bez předchozí chemoterapie, léčených kombinací docetaxel/cisplatina se pohybují od 32 % do 52 %, medián přežití je 8 až 12 měsíců a jednorocní přežití 33 % až 48 %.

Tab. 6: Kombinace docetaxel + cisplatina, studie fáze II.

studie	docetaxel (mg/m ²)	cisplatina (mg/m ²)	počet pacientů	léčebná odpověď (%)	přežití; medián (měsíce)
Le Chevalier (14)	75	100	51	34	8
Zalcberg (15)	75	75	47	39	10
Belani (16)	75	75	47	32	11,5
Fader (17)	75	75	56	48	NH
Cole (18)	65	100	10	50	9
Androulakis (19)	100	80	50	49	14
Kim (20)	75	75	28	50	NH
Georgoulis (21)	100	80	53	45	12
Mattson (22)	100	120	44	33	9

NH = nehodnoceno

Při hodnocení toxicity G 3/4 ve studiích fáze II byla prokázána neutropenie v 51 %, febrilní neutropenie ve 14 %, neurotoxicita ve 4 %, anemie 5 %, trombocytopenie 2 %.

Docetaxel + carboplatina

Vzhledem k neurotoxicitě při aplikaci cisplatinu v kombinaci s docetaxelem proběhly dvě studie fáze I, autoři Giannakakis (23) a spol. s a Belani a spol. (24) V další studii fáze II Belani a spol. (25) aplikoval docetaxel 80 mg/m² a carboplatinu AUC 6, v této kombinaci bylo dosaženo odpovědi 36 % u 33 pacientů a medián trvání odpovědi byl 13,7 měsíce, incidence neutropenie G 3/4 79 %, febrilní neutropenie v 12 %, trombocytopenie G 3/4 a anemie G 3/4 v 3 %, neuropatie v 1 %. Tabulka 7 ukazuje dalších pět trialů (26-30) fáze II v první linii terapie pokročilého nemalobuněčného bronchogenního karcinomu, kde se odpovědi pohybují od 30 % do 67 %.

Tab. 7: Kombinace docetaxel a carboplatina v první linii léčby NSCLC - studie fáze II.

autor	docetaxel (mg/m ²)	carboplatina AUC(mg/ml/min)	počet pacientů	léčebná odpověď (%)
Schutte (26)	80	5	30	30
Capozzoli (27)	80	6	27	48
Griesinger (28)	100	7,5	15	67
Millward (29)	75	6	45	37
Arcenas (30)	65	6	10	30

TAX 326

Multicentrická, randomizovaná studie TAX 326 fáze III (31) srovnávající docetaxel + cisplatinu (DC) a docetaxel + carboplatinu (DCb) versus vinorelbin + cisplatinu (VC) u nepředlčených pacientů s pokročilým nemalobuněčným bronchogenním karcinomem srovnávala na 1220 pacientech efektivitu a toleranci schématu docetaxel 75 mg/m² v 1hodinové infuzi s cisplatinou 75 mg/m² každých 21 dní nebo docetaxel 75 mg/m² v 1hodin-

nové infuzi následovaný carboplatinou AUC 6 každých 21 dní s kontrolním ramenem vinorelbin 25 mg/m²/týden a cisplatina 100 mg/m² každých 28 dní.

Dexamethason byl podáván 8 mg p. o. x 6 dávek, začínající večer před každou aplikací infuze docetaxelu.

Z hlediska toxicity stupně G 3/4 byla neutropenie G 4 srovnatelná ve všech ramenech - DC 51,1 %, DCb 49,6 %, VC 53,0 %. Febrilní neutropenie DC 4,2 %, DCb 3,8 %, VC 4,7 %, z nehematologické toxicity byl statisticky významný rozdíl u zvracení, kde v rameni vinorelbin/cisplatinu se jednalo o 15,8 %, u DC 7,9 % a DCb 4,5 %. Hodnoceno bylo jednoleté a 2leté přežití pacientů. Viz tab. 8

Tab. 8: TAX 326 - první linie léčby NSCLC, přežití.

přežití	docetaxel/ cisplatina	docetaxel/ carboplatina	vinorelbin/ cisplatina
medián (měsíce)	10,9	9,1	10,0
jednoleté přežití (%)	47	38	42
2leté přežití (%)	21	16	14

Studie prokázala delší přežití v rameni docetaxel/cisplatinu a vinorelbin/cisplatinu a srovnatelné docetaxel/carboplatinu vs vinorelbin/cisplatinu.

Neplatinové kombinace

Vzhledem k efektivitě, toxicitě, nutnosti hydratace a v neposlední řadě i v některých centrech i nutnosti hospitalizace pacienta při aplikaci cisplatinu jsou nyní v popředí pozornosti kombinace neplatinových derivátů.

Kombinace docetaxel + gemcitabin

Docetaxel i gemcitabin jsou cytostatika účinná v terapii nemalobuněčného bronchogenního karcinomu. Gemcitabin v monoterapii dosahuje odpovědi 21 - 26 %.

Kombinace docetaxelu s gemcitabinem v 80 - 100 % dávky užívané v monoterapii je aktivní a dobře tolerovatelná u nepředlčených pacientů s lokálně pokročilým či metastatickým nemalobuněčným bronchogenním karcinomem. Ve čtyřech studiích fáze II (32 - 35) se léčebná odpověď pohybuje od 31 % do 54 %. Data z randomizovaných studií fáze II, ve kterých se srovnával docetaxel + cisplatinu vs docetaxel + gemcitabin, jsou z hlediska efektivit srovnatelná, ale s nižší toxicitou.

Georgoulis a spol. (36) randomizoval 317 pacientů - docetaxel 100 mg/m² den 1 + cisplatinu 80 mg/m² den 2 versus docetaxel 100 mg/m² den 8 + gemcitabin 1100 mg/m² den 1,8 za podpory růstových faktorů. U pacientů léčených docetaxelem a cisplatinou byl medián přežití 10 měsíců a jednoleté přežití 42 %, v rameni docetaxel + gemcitabin to bylo 9,5 měsíce a 38 %. Z hlediska toxicity G 3/4 byla ale v kombinaci docetaxel + gemcitabin signifikantně nižší neutropenie, průjem, nevolnost, zvracení.

Multicentrická otevřená randomizovaná studie fáze II (ILCP 01/2001) - Italian Lung Cancer Project, srovnává 2 rozdílné kombinace docetaxelu a gemcitabinu a sekvenční terapii gemcitabin + cisplatinu následovanou docetaxelem v první linii u pacientů s neresekabilním lokálně pokročilým (stadium IIIb s N3 supraklavikulárním nebo T4 s pleurálním výpotkem) nebo metastatickým onemocněním.

Kombinace s vinorelbinem

Mezi docetaxelem a vinorelbinem byla na tkáňových kultuřích prokázána aditivní nebo synergická interakce, která je optimální v případě, že docetaxel je podáván bezprostředně po vinorelbinu. Obě cytostatika působí na mikrotubuly ale mechanismus jejich cytotoxicity je rozdílný, oba inaktivují bcl - 2 a usnadňují apoptosu. (37)

Studie fáze I prováděná v Memorial Sloan Kettering, kdy byl podán vinorelbin v dávce 15 mg/m² během 3 dnů spolu s apli-

kací docetaxelu den 1 v intervalu 3 týdnů vedla k febrilní neutropenii všech 4 pacientů a ukázala se jako velmi toxická⁽³⁸⁾. Naopak 2týdenní schéma zahrnující vinorelbin 45 mg/m² následovaný docetaxelem 60 mg/m² bylo z hlediska neutropenie G 3/4 a febrilní neutropenie více akceptovatelné, léčebná odpověď byla zaznamenána v 37 %.⁽³⁹⁾

Ze studií fáze I vyšly jako nejvíce tolerovatelné studie Schillera a spol.⁽³⁹⁾ (docetaxel 60 mg/m² den 1 a vinorelbin 15 mg/m² týdně), Douillarda a spol.⁽⁴⁰⁾ (docetaxel 85 mg/m² den 8 + vinorelbin 25 mg/m² den 1,8; léčebná odpověď byla 35 %). Jonson a spol.⁽⁴¹⁾ použili týdenní režim - docetaxel 20 - 30 mg/m² a vinorelbin 20 mg/m² - o této studii se zmíníme dále v textu.

V tabulce č. 9 přinášíme přehled studií fáze II⁽⁴²⁻⁴⁴⁾. Léčebná odpověď ve 4 uvedených studiích se pohybovala od 22 % do 51 %, kombinace docetaxel + vinorelbin byla dobře tolerovatelná. Leukopenie a febrilní neutropenie byly jedním z hlavních nežádoucích efektů této kombinace, naopak výskyt neuropatie G 3/4 byl velmi nízký.

Tab. 9: Docetaxel + vinorelbin - studie fáze II.

		Kourousis ⁽⁴²⁾	Trillet ⁽⁴³⁾	Krug	Walls ⁽⁴⁴⁾
počet pacientů		46	39	35	71
režim	docetaxel (mg/m ²)	75 d 1	100 d 2	60 d 1	60 d 1
	vinorelbin (mg/m ²)	20 d 1,5	25 d 1	45 d 1	16 d 1,8,15
		Q 3 týdny	Q 3 týdny	Q 2 týdny	Q 3 týdny
			+G - CSF	+G - CSF	
efekt	léčebná odpověď (%)	37	23	51	22
	přežití; medián (měsíce)	5	9,4	14	NH
	jednoleté přežití (%)	24	31	60	35
toxicita	neutropenie G 4 (%)	46	85	54	NH
	febrilní neutropenie (%)	24	41	14	4
	mucositis G 3/4 (%)	2	46	0	10
	neuropatie G 3/4 (%)	2	0	0	NH

NH=nehodnoceno

Kombinace docetaxel + irinotekan

Studie fáze I/II docetaxel + irinotekan proběhly v 3-, 4- a 6týdenních schématech⁽⁴⁵⁻⁴⁸⁾. Jeden randomizovaný trial fáze II⁽⁴⁹⁾ srovnával docetaxel 60 mg/m² + cisplatina 80 mg/m² den 1 (DC) s docetaxel den 8 + irinotekan 60 mg/m² den 1, 8 (DI), zahrnutí byli pacienti s lokálně pokročilým nebo metastatickým nemalobuněčným bronchogenním karcinomem. Léčebná odpověď DC 37,3 % vs DI 31,6 %; medián přežití DC 49,5 týdne a DI 46,4 týdne, jednoleté přežití bylo 48,6 % v rameni docetaxel + cisplatina a 41,4 % v rameni docetaxel + irinotekan. Nebyl výraznější rozdíl ve výskytu myelosuprese - neutropenie G DC 74,5 % vs DI 82,5 %. V rameni docetaxel + cisplatina byla vyšší incidence nevolnosti/zvracení (DC 86,0 % vs 52,0 %), naopak vyšší procento průjmů bylo v rameni s irinotekánem (DI 43,9 % vs DC 22,0 %)

Docetaxel v týdenním podání

Jak bylo uvedeno v předchozích kapitolách, docetaxel prokázal efektivitu při terapii nemalobuněčného bronchogenního karcinomu v první i druhé linii u třítydenního podání. Společným negativním účinkem tohoto dávkování je ale myelosuprese a často nutné redukce dávek. Hainsworth a spol. studií fáze I⁽⁵⁰⁾ stanovil, že 43 mg/m² je maximálně tolerovatelná dávka, když byl docetaxel podáván 6 po sobě jdoucích týdnů. Myelosuprese byla minimální a dávku limitující toxicitou byla astenie a únava. Jako dávka s minimální toxicitou bylo stanoveno 36 mg/m² a týden.

Monoterapie

První linie léčby

Hainsworth a spol ve studii fáze II⁽⁵¹⁾ hodnotil proveditelnost, toxicitu a efektivitu týdenního podání docetaxelu v terapii nepředléčených pacientů nad 65 let nebo pacientů pod 65 let, ale s přidruženými chorobami, s diagnosou lokálně pokročilého či metastatického nemalobuněčného bronchogenního karcinomu. Docetaxel byl aplikován v dávce 36 mg/m² v 1hodinové infuzi 6 po sobě jdoucích týdnů s 2 týdny bez terapie, přešetření bylo provedeno po 8 týdnech terapie, při odpovědi pacienti pokračovali v týdenní aplikaci s maximem 32 týdnů nebo do progresu. Premedikace zahrnovala dexamethason v dávce 8 mg po 12 hodinách ve 3 dávkách se začátkem 12 hodin před podáním docetaxelu. Tolerance týdenní aplikace docetaxelu byla výborná - leukopenie G 3 pouze v 8 %, žádná leukopenie G 4, nehematologická toxicita G 3-únava/astenie v 10 %. Objektivní odpověď zaznamenali v 18 %, a stabilizaci onemocnění nebo minimální regresi po prvním hodnocení v 34 %. Medián přežití byl 5 měsíců, jednoroční přežití 27 %. Léčebná odpověď pro pacienty ECOG PS 0 - 1 byla 26 % versus 6 % pro pacienty s ECOG PS 2; jednoroční přežití bylo bez signifikantního rozdílu pro obě skupiny (32 % vs 24 %).

Druhá linie léčby

Docetaxel prokázal v monoterapii efektivitu i v terapii 2. linie pokročilého nemalobuněčného bronchogenního karcinomu (Fossela, ASCO 1999)⁽⁵²⁾. V tomto trialu při podání docetaxelu v dávce 75 mg/m² v 21denním intervalu byla léčebná odpověď 12 % a neutropenie G 4 zaznamenána v 54 %. Lilienbaum a spol.⁽⁵³⁾ hodnotil docetaxel v dávce 36 mg/m² podávaných ve schématu 6 + 2 týdny, hodnoceno bylo 22 pacientů, nebyla zaznamenána žádná anemie a trombocytopenie G 3/4, žádná neutropenie G 4, neutropenie G 3 v 13 %, z nehematologické toxicity byl nejvíce obtěžující průjem (27 %). Parciální remise byla zaznamenána v 12 %, stabilizace onemocnění v 25 % po prvním cyklu. Serke a spol.⁽⁵⁴⁾ podával docetaxel 35 mg/m² týdně ve schématu 6 + 2 týdny, podáno bylo 164 cyklů, hematologická ani nehematologická toxicita G 4 nebyla zaznamenána, pro odpověď bylo hodnoceno 24 pacientů - parciální remise v 17 %, stabilizace onemocnění či minimální odpověď v 37 %.

Garcia - Lopez a spol.⁽⁵⁵⁾ na ASCO 2000 prezentoval předběžné výsledky aplikace docetaxel 43 mg/m² týdně opět ve schématu 6 + 2 týdny u pacientů předléčených platinovými deriváty, leukopenie G 3/4 nebyla zaznamenána, anemie G 3 v 0,6 %, trombocytopenie G 3 v 1,2 %; z nehematologické toxicity G3 průjem a alergická reakce po předchozí premedikaci dexamethasonem pouze v 0,6 %. Medián přežití 12 měsíců, jednoleté přežití 46 %.

Kombinace docetaxel týdně + jiné cytostatikum

Kombinace docetaxel + gemcitabin

Docetaxel týdně + gemcitabin týdně - studie fáze II⁽⁵⁶⁾ - docetaxel byl aplikován v dávce 30 mg/m² v 30minutové infuzi den 1, 8, 15 a gemcitabin 800 mg/m² i. v. den 1, 8, 15, ve schématu 3 + 1, pacienti byli hodnoceni po 2 cyklech, z 59 hodnocených pacientů (zařazeno bylo 64) objektivní odpověď v 27 %, stabilizaci onemocnění či minimální regresi mělo 46 %. Vzhledem ke krátkému času sledování je zatím vyhodnoceno pouze medián přežití - 7,5 měsíce ve srovnání s monoterapií (5,5 měsíce), leukopenie G 3/4 v 11 %, trombocytopenie G 3/4 také v 11 %.

Studie fáze I (Ohe a spol.)⁽⁵⁷⁾ kombinovala docetaxel týdně s cisplatinou u kombinované skupiny pacientů jak mladších (medián věku 54 let) tak starších (medián 76 let). Jako optimální dávku pro studii fáze II doporučila pro mladší pacienty cisplatinu 25 mg/m² + docetaxel 35 mg/m² den 1, 8, 15 ve schématu 3 + 1, a pro starší pacienty cisplatinu 25 mg/m² + docetaxel 20 mg/m² ve stejném týdenním podání.

Kombinace docetaxel + vinorelbin

Další studie fáze I (Johnston a spol.)⁽⁵⁸⁾ jako týdenní režim pro kombinaci docetaxel + vinorelbin doporučil do dalších studií fáze II docetaxel v dávce 25 mg/m² a vinorelbin 20 mg/m² bez podpory růstových faktorů, v případě podání G - CSF docetaxel 35 mg/m²/týden a vinorelbin 20 mg/m²/týden.

Trojkominační režimy v týdenním podání

Pectasides a spol. ve studii fáze II⁽⁵⁹⁾ hodnotil týdenní podání carboplatina AUC 2, docetaxel 20 mg/m², irinotekan 60 mg/m² den 1, 8, 15 každých 5 týdnů. ORR byl 56 %, medián času do progresu 9, 6 měsíce, medián přežití 14,8 měsíce a jednoroční přežití 55 %, neutropenie G 3/4 byla u 26 % pacientů, průjem G 3/4 u 28 %, nevolnost/zvracení G 3/4 u 18 %, neurotoxicita G 3/4 u 10 %.

Závěr

Souhrnně lze podle posledních informací hodnotit postavení docetaxelu v léčbě NSCLC takto:

Uvedený přehled jednotlivých studií fáze II a III prokazuje, že

docetaxel v léčbě pokročilých forem plicní rakoviny dosahuje stejné úrovně efektivity jako ostatní cytostatika III generace. Jeho výhodou je bezpečnost podání za premedikace kortikoidy, přijatelná je hematologická i nehematologická toxicita při dávce 75 mg/m² a intervalu 3 týdnů. Dále efektivity jak v monoterapii, tak v kombinovaných režimech s platinovými či neplatinovými deriváty v terapii 1. linie pro pokročilý nemalobuněčný bronchogenní karcinom.

Pro nemocné léčené týdenními režimy v 2. linii terapie je nespornou předností docetaxelu účinnost a dobrá tolerance. Platí to i u pacientů předléčených v 1. linii paclitaxelem - díky nezkřížené rezistenci těchto preparátů.

Týdenní podání je také vhodnou terapií starších pacientů a pacientů v horším klinickém stavu.

Na základě předložených informací u pokročilých forem nemalobuněčného bronchogenního karcinomu nyní probíhá řada studií s využitím docetaxelu v neoadjuvantní terapii lokálně pokročilých plicních nádorů. Pro své radiosenzibilizační vlastnosti je v klinických studiích zkoušen v konkomitantní chemoradioterapii inoperabilních tumorů ve stadiu III.

Literatura

1. Fossella FV, Lee JS, Murphy WK Phase II study of docetaxel in patient of recurrent or metastatic non - small cell lung cancer J. Clin Oncol 12: 1238 - 1244, 1994
2. Francis P, Rigas JR, Kris MG et al. Phase II trial of docetaxel in patients with stage III and IV non - small cell lung cancer J Clin Oncol 12: 1232 - 1237, 1994
3. Burris H, Eckhardt J, Fields S et al. Phase II trial of Taxotere with non - small cell lung cancer Proc Am Soc Clin Oncol 12: 335 1993 abstr 1116
4. Cerny T, Kaplan S, Pavlidis N et al: Docetaxel (Taxotere) is active in non - small cell lung cancer: A phase II trial of the EORTC Early clinical Trials Group, Br J Cancer 70: 384 - 387, 1994
5. Miller VA, Rigas JR, Kris MG et al. Phase II trial of docetaxel in patient with stage III and IV non - small cell lung cancer J Clin Oncol 12: 1232 - 1237, 1994
6. Kudo S, Hino M, Fujita A et al Late phase II clinical study of RP (docetaxel) in patients with non small cell lung cancer. Gan To Kagaku Ryoho 21: 2617 - 2623, 1994
7. Kawahara M, Furuse K, Wantabe K et al, Phase II studies of docetaxel in patients with non -small cell lung cancer (NSCLC) Ann Oncol 5: 148, 1994 suppl 7
8. Frances A, Shepherd, Frank V, Fossella, Thoms Lynch, J, Armand, J, Rigas, M, Kris, Docetaxel (Taxotere) shows survival and Quality of Life benefits in second - line treatment of non small cell lung cancer, A review of two phase III trials
9. Shepherd F, Dancey J, Ramlau R et al: A prospective randomized trial of docetaxel (Taxotere) versus best supportive care in patients with non - small cell lung cancer previously treated with platinum - based chemotherapy J Clin Oncol 18: 2095 - 2103, 2000
10. Fossella F, Devore R, Kerr R et al: Randomized phase III trial of docetaxel versus vinorelbine or ifosfamide in patients with advanced non -small cell lung cancer previously treated with a platinum containing agent J Clin Oncol 18: 2354 - 2363, 2000
11. Cole JT, Gralla RJ, Marques CB et al: Phase I/II study of cisplatin and docetaxel in non small cell lung cancer Proc Am Soc Clin Oncol 14: 1087, 1995
12. Millward MJ, Zalberg J, Bishop JF et al: Phase I trial of docetaxel and cisplatin in previously untreated patients with advanced non -small cell lung cancer J Clin Oncol 15: 750 - 758, 1997
13. Watanabe K, Hayashi I, Segawa Z et al: Phase I/II study of docetaxel and cisplatin in previously untreated metastatic non - small cell lung cancer Ann Oncol 9: 91, 1998 (suppl4) (abstr 437P)
14. Le Chevalier T, Monnier A, Douillard JZ, et al: Docetaxel (Taxotere) plus cisplatin: An active alternative and well tolerated combination in patients with advanced non small cell lung cancer. Eur J Cancer 34: 2032 - 2036, 1998
15. Zalberg J, Millward M, Bishop J et al: Phase II study of docetaxel and cisplatin in advanced non - small cell lung cancer J Clin Oncol 16: 1948 - 1953, 1998
16. Belani CP, Bonomi P, Dobbs T et al: Multicenter phase II study docetaxel and cisplatin combination in patients with non - small cell lung cancer, Proc Am Soc Clin Oncol 16: 462a, 1997 (abstr1660)
17. Faderl B, Von Pawel J, Wagner H et al: Phase II study of docetaxel plus cisplatin in a circadian timing as first line chemotherapy in advanced non - small cell lung cancer Eur J Cancer 35: 256, 1999 (suppl4) (abstr 1017)
18. Cole JT, Gralla RJ, Rittenberg CN et al: Defining the dose of docetaxel (Taxotere) in combination of chemotherapy of non - small cell lung cancer: Preserving the efficacy with lower dose regimens. Proc Am Soc Clin Oncol 16: 456a, 1997 (abstr 1671)

19. Androulakis N, Korousis C, Kakolyris S et al: First -line treatment of non -small cell lung cancer with docetaxel and cisplatin: A multicenter phase II study. Eur J Cancer 33: S236, 1997 (suppl 8) (abstr 1068)
20. Kim HK, Lee KS, Kim JS et al: Interim analysis of a phase II study of docetaxel (Taxotere) in combination with cisplatin in Korean patients with metastatic (stage IV) or unresected (stageIIIB) localized non - small cell lung cancer Proc Am Soc ClinOncol 18: 511, 1999 (abstr 1970)
21. Georgoulas V, Androulakis N, Dimopoulos AM et al: Fosrt line treatment of advanced non - small cell lung cancer with docetaxel and cisplatin? A multicenter phase II study Ann Oncol 9: 331 - 334, 1998
22. Mattson K, Saarinen A, Jekunen A Combination treatment with docetaxel (Taxotere) and platinum compounds for non - small cell lung cancer, Semin Oncol 24: S5 - S8, 1997 (suppl 14)
23. Giannakakis T, Papadouris S, Ziras N et al. Phase I/II study of docetaxel and carboplatin as 1st line chemotherapy in advanced non - small cell lung cancer Proc Am Soc Clin Oncol 17: 486a, 1998 (abstr 1870)
24. Belani CP Use of docetaxel and carboplatin for patients with non -small cell lung cancer. Oncology 11: 31 - 33, 1997 (suppl. 7)
25. Belani C: Docetaxel (taxotere) in combination with platinum -based regimens in non -small cell lung cancer: Results and future developments Semin Oncol 26: 15 - 18, 1999 (suppl 10)
26. Schutte W, Bork I, Wollschlager B et al: Docetaxel (Taxotere) and carboplatin in the treatment of advanced non - small cell lung cancer Ann Oncol 9: 90, 1998 (suppl 4)
27. Capozzoli MJ, Belani CP, Einzig A et al: Multi - instutional pase II trial of docetaxel and carboplatin combination in patients with stage IIIB and IV non - small cell lung cancer Proc Am Soc Clin Oncol 17: 479 a, 1998 (abstr 1845)
28. Griesinger F, Kern W, Binder L et al: Outpatient Taxotere/carboplatin (T/C) combination therapy in NSCLC for induction in stage IIIB and palliation in stage IV. Proc Am Soc Clin Oncol 17: 487a, 1998 (abstr 1874)
29. Millward MJ, Bishop J, Lehnert M et al: Phase II triala of docetaxel and carboplatin in advanced non - small cell lung cancer Proc am Soc Clin Oncol 18: 517, 1999 (abstr 1994)
30. Arcenac A, Anderson A, Krasnow S: Docetaxel /carboplatin combination therapy for stage IIIB/IV non - small cell lung cancer Proc Am Soc Clin Oncol 18: 495, 1999 (abstr 1910)
31. Belani CP, Rodrigues J, von Pawel J et al: A multicenter randomized phase III. study of docetaxel + cisplatin ev docetaxel + carboplatin vs vinorelbin + cisplatin in chemotherapy -naive patients with advanced and metastatic non - small cell lung cancer. Lung cancer, 29: 60, 2000 (suppl 1) (abstr 195)
32. Geogoulia V, Kouroussis C, Androulakis N, et al: docetaxel and gemcitabine in treatment of non - small cell lung cancer: preliminary reselts, Semin Oncol 34: S22 - S25, 1997 (suppl 14)
33. Ventriglia M, Estevez R, Alume H et al: Docetaxel (Taxotere) plus gemcitabine (Gemzar). A new combination in treatment of patients with advanced non - small cell lung cancer A preliminary analysis Ann Oncol 9: 96, 1998 (suppl 2) (abstr 365)
34. Rubio G, Blajman C, Capo A et al: Docetaxel and gemcitabine in metastatic non - small cell lung cancer. A phase II study. Preliminary feasibility report Proc Am Soc Clin Oncol 18: 522, 1999 (abstr 2012)
35. Hejna M, Radere?. Kornek GV et al: Treatment advanced non - small cell lung carcinoma with Taxotere, gemcitabin and G - CSF Br J Cancer 80: 105, 1999 (abstr P307)
36. Georgoulas V, Kourousis C, Adroulakis N et al: Front - line treatment of advanced non - smll cell lung cancer with docetaxel and gemcitabine A multicenter phase II trial J Clin Oncol 17: 914 - 920, 1999
37. KrugME, Miller VA, Phase II trials of vinorelbin amd docetaxel in treatment of advanced non - small cell lung cancer Semin Oncol 26,5: 24 - 26, 1999 (suppl 16)

38. Miller VA, Grant SC, Ng K et al Phase I trial of docetaxel (DT and vinorelbine (VNR) with filgrastim (G - SCF) in patients with advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) Proc Am Soc Clin Oncol 17, 1998 (Abstr 1813) 39. Schiller H, Larson M, Pharo L Phase I trial of docetaxel and vinorelbine in patients with advanced non-small cell lung cancer previously treated with platinum-based chemotherapy Proc Am Soc Clin Oncol 16: 481a, 1997 (abstr 1733)
40. Douillard Y, Monnier A, Le Chevalier T et al Phase I study of docetaxel in combination with vinorelbine in chemotherapy naive patients with advanced non-small cell lung cancer, proceedings from the 8th International Congress on Anti-Cancer Treatment, Paris 1998 (abstr 036)
41. Johnston E, Crawford, Garst et al: Phase I. trial of weekly docetaxel and vinorelbine in advanced non-small cell lung cancer Proc Am Soc Clin Oncol 18: 476, 1999/Abstr 1838)
42. Kourouis C, Androulakos N, Kakolyris S et al: First-line treatment of advanced non-small cell lung carcinoma with docetaxel and vinorelbine Cancer 83: 2083-90, 1998
43. Trillet-Lenoir V, Monnier A, Douillard Y et al: interim results of a phase II study of docetaxel (taxotere) and vinorelbine in chemotherapy naive patients with advanced non-small cell lung cancer Ann Oncol 7: 95, 1996
44. Walls JA, O'Rourke M, Garfield D, Asmar L First-line therapy of Taxotere and navelbine in patients with advanced non-small cell lung cancer (NSCLC): A phase II study Proc Am Soc Clin Oncol 19: 2158: 2000 (abstract)
45. Couteau C, Lokiec F, Vernillet L et al Phase I dose-finding and pharmacokinetic study of docetaxel in combination with irinotecan in advanced solid tumors Proc Am Soc Clin Oncol 16: 202a, 1997 (abstr 709)
46. Takeda K, Negoro S, Masuda N et al Phase I study of docetaxel and irinotecan for previously untreated advanced non-small cell lung cancer Proc Am Soc Clin Oncol 18: 2019, 1999 (abstr)
47. Rich RS, Argiris A, Peccerillo K et al. Phase I dose escalation trial weekly docetaxel plus irinotecan in patients with advanced solid tumors, Proc Am Soc Clin Oncol 18: 868, 1999 (abstr)
- 48: Takeda K, Yamamoto N, Negoro S et al.: Randomized phase II study of docetaxel plus cisplatin versus DOC plus irinotecan in advanced non-small cell lung cancer a West Japan Thoracic Oncology Group study Proc Am Soc Clin Oncol 19: 1944, 2000 (abstr)
49. Satouchi M, Takada Y, Takeda K et al: Randomized phase II study of docetaxel plus cisplatin versus DOC plus irinotecan in advanced non-small cell lung cancer, A West-Japanese Thoracic Oncology Group study Proc Am Soc Clin Oncol 20: 1312 2001 (abstract)
50. Hainsworth JD, Burris HA III, Erland JB et al: Phase I trial of docetaxel administered by weekly infusion in patients with advanced refractory cancer J Clin Oncol 16: 2164 - 2168, 1998
51. Hainsworth JD, Burris HA, Litchy S et al: Weekly docetaxel in treatment of elderly patients with advanced non-small cell lung cancer, A Minnie Pearl Cancer Research Network phase II trial, Cancer 89: 328 - 333, 2000
52. Fossella, ASCO, Proc Am Soc Clin Oncol 18: 868, 1999 (abstr)
53. Lilienbaum R, Schwartz M, Siegel L et al Phase II trial of weekly docetaxel in second line non-small cell lung cancer Lung cancer 29 (suppl1): 43, 2000 (abstr 139)
54. Serke, M, Rucker M, Schonfeld N, Lodenkemper R Second line weekly docetaxel in advanced non-small cell lung cancer Lung Cancer 29 (suppl 1): 74, 200 (abstr 240)
55. Garcia-Lopez J, Domine M, Garrido P et al Early phase II of docetaxel in second line treatment of advanced non-small cell lung cancer, Preliminary results, Proc Am Soc Clin Oncol 19: 2113, 2000 (abstr)
56. McKay CE, Hainsworth JD, Burris HA III. et al: Weekly docetaxel/gemcitabine in treatment of elderly patients with advanced non-small cell lung cancer, A Minnie Pearl Cancer Research Network phase II trial Proc Am Soc Clin Oncol 20: 2606, 2001 (Abstr 2793)
57. Ohe Y, Niho S, Kakinuma R, Phase I studies of cisplatin and docetaxel administered by three consecutive weekly infusions for advanced non-small cell lung cancer in elderly and non-elderly patients Jpn J Clin Oncol 31 (3): 100 - 6 2001 UI: 21234455
58. Johnston E, Crawford J, Garst J, Bjurstrom A et al: Phase I trial of weekly docetaxel and vinorelbine in advanced non-small cell lung cancer Proc Annu Meet Am Soc Clin Oncol 18: A1838 1999 UI: 99701830
- 59: Pectasides D, Glotsos N, Bountouroglou N et al Weekly chemotherapy with carboplatin docetaxel and irinotecan in advanced non-small cell lung cancer, A phase II study Proc Am Soc Clin Oncol 20: 2717: 2001 (abstr)

informace

Vážení kolegové,
srdečně Vás zveme na jednodenní *onkogynekologický seminář*

KARCINOM OVARIA

pořádaný Gynekologicko-porodnickou klinikou I. LF UK a VFN v Praze ve spolupráci s nadačním fondem Vita et futura
v sobotu dne 4. října 2003 od 8.00 hodin
v posluchárně Gynekologicko-porodnické kliniky, **Apolinářská 18, Praha 2.**

PŘEDBĚŽNÝ PROGRAM:

- | | |
|--|--|
| <p>8.00 Molekulární genetika ovariálního karcinomu
<i>MUDr. M. Zikán, MUDr. N. Jančárková</i></p> <p>8.50 Profylaktická adnexektomie
<i>MUDr. D. Cibula, CSc., Doc. MUDr. P. Freitag, CSc., MUDr. N. Jančárková</i></p> <p>9.25 Karcinom ovaria v ultrazvukovém obraze
<i>MUDr. D. Fischerová, Doc. MUDr. P. Calda, CSc.</i></p> <p>10.15 Arteriální embolizace v terapii krvácení u pokročilých stádií pánevních tumorů
<i>MUDr. V. Eretová, CSc., MUDr. Mašková, MUDr. D. Cibula, CSc.</i></p> <p>10.35 Management „border-line“ nádorů ovaria
<i>Doc. MUDr. P. Freitag, CSc., MUDr. N. Jančárková</i></p> | <p>11.10 Možnosti zlepšení diagnostiky a léčby karcinomu ovaria
<i>MUDr. M. Fanoušek, MUDr. M. Strunová</i></p> <p><i>11. 45–12.30 přestávka</i></p> <p>12.30 Indikace a technika pánevní a paraaortální lymfadenektomie u karcinomu ovaria
<i>Prof. MUDr. J. Živný, DrSc., Doc. MUDr. D. Kužel, CSc., MUDr. M. Adamec, CSc.</i></p> <p>13.20 Možnosti a limity laparoskopie v léčbě karcinomu ovaria
<i>Doc. MUDr. D. Kužel, CSc., MUDr. Z. Fučáková, CSc.</i></p> <p>14.10 Optimální radikalita operací u pokročilých stádií karcinomu ovaria
<i>MUDr. D. Cibula, CSc., Doc. MUDr. P. Freitag, CSc., Prof. MUDr. J. Živný, DrSc.</i></p> <p>15.00 Ambulantní chemoterapie karcinomu ovaria
<i>MUDr. N. Jančárková, Doc. MUDr. P. Freitag, Csc.</i></p> |
|--|--|

Poplatek za seminář činí 450 Kč. Poplatek lze uhradit bankovním převodem na konto: 27-3558850227/0100 (jako variabilní symbol prosím uveďte svoje rodné číslo) nebo na místě. Účastníkům bude udělen **certifikát ve výši 30 kreditů**.
Vaše přihlášky prosím pošlete na adresu: MUDr. David Cibula, Gynekologicko-porodnická klinika, I. LF UK a VFN v Praze, Apolinářská 18, Praha 2, 120 00 nebo na e-mail: david.cibula@cDiol.cz.

Seminář je sponzorován firmou Bristol-Myers Squibb.

V. MEZINÁRODNÍ SYMPOSIUM „SPHINCTER SAVING SURGERY FOR RECTAL CANCER – STATUS OF THE ART AND QUALITY OF LIFE“

ŠEFR R., FAIT V.
MOU BRNO

Ve dnech 15.-19. listopadu 2002 jsme navštívili kongres Evropské asociace pro výzkum v chirurgické onkologii (ARECO) do Milána.

V. mezinárodní symposium bylo pořádáno Oddělením kolorektální chirurgie Národního onkologického ústavu (Istituto Nazionale per lo studio e la Cura dei Tumori) v Kongresovém centru hotelu Marriott v Miláně pod vedením prof. Ermanna Lea. Profesor Leo je jedním z předních světových odborníků v oblasti onkochirurgie kolorektálního karcinomu a dokázal zajistit účast proslulých kolegů ze všech medicínských vyspělých zemí světa, především USA (Cohen, Abcarian, Fry, Minsky, Milsom, Ota, Enker, Wanebo), Japonska (Shirouzu, Moriya, Sugihara), Kanady (Jass), Singapuru (Seow-Choen) i ze zemí EU (Heald, Moran, Nicholls, Scott – Velká Británie, Lazorthes, Gerard, Manzini – Francie, Glimelius – Švédsko, Hohenberger, Maurer, Schlag – Německo, Gomez – Španělsko atd.). Chirurgové ze všech koutů pořadatelské země byli aktivně zapojeni ve velkém počtu jak v organizaci kongresu, tak v účasti i bohaté diskusi ke každému bloku přednášek. Ze zemí bývalého východního bloku byli přítomni pouze polští kolegové, my jsme byli jedinými účastníky z ČR. Značná účast lékařů byla dána kromě nesporně vysoké odborné kvality všech sdělení i relativně příznivým kongresovým poplatkem (250 Eu) a nižšími cenami hotelového ubytování proti cenám standardním, což bylo možné díky masivní sponzorské účasti řady firem nejen ze zdravotnictví, ale i z oblastí jiných jako např. pojišťovny Lloyd Adriatico, banky Credit Suisse, Letiště Miláno, Telecom Italia, výrobce minerálních vod Lilia a především generálního sponzora kongresu automobilky (!) Volkswagen, která hned u vchodu do hlavní přednáškové haly uspořádala prezentaci svého nového modelu luxusní třídy Phaeton za velkého zájmu většiny lékařů a nepochybně následným obchodním úspěchem, protože nebylo možné si nevšimnout řady předběžných objednávek, které nejen italské kolegové uzavírali na nový vůz doslova jako na běžícím pásu.

Sympozia se zúčastnili především chirurgové zabývající se chirurgickou onkologií se zaměřením na digestivní trakt respektive kolorektální karcinom, ale také zástupci většiny oborů, které s danou problematikou přichází denně do styku tj. především radiodiagnostici, radioterapeuti, kliničtí onkologové, patologové, gastro- enterologové, takže otázky a kontroverze nebyly kladeny a řešeny výhradně s orientací na obor, ale zejména na vytypovanou oblast nebo problém nádorového onemocnění konečníku i tračníku.

Symposium je zařazeno do systému kontinuálního postgraduálního vzdělávání se ziskem celkem 22 ECM kreditů.

Všechny přednášky byly velmi hojně navštěvovány, přesto, že celodenní program byl poměrně náročný, začínal denně v 8.30 hod. a končil často až po 18. hod s cca 1 hod. přestávkou na oběd. Jediným, co lze organizátorům kongresu vytknout, byly časté „skluzu“ v časovém harmonogramu, které někdy přesáhly i 60 minut, takže docházelo k výrazným časovým posunům proti oficiálnímu programu. Vzhledem k naší celodenní přítomnosti v kongresovém centru však tato skutečnost neměla zásadní význam pro nabývání nových poznatků.

Každodenní dopolední program měl vždy pevné schéma tj. začátek v 8.30 „Symposium“, jehož náplní byly obvykle novín-

ky v kolorektální chirurgii, od 9.30 následovala sekce „Face to Face“, kde expertní skupiny pobíraly kontroverzní témata. V 10.30 byl na programu „Round Table“, kde se diskutovalo určené nosné téma. Dopolední program byl ukončen tzv. „Main Lecture and Conclusion“.

Odpolední program od 14.30 sestával z „Poster Session“, „Cine Clinic“ nebo „Video Teaching“ – zde byly promítány a rozebírány rozhodující operační kroky a techniky v chirurgii kolorektálního karcinomu včetně laparoskopie. Program uzavíralo pravidelně „Symposium“ nebo „Cancer Forum“ zabývající se novými hranicemi a perspektivami současné medicíny.

Kongres byl slavnostně zahájen dne 16.11.02 (sobota!) v 9.00 hod. a to pozoruhodným minikoncertem hudebního tělesa milánských „Carabinieri“, kteří nastoupili k přednesu v překrásných slavnostních uniformách a zahráli mimo jiné i skladbu od A. Dvořáka. Poté symposium oficiálně otevřel jeho prezident prof. Leo krátkým uvitacím projevem.

První „Face to Face“ sekce byla věnována roli neoadjuvantní terapie především radioterapie u karcinomu rekta. Jejím kritickým zastáncem byl B. Minsky z MSKCC, který zdůraznil, že chirurgie zůstává nadále nejdůležitější terapeutickou modalitou (citace: surgery is a critical component of rectal cancer therapy), připomenul, že adjuvantní radioterapie snižuje procento lokálních recidiv a považuje ji za nutnou i u dobře provedené TME.

Dále se věnoval neoadjuvantním postupům u karcinomu dolních 2/3 konečníku, které v modifikaci užívané v MSKCC mají velmi dobrou léčebnou odpověď, takže dochází až k 75% klinických CR a z tohoto počtu až ke 25% histologických CR! Podobné výsledky u tohoto protokolu včetně histologických CR jsou dosahovány i v MOU Brno s konečným důsledkem snížení počtu pacientů s trvalou tlustostřevní stomií.

Prof. Minsky zmínil studii NSABP R04, kde se sleduje příznivý vliv aplikace erythropoetinu u pacientů s karcinomem rekta na kvalitu života i délku přežití.

Oponentem byl Glimelius (Švédsko), který podotkl, že je nutno rozlišovat downstaging proti downsizing, opět zdůraznil nutnost dostatečně radikálně provedené TME včetně tzv. radial margins. Lokální recidivy se pak pohybují kolem 15%, bez TME až dvojnásobně (28%)! K předoperačnímu vyšetření ca rekta i pooperačnímu sledování doporučil MRI.

„Round Table“ se zabýval kombinovanou multimodální terapií karcinomu rekta. Gerard (Francie) zmínil možnosti endokavitární kontaktní radioterapie, kterou je možno aplikovat dávku až 100 Gy, taktéž s dobrými výsledky, definitivní odpověď dá vyhodnocení tzv. Polish rectal cancer trial. Delaney (Cleveland Clinic) zdůraznil známou skutečnost, že horní rektum se biologicky chová jako tračník a především upozornil, že chirurgové musí sledovat výsledky své tvrdé práce a korigovat další vývoj. Ota (USA) upozornil na vysoké procento abdominoperineálních amputací rekta bez adekvátní předoperační onkologické léčby, které dosahuje 30-60%, přitom při peroperačním histologickém sledování okrajů resekátu lze akceptovat distal margins 1 cm i méně. Guillem (MSKCC), jehož zastoupil Minsky, se zabýval možnostmi PET scanu jako citlivého nástroje predikce odpovědi na neoadjuvantní terapii. Lazorthes (Francie) oznámil funkční výsledky koloanálních anastomoz v kombinaci s předoperační short course nebo frakcionovanou radioterapií. Nevelký rozdíl byl pouze v počtu stolic, ostatní sledované parametry se signifikantně nelišily.

V diskusi byly zmíněny, že chemoradioterapie umožňuje zvýšit procento intersfinkterických resekcí, diskutovány byly radiální i distální okraje při resekcím výkonu, přičemž bylo zmi-

něno, že histologické vyšetření na kryo nemusí být vždy zcela přesné.

V sekci „Main Lecture and Conclusion“ promítal Enker (Německo) video o použití techniky IORT při nízké resekcii, přitom 10 Gy aplikovaných touto technikou odpovídá přibližně 65-80 Gy zevního ozáření, takže výhody jsou nasnadě.

Odpolední program „Cine Clinic“ byl zaměřen na techniky záchovných operací u karcinomu rekta. Maurer (Bern) přednášel techniku transversální koloplastiky, kterou bernská skupina kolem prof. M. Büchlera rozpracovala v experimentu a použila v klinice jako první na světě. Otázkou zůstává, je-li nutné dočasné stoma při provedení tohoto typu operace. Hull (Cleveland Clinic) s kolegy provedli prospektivní studii tří skupin pacientů s koloplastikou, J – pouchem a přímou anastomosou po resekcích výkonech na dolním rektu v letech 1998-2001, první výsledky jsou zatím velmi slibné ve prospěch transversální koloplastiky. Seow (Singapur) zakládá v těchto případech krátký (3-4cm) J – pouch s dobrými funkčními výsledky.

V závěrečném bloku prvního dne „New Perspectives“ byly diskutovány možnosti revize stagingového systému u karcinomu rekta založené především na histologických aspektech (cévní invaze, infiltrace perirektálního tuku, perineurální invaze aj.), ale i biologických vlastnostech nádorů (ploidita, p53 aj), jak zdůraznil Fry (USA). Jednoznačným závěrem, který vyplynul z diskuse, je nutnost ústavního patologa zaměřeného na problematiku kolorektálního karcinomu, zejména ve specializovaných onkologických zařízeních.

Nedělní program zahájil „Symposium“ s podtitulem „New frontiers in rectal surgery: the sentinel node technique“ prof. Belli (NCI Milano) a to historickým přehledem mapování lymfatických uzlin u kolorektálního karcinomu. Belli zdůraznil, že frekvence mikrometastaz u tohoto onemocnění je patrně větší, než se dosud připouštělo a to v rozmezí 25-45%. Zvláštní indikací použití této techniky je anální melanom. Maccauro (NCI Milano) poukázal na možnosti kombinovaných technik vyhledávání a identifikace sentinelové uzliny, konkrétně kombinaci radionavigace a barvení modří. Nora (USA), blízký spolupracovník zakladatele této techniky Sahy, prezentoval jejich společnou studii sentinelové uzliny u kolorektálního karcinomu. Zdůraznil, že u 20-30% tzv. „N0“ pacientů dojde do 5 let k lokoregionální recidivě respektive metastatickému postižení, proto je třeba podrobně vyšetřovat ty „správné“ uzliny, detailně a v potřebném počtu. Podle jedné z posledních studií je třeba 40 a více uzlin ke stanovení stagingu s 85% přesností u T1-3 nádorů (Joseph 2002). Nora zopakoval indikace a kontraindikace metody, technické detaily jejího provedení jak u karcinomu kolon tak rekta. Při získání dostatečných zkušeností s metodou se falešně negativní uzliny objevují ve 2-4% a bývají označovány jako „skip“ metastazy. Doposud rozdílné výsledky ze světových pracovišť vysvětlil odlišnými, nestandardizovanými technikami provedení. V kuloárech jsme s dr. Norou diskutovali o možnostech uplatnění techniky sentinelové biopsie při laparoskopických nebo laparoskopicky asistovaných tlustostřevních resekcích, dr. Nora poukázal na první příznivé zkušenosti s touto technikou.

Výsledky vyšetření sentinelových uzlin budou mít významný vliv na TNM klasifikaci, což se projeví již v jejím 6. vydání podle AJCC (2002). V budoucnu se uvažuje o molekulární analýze sentinelových uzlin, přestože významné prognostické faktory, které by měly být sledovány zůstávají zatím nejasné.

V sekci „Face to Face“ vystoupil Hohenberger (Erlangen) s poznatkem, že zásadním „rizikovým faktorem“ zůstává především chirurg a to i v době počínajících úvah o molekulární klasifikaci, prognostických faktorech apod. Svědčí o tom rozdílné výsledky na řadě pracovišť v jednotlivých zemích nejen v Evropě ale i státech USA (jak o problému později mluvil též A. Cohen). Vzhledem k obrovskému nárůstu případů je však těžší možné tyto nemocné centralizovat na určitá pracoviště,

nehledě na celou řadu dalších aspektů této problematiky počínaje nespolečnými regionálními pracovišti a konče neprůhlednými záměry zdravotních pojišťoven. Patolog Andreola (NCI Milano) prezentoval impozantní výsledky své dlouhodobé činnosti na poli patologie kolorektálního karcinomu, včetně detailně vyšetřených a zpracovaných preparátů – explantátů včetně průběhu nervové cévních svazků a lymfatických uzlin. Detailně zmínil nutnost sledování některých prognostických faktorů z pohledu patologa, jak již byly shora uvedeny.

„Round Table“ se zabýval histopatologickými prognostickými faktory u kolorektálního karcinomu. Pierotti (NCI Milano) hovořil o sledování volné DNA v plasmě. Leo (NCI Milano) opětovně zdůraznil nutnost 100% jistoty o distální resekcí linii včetně peroperačních histologií, pak je možné snížit vzdálenost distálního resekcího okraje i pod 1 cm a neovlivní to, podle jeho zkušeností, procento lokálních rekurencí. Pro zlepšení a zpřesnění orientace v operované oblasti v budoucnu navrhuje použití tzv. 3D vision, první klinické zkušenosti s touto nesporně zajímavou novinkou jsou dobré. Nicholls (Londýn) referoval o vlivu přeoperačních faktorů, zejména lokálního rozsahu tumoru (T) a vzdálenosti od Dentonovy linie. Novým a poměrně velmi zásadním poznatkem je, že T3 tumory šířící se extrarektálně do vzdálenosti < 5 mm se chovají biologicky jako T2, naopak šíří-li se do vzdálenosti > 5 mm mají tendenci chovat se jako T4 nádory včetně všech dalších aspektů s tím souvisejících.

Ultrazvukové vyšetření hodnotí Nicholls jako nedostatečné pro přesné zhodnocení extrarektálního šíření nádoru, naopak doporučuje MRI. Shirouzu (JPN) měl velmi pěknou přednášku o prognostických faktorech CRC založených na histologickém vyšetření, ze kterých vyplynula používaná klasifikace s riziky pro distanční šíření tumoru. Soreide (Norsko) vyzdvihl význam tzv. radiálního resekcího okraje nebo také circumferential margin pro prognosu onemocnění. Na jeho pracovišti dosahují v 70% sfinkter záchovných výkonů. Scott (Leeds) potvrdil zkušenosti předcházejícího přednášejícího s tím, že radial margins představují důležitý prediktor především lokálních rekurencí onemocnění. Ota (USA) hovořil o možnostech podrobných vyšetření uzlin, kostní dřevě a periferní krve technikami imunohistochemie a RT-PCR, zmínil, že zejména II. stadium onemocnění bývá často „understaged“ a to až v 50% případů!

V sekci „Main Lecture and Conclusions“ přednášel Jass (USA) o možnostech molekulární klasifikace kolorektálního karcinomu. Rozlišil základní rysy takové klasifikace založené na: mikrosatelitové instabilitě, chromozomální instabilitě (loss of heterozygosity) a kombinaci obou předchozích.

Odpolední program v „Cine Clinic“ zahájil Cohen (USA) zájmovou přednáškou o technických úskalích koloanálních anastomoz, které vždy dočasně derivuje ileostomií. Moran (Basingstoke) zmiňoval techniku nízkých anastomoz, především u recidiv získal velmi dobré zkušenosti s argonovou koagulací. Shirouzu (JPN) zdůraznil význam radikální laterální lymfadenektomie u karcinomu rekta ve stadiu Dukes C. V diskuzi Cohen zdůraznil nutnost soustředění chirurgie rekta do specializovaných center, zatímco operativu nekomplikovaného karcinomu tračnicku lze ponechat na odděleních všeobecné chirurgie. Ani v USA ani v jiných zemích se však z mnoha důvodů zatím nedaří zavést centralizaci péče o karcinom rekta do běžné praxe.

Pozdní odpolední „Symposium“ bylo věnováno taktice a strategii ošetřování věkově pokročilých nemocných s CRC. Ze závěrů vyplynulo, že pokud je nemocný schopen operace, pak tato léčebná modalita zůstává prioritní i ve vyšších věkových skupinách.

Dne 18.11. v 8.30 hod. začíná ranní „Symposium“ zajímavým a doslova nabitým tématem „Colorectal cancer at the new millennium: the impact of technology on metastatic liver disease“. Bellomi (Evropský onkologický institut Milano) hovořil o metodách detekce jaterních metastáz. Z předoperačních

vyšetření zmínil jako metodu s nejlepšími výsledky CT portografií s 91-100% přesností, MRI vyšetření s kontrastem až 97%. Metodou volby peroperačně je ultrazvukové vyšetření – až 96% přesnost, které je zlatým standardem při resekcích výkonech na játrech. Zvýšená přesnost a spolehlivost vyšetření je samozřejmě vykoupena vyššími cenami a časovou náročností jejich provedení. Tersigni (Řím) se zabýval prediktivními faktory před plánovanou jaterní resekci, na jeho pracovišti preferují kritéria dle Fonga z MSKCC, u neresekabilních lézí provádí obvykle RFA pod ultrazvukovou kontrolou. Capussotti (Turín) přednášel o dopadech moderních technologií na chirurgii jater, zmínil některé nové, účinné neoadjuvantní postupy, podrobněji především embolizaci nádorového ložiska cestou různých přístupů do portální žíly nebo intraoperační ligace některé z jejích magistralních větví. Nově je také aktualizována myšlenka dvouetapové jaterní resekce (two stage hepatectomy). Garbagnati (NCI Miláno) věnoval svou přednášku chirurgickým i nechirurgickým postupům při ošetření jaterních nádorů, podle zkušeností NCI rozsah nekrosy ložiska po RFA záleží především na jeho velikosti, k percutánnímu ošetření doporučuje leze < 3 cm, při otevřené laparotomii pak od 3 cm do maximálně 6 cm, u větších lézí jsou relapsy až v 80% případů!

„Face to Face“ se utkali v otevřeném, velmi tvrdém, ale korektním souboji Abacarian (Chicago) jako zastávce klasické operativy kolorektálního karcinomu s Milsomem (New York), který obhajoval laparoskopické (laparo asistované) výkony. Závěr nebyl zcela jednoznačný, oba soupeři položili na stůl řadu hodnotných, někdy i vtipných argumentů, začínají se také objevovat první výsledky studií započatých před 5-7 lety, takže lze opatrně vyhodnotit i onkologická hlediska. Bohužel, jen několik málo studií vyhovuje dnešním kritériím ve smyslu evidence based medicine (prospektivní studie, dokonalá randomizace, statistické zpracování atd.), další jsou však v běhu a jejich výsledky lze očekávat v průběhu dvou, tří let. Prozatím lze říct, že laparoskopické operace se jeví přírodně i u onkologických pacientů, v tomto případě tedy u kolorektálního karcinomu. V následujícím „Round Table“ pokračovala diskuze o laparoskopické versus klasické operativě kolorektálního karcinomu. Seow (Singapur) i Ota (USA) poukázali na nutnost globálního zvyšování kvality v chirurgii, ke kterému jistě laparoskopické výkony přispívají. Morino (Turín) prezentoval sestavu laparoskopicky provedených totálních mesorektálních excizi u 100 pacientů s velmi dobrými výsledky, lokální recidivu zaznamenal ve 4 %. Dopolední program byl uzavřen „Main Lecture and Conclusions“ přednáškou Alfreda Cohena (Lexington) – Gold standard of rectal cancer surgery. Cohen, jako nejrespektovanější současný kolorektální chirurg, znovu sumarizoval všechny technické aspekty a detaily nízkých, svěrač záchovných resekcí rekta s důrazem na techniku provedení, maximální možnou radikalitu výkonu při respektování všech fyziologických anatomických i funkčních zákonitostí těchto náročných operačních výkonů. Jak zmínil, z mnoha důvodů není bohužel možné koncentrovat všechny pacienty s kolorektálním karcinomem do onkologických center či na specializovaná pracoviště, což se netýká pouze USA (tím méně pak i ČR). Cohen se velmi přimlouval, aby k tomu došlo alespoň u pacientů s karcinomem rekta, zejména jeho distálních 2/3. Jedním z kroků, jak tomu napomoci v USA je myšlenka pilotního programu edukace mladých chirurgů, který právě realizuje. Program sponzorovaný cca 1,5 mil \$ spočívá v pečlivé postgraduální výuce adeptů kolorektální chirurgie včetně praktické části a poté hodnocení kvality provedení operačního výkonu podle předem stanovených kritérií. Následující korigující kroky (pokud jsou třeba). Cílem programu je nikoliv pouze certifikovat, tak jak jsme tomu dnes často svědky v našich zemích, ale především odpovědně vzdělávat, sledovat a hodnotit dosažené výsledky.

Symposium aktualizovalo naše poznatky o chirurgii kolorektálního karcinomu zejména v oblasti nekomplikovanější tj. dol-

ních dvou třetin rekta, indukovalo některé myšlenky ke zlepšení práce a péče o nemocné s tímto onemocněním v MOU, umožnilo získat nové, dosud nepublikované informace o biopsii sentinelové uzliny u tohoto onemocnění.

Rádi bychom aktivně přispěli do programu příštího symposia v Miláně v roce 2004.

Účast na kongresu byla podpořena grantem IGA ČR č. ND 7112-3/2002.

SECOND INTERNATIONAL MEETING ON ANGIOGENESIS LEIDEN 2003

POURL.

FN BOHUNICE-BRNO

Kongres se konal 13-15.2.2003 v univerzitním městě Leidenu. V parku biologických věd leidské univerzity ve velice pěkné budově společnosti TNO.

Jak již název napovídá jednalo se o mezinárodní kongres zaměřený v současnosti na velice aktuální téma a to na angiogenesu. Angiogenese je novotvorba cév fyziologicky se vyskytující při embryogenezi, hojení ran a ve vaječnicích a děložní sliznici při menstruačním cyklu. Novotvorba cév je nutná rovněž pro růst nádorů. Souvislost nádorového bujení a angiogenese byla objevena Folkmanem v roce 1971. Angiogenese je velmi složitý proces, ve kterém je zapojeno obrovské množství genů a produktů těchto genů z nádorových i normálních tkání. Patří sem onkogeny a supresorové geny, růstové faktory a endogenní inhibitory, proteázy a proteasové inhibitory, stopové prvky a další. Podle výsledné převahy jednotlivých zapojených faktorů je angiogenese tlumena nebo aktivována. Léčebně se využívá jak inhibice nádorových onemocnění tak stimulace angiogenese především a to především u kardiiovaskulárních chorob.

Program kongresu byl rozdělen do tří částí, první část se týkala fyziologické angiogenese, druhá byla zaměřena na angiogenesu u nádorů a třetí část byla zaměřena na ovlivnění (zvyšování) angiogenese u kardiiovaskulárních chorob. Z první části stojí za zmínku z klinického hlediska důležité zjištění, že lymfangiogenese je proces nezávislý na angiogenezi a lze jej selektivně stimulovat pomocí stimulace VEGFR3. Toto zjištění může v nepříliš vzdálené budoucnosti hrát významnou úlohu při léčbě závažných lymfedémů.

Největší důraz byl pořadatelé dán na část druhou týkající se nádorové angiogenese. Obzvláště sdělení R. Kalluriho z Bostonu týkající se úlohy metaloproteinás v procesu kancerogeneze bylo velice zajímavé a důležité. Dr. Kalluri zmínil nejen úlohu metaloproteinás v úvodní fázi angiogenese kde působí ve smyslu + (narušují basální membránu a stroma a tím umožňují růst nových cév), ale i jejich působení ve smyslu -, kdy angiogenesu naopak inhibují a to svým působením na proteiny koagulační kaskády (zvláště pak plasminogen), které štěpí. Tyto štěpné produkty pak angiogenesu inhibují. V experimentu byla ukázána inhibice nádorového růstu jedním z těchto produktů tumstatinim. Byl rovněž přednesen výsledek klinické studie s antiangiogením lékem SU5416, nicméně výsledky nebyly příliš povzbudivé.

Třetí část tohoto kongresu byla zaměřena na ovlivnění angiogenese v kladném směru, zabývala se tedy především možností zvýšení angiogenese v kardiiovaskulární medicíně. Z přednesených příspěvků zaujal názorný experiment na kryším modelu hodnotící význam neoangiogenese v ischemické končetině jako značný. A slibující velké možnosti léčby ischemie končetin v budoucnu. Bylo rovněž upozorněno na význam kmenových buněk v neovaskularizaci jednotlivých tkání.

Setkání si kladlo za cíl sjednotit pohled na angiogenesu jako celek a neoddělovat angiogenesu fyziologickou, v nádorové tkáni a neovaskularizaci v kardiiovaskulární medicíně. Protože pouze dokonale celostní pohled na tak složitý proces, jakým angiogeneseza bezesporu je, může vést k jeho porozumění. Celkově lze říci, že se organizátorům tento pokus zdařil a návštěva kongresu byla velice přínosná.

GENETICKÉ ZMĚNY U NĚKTERÝCH MNOHOČETNÝCH MALIGNIT

GENETIC ALTERATIONS IN SOME MULTIPLE MALIGNANCIES

VÍTOVÁ V.,
MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV, BRNO

Maligní nádorové onemocnění je doprovázeno změnou genetické výbavy organismu. Taková změna může být vrozená nebo získaná kdykoliv v průběhu života. Genetické změny se již podařilo popsat i u některých druhů vícečetných malignit (VM). Mohou mít familiární výskyt. Příkladem získaných změn jsou genetické mutace vzniklé v souvislosti s aplikací protinádorové chemo- a radioterapie po zjištění primárního zhoubného nádoru (ZN). Riziko rozvoje primárního nebo následného ZN je determinováno interakcí expozice a vnímavosti organismu. Schopnost organismu úspěšně se vyhnout karcinogenezi v důsledku expozice je částečně závislá na vrozeném stavu genů zapojených do eliminace a detoxikace karcinogenů a do reparačních odpovědí. K riziku se připojuje genetický polymorfismus. Je možné, že genetický polymorfismus může hrát větší roli u sekundárních než u primárních malignit, například v souvislosti s aplikací protinádorové chemo- a radioterapie (8).

• Pacienti se ZN hlavy a krku mají vysoké riziko rozvoje následných malignit tzv. horního aerodigestivního traktu. Důležitou roli v individuální genetické vnímavosti hraje mutace *p53* tumor supresorového genu. Gallo a kol. (2) zjistili u tří pacientů s VM v periferní krvi i v nádorové tkáni zárodečné mutace *p53*. Japonští autoři (10) našli asociaci mezi VM s participujícím dlaždicobuněčným karcinomem oesophagu nebo oropharyngolaryngu a mutací alely pro aldehyddehydrogenázu – 2 (*ALDH2*), která je klíčovým enzymem pro eliminaci acetaldehydu generovaného z metabolismu alkoholu. Mutace uvedené alely je prevalentní ve východní Asii. Tento enzym je inaktivní, což vede k excesivní akumulaci acetaldehydu a „kancerizaci“ mnoha polí horního aerodigestivního traktu. • Vrozené mutace *CDKN2A* tumor supresorového genu představují zvýšenou vnímavost k rozvoji familiárního kožního maligního melanomu i jiných typů ZN. Šest švédských - 113 *insArg* pozitivních - rodin mělo nejméně jednoho člena s mnohočetným primárním melanomem a s jinými malignitami (ZN prsu nebo pankreatu) (1). Mutace *p16INK4a* (*p16M*) rozvrátí produkci proteinu, který je nezbytný pro zastavení nekontrolovaného buněčného růstu, čímž přispívá k rozvoji karcinomu. Autoři (9) referují zvýšené riziko rozvoje subsequentního ZN digestivního traktu u mladých příslušníků 23 „melanomových“ rodin s *p16M*.

• Mnohočetná endokrinní neoplázie (MEN) typu 1 je familiární onemocnění asociované s tumory pituitárními, parathyreoidey a vnitřně sekretorické složky pankreatu. V multicentrické studii (6) bylo panelem genetických testů vyšetřeno asi 100 různých případů melanomu včetně sedmi MEN typu 1 pozitivních rodin. Závěr studie byl, že MEN 1 gen (ztráta heterozygosity – LOH) hraje roli jen u malé podskupiny melanomů. • Dle údajů Menko a kol. (4, 5) kolem 5 % případů kolorektálních karcinomů vzniká v důsledku přítomnosti autosomálně dominantní genetické predispozice s vysokou penetrancí. 15 % případů má pozitivní rodinnou anamnézu. Familiární syndrom hereditárního nepolyposního kolorektálního karcinomu (NHPPC) je často charakterizován mikrosatelitovou instabilitou (MSI) a mutací „mismatch repair“ (*MMR*) genu. Planck a kol. (7) zjistili ve své studii vysokou

frekvenci MSI (75 %) u žen s duplicitami - ZN endometria a kolorekta, u nichž byl první nádor diagnostikován do 50 let věku a sledována ztráta exprese *MMR* proteinu, připomínající možnost zárodečné mutace, u 12 z 27 pacientek (44 %). • Familiární výskyt ZN prsu se zjištěním genetických mutací *BRCA 1* a *BRCA 2* může být doprovázen vývojem VM: ZN kontralaterálního prsu nebo ovaria. Hartmann a kol. (3) uzavírají svoji studii tím, že profylaktická mastectomie je asociována s podstatnou redukcí incidence subsequentních nádorů prsu žen s vysokým rizikem zjištěným nejen dle podkladů z rodinné anamnézy, ale také znalostí nosičství mutace genu *BRCA 1* a *BRCA 2*.

Literatura

1. Borg A., Sandberg T., Nilsson K., et al.: High frequency of multiple melanomas and breast and pancreas carcinomas in *CDKN2A* mutation-positive melanoma families. *Journal of the NCI*, Vol. 92, No. 15, August 2, 2000
2. Gallo O., Sardi I., Pepe G. et al.: Multiple primary tumors of the upper aerodigestive tract: Is there a role for constitutional mutations in the *p53* gene? *Int. J. Cancer*: 82, 180–186 (1999)
3. Hartmann L. C., Sellers T. A., Schaid D. J. et al.: Efficacy of bilateral prophylactic mastectomy in *BRCA1* and *BRCA2* gene mutation carriers. *Journal of the NCI*, Vol. 93, No. 21, November 7, 2001
4. Menko F. H., Griffioen G., Wijnen J. T. et al.: Genetics of colorectal cancer. I. Non – polyposis and polyposis forms of hereditary colorectal cancer. *Ned – Tijdschr – Geneesk.* 143 (23): 1201–6 (1999)
5. Menko F. H., Griffioen G., Wijnen J. T. et al.: Genetic of colorectal cancer. II. Hereditary background of sporadic and familial colorectal cancer. *Ned – Tijdschr – Geneesk.* 143 (23): 1207–11 (1999)
6. Nord B., Platz A., Smoczynski K. et al.: Malignant melanoma in patients with multiple endocrine neoplasia type 1 and involvement of the *MEN 1* gene in sporadic melanoma. *Int. J. Cancer*: 87, 463–467 (2000)
7. Planck M., Rambech E., Möslin G. et al.: High frequency of microsatellite instability and loss of mismatch – repair protein expression in patients with double primary tumors of the endometrium and colorectum. *CANCER*, May 1, 2002 /Volume 94/ Number 9
8. Relling M. V.: Pharmacogenetics and second cancers, AACR Conference on Frontiers in Cancer Prevention Research. October 14–18, 2002. Boston, MA. Invited Abstracts, 1243–1244
9. Schenk M., Severson R. K., Pawlish K. S.: The risk of subsequent primary carcinoma of the pancreas in patients with cutaneous malignant melanoma. *Cancer* May 1, 1998 /Volume 82/ Number 9.
10. Yokoyama A., Watanabe H., Fukuda H. et al.: Multiple cancers associated with esophageal and oropharyngolaryngeal squamous cell carcinoma and the *Aldehyde Dehydrogenase – 2* genotype in male Japanese drinkers. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, Vol.11, 895 – 900, September 2002

VÝŽIVA ONKOLOGICKÝCH PACIENTŮ NOURISHMENT OF ONCOLOGICAL PATIENTS

ŠACHLOVÁ M.

MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV, BRNO

(Pokračování)

Enterální výživa je indikována u těch nemocných, jejichž nutriční stav vyžaduje umělou výživu pro již existující malnutriční nebo pro onemocnění, které nemocného malnutriční ohrožuje. Podmínkou je zachování funkce trávicího traktu z hlediska trávení i resorpce živin. Předností enterální výživy je fyziologický přívod živin přes střevo a játra, je zachována výživa střeva, je méně komplikací, jsou nižší náklady. Tato výživa je i méně náročná pro ošetřující personál a je možné ji snadno aplikovat i v domácí péči. Také cena je výhodnější. Kromě zajištění výživy má ochranný vliv na střevní sliznici, příznivě ovlivňuje imunitní systém a může mít i léčebný vliv při volbě přípravků obohacených např. o glutamin, omega 3 mastné kyseliny, arginin, MCT tuky (triacylglyceroly s mastnými kyselinami se středně dlouhým řetězcem). Parenterální výživu užijeme jen tehdy, je-li enterální výživa kontraindikována (If the gut works, use it!)

Enterální výživa není vhodná pro řešení závažných metabolických poruch, nelze ji užít při nefunkčním trávicím ústrojí. Nevýhodou je i možná intolerance přípravku, kterou ale mnohdy odstraníme kontinuálním podáváním.

Hlavní indikace enterální výživy v onkologii podle diagnóz: (upraveno podle Zadáka Z., 2002)

- nádorová kachexie
- stenózy orofaryngu, jícnu, kardií
- syndrom krátkého střeva
- insuficience pancreatu
- zánětlivá onemocnění střev
- sepsy
- předoperační příprava
- časná pooperační nutriční podpora
- dyspeptický syndrom a anorexie při chemoterapii
- dyspeptický syndrom a anorexie při radioterapii
- nutriční péče před transplantací kostní dřevě a po ní

Způsob podání

Sipping je popíjení ochucených přípravků enterální výživy pacientem. Ve většině případů se jedná o výživu doplňkovou. Pro perorální používání jsou doporučeny polymerní přípravky, které většinou obsahují kompletní formule živin. Liší se energetickou hustotou, obsahem a zdrojem bílkovin, přítomností vlákniny. Jsou ve sladkých chuťových úpravách nebo bez příchuti. Popíjení doporučujeme vždy po malých porcích mezi jídly tak, aby tuto výživu přijímal pacient navíc nad rámec normální stravy, jako kalorické obohacení. Pacient si sám zvolí teplotu přípravku, většinou vyhovují přípravky chlazené. Přípravek zvolíme podle chuťových preferencí nemocného, je dobré si uvědomit, že například vanilková příchut chutná různě podle výrobce. Podávání vždy zahájíme v malých dávkách maximálně 50ml. Většina nemocných netoleruje po delší dobu více než 500 ml výživy na den.

Výživa sondou (polyuretan, silikonový kaučuk, PVC, latex) je indikována tehdy, pokud se nedaří udržet nutriční stav. Je zaváděna tehdy, pokud uvažujeme o kratší době podávání (do 6 týdnů).

Tenkou nazogastrickou sondou snadno zavedeme přímo na lůžku nemocného. Často je možné podávat nazogastrickou výživu bolusově.

Nazojejunální sonda až do proximálního jejunu zlepšuje fixaci sondy a snižuje riziko aspirace. Do jejunu je sonda dopravena pomocí vodiče pod skiaskopickou kontrolou nebo ještě lépe endoskopicky a sonda je často opatřena akcesorií jako jsou deštničky, závažíčko, balónky apod. Výživa je aplikována kontinuálně. Upozorňuji, že za pylorus se v žádném případě nesmí aplikovat jiná výživa než sterilní, protože odpadá působení kyselého žaludečního obsahu.

Výživa endoskopickou gastrostomií- PEG- je metodou volby u pacientů s předpokladem dlouhodobé enterální výživy (déle než 6 týdnů). Je prováděna pod endoskopickou kontrolou, kdy je zavedena sonda přes břišní stěnu přímo do žaludku metodou pull- to znamená vytažením přes ústa, či push - přímo do žaludku přes břišní stěnu, a zafixována fixačním zařízením z lumen žaludku a ke kůži. Předpokladem jsou normální koagulační parametry, možnost zavedení gastrokopu a provedení diafanoskopie (prosvícení stěny žaludku a břišní stěny na kůži), nepřítomnost ascitu, varixů žaludku či nádorového bujení v žaludku. Kontraindikací je také akutní pancreatitida, ileus, peritonitis. Specifickými komplikacemi jsou infekce v ráně, vznik vředové léze či krvácení. Komplikace jsou však velmi vzácné. Do žaludku je enterální výživa podávána bolusově.

Zavedení jejunální sondy cestou PEG je využíváno u pacientů s předpokladem dlouhodobé enterální výživy a velkým rizikem aspirace. Do jejunu podáváme výživu kontinuálně.

Radiologicky asistovaná gastrostomie je aplikována u pacientů, u kterých není možné zavést gastrokop. Pod skiaskopickou kontrolou je insulován žaludek, zavedena jehla a vodič a push metodou gastrostomická sonda ukončená balonkem.

Chirurgická gastrostomie nebo jejunostomie- klasická Witzelova gastrostomie se dnes již provádí zcela vzácně. Indikace laparoskopicky asistované gastrostomie je však stále metodou volby u pacientů, kde není možné zavést gastrokop nebo je riziko interpozice orgánů mezi žaludek a břišní stěnu. U pacientů, kde předpokládáme dlouhodobou enterální výživu po větším operačním výkonu v břišní dutině, je vhodné zavést jejunostomii tenkým katetrem již v průběhu operace.

Výživový knoflík (feeding button) je využíván u pacientů dlouhodobě živených enterální výživou. Prakticky nepřevyšuje úroveň kůže.

Režim enterální výživy

- intermitentně - několik porcí během dne, 50-100 ml po 10 min 1 porce
- kontinuálně - 16-24 hodin, přednostně u duodenální nebo jejunální sondy

postupné zvyšování dávky

1. den - 1/4 předpokládané dávky, rychlost 25ml/hod
2. den - 1/2 denní dávky, rychlost 50ml/hod
3. den - 3/4 denní dávky, rychlost 75ml/hod
4. den - plná dávka, rychlost 100ml/hod.

Komplikace enterální výživy

Ke komplikacím při zavádění enterální sondy patří iritace nazofaryngeální oblasti, nesnášenlivost sondy jako cizího tělesa. Enterální sonda se může zauzlit nebo zkroutit, což se stává u tenkých, měkkých a velmi flexibilních sond. Sonda může být omylem zavedena i do plic, což se většinou projeví kašlem a dušností. Jsou však pacienti, u kterých se tyto příznaky neobjeví, a závažná komplikace se projeví až při podávání přípravku. Perforace bývá výsledkem násilné snahy umístit enterální sondu vyztuženou vodičím drátem nebo při pokusu o zpřůhodnění ucpané nebo stočené sondy. Naštěstí je tato komplikace vzácná.

Vhodným umístění sondy pomáhá polykání doušku vody při zavádění, sonda s vodičem. Pokud je to možné, je jednodušší sondu zavést v poloze v sedě a s hlavou lehce v předklonu. Polohu sondy vždy kontrolujeme. Před aplikací výživy vždy aspirujeme obsah ze sondy.

Komplikace gastrostomie prováděné endoskopicky jsou vzácné. Největším nebezpečím je peritonitida, píštěl, dislokace sondy, obstrukce při dislokaci, riziko aspirace při zavedení sondy jen do žaludku.

Komplikace při chirurgickém provedení gastrostomie se udávají podle pracoviště od 1-15% a patří k nim peritonitida, aspirace, infekce operační rány, prosakování kolem katetru, dislokace sondy a obstrukce.

Neúmyslné či úmyslné vytažení sondy a ucpání sondy jsou nejčastějšími komplikacemi. Je potřeba si uvědomit, že pro výrobky s vlákninou je potřeba průměr sondy 8F, pro velmi viskózní a podávané jen gravitačně je potřeba sonda s průměrem 10F a více. Sondou mohou ucpat i rozdrčené léky, výrazně alkalické nebo kyselé léky. Po aplikaci enterální výživy je nutné vždy sondu propláchnout nejlépe vodou. Pokud není sonda často proplachována, musíme počítat i s kolonizací a mikrobiálním růstem v sondě. Některá pracoviště používají k proplachu např. ohřátou pepsu colu nebo ovocný džus. Při testování rozpouštění sraženin se ukázal jako neúčinnější chymotrypsin a ohřátá destilovaná voda. Dnes se již nedoporučuje používat mixovanou stravu do sond, protože zvyšuje riziko kontaminace. Navíc je nevhodná co do složení, obsahu energie a vitamínů. V žádném případě nelze mixovanou stravu podávat za pylorus!

Ke klinickým komplikacím nejčastěji patří **průjem**. Při hodnocení je třeba vzít v úvahu konzistenci, frekvenci i objem defekace. Může se na ní podílet například nevhodná rychlost a složení enterální výživy, předchozí malnutrice s deficitem makronutrientů i mikronutrientů, interkurentní gastrointesti-

nální choroby, střevní dysmikrobie. Je zajímavé, že výrazná hypoalbuminémie je spojena se sníženou tolerancí enterální výživy. V neposlední řadě se na průjmech podílí další medicína, například antibiotika změnou střevní mikroflóry, dále například metotrexát, doxorubicin a cyklofosfamid přemnožením *Clostridium difficile*, antacida a H₂ blokátory snížením sekrece HCl a rizikem přemnožení bakterií. Průjem může být způsoben i preparáty s obsahem železa, multivitaminů, teofylinu a léky v tekuté formě, které obsahují často sorbitol, sacharózu.

Pokud se v průběhu aplikace enterální výživy objeví průjem, je nutné redukovat medikaci, která se na něm může podílet, snížit rychlost přívodu enterální výživy, snížit koncentraci a objem. Mnohdy pomůže přejít z bolusového podávání na intermitentní nebo pomalý kontinuální přívod. Při objemné stolici (více než 1 litr) se doporučuje loperamid, přidání vlákniny, glutaminu, pancreatických enzymů.

Aspirace je nejzávažnější komplikací sondové výživy. Důsledkem je dráždění ke kašli, dušení, infekce, respirační selhání, asfyxie. Závažnost závisí na pH, chemickém složení a mikrobiálnímu obsahu aspirované výživy. Závažnost je ovlivněna i druhem onemocnění a stavem nemocného. Riziko zvyšuje horizontální poloha pacienta, podávání spazmolytik, opožděné vyprazdňování žaludku. Nejdůležitější prevencí je kontrola umístění sondy, sledování tekutiny, která zůstává v žaludku. Riziko zmenšíme jejunálním umístěním sondy.

Mezi další komplikace enterální výživy patří i **nedostatečný energetický přísun**. Je způsoben někdy chybným výpočtem, ale častěji různými přestávkami v časovém plánu z důvodů diagnostických a léčebných výkonů. Většina komerčně dostupných přípravků obsahuje při plné enterální výživě dostatečné množství mikronutrientů. Jejich deficit může nastat při nesprávném použití modulární nebo orgánově specifické výživy.

Hypokalémie (často paralelně s hypofosforemií) vzniká u malnutričních a katabolických pacientů po rychlé realimentaci, po diureticích, déle trvajícím průjmu a v katabolickém stresu. Je důležité sledovat nejen hladinu draslíku v plazmě, ale hlavně odpady draslíku do moče.

Hyponatremie je vzácná jako následek nedostatečného příjmu stravou. Může se vyskytnout při diluci a zvýšeném příjmu bezsoluťové vody. Podílí se na ní často odsávání žaludečního obsahu, zvracení, syndrom krátkého střeva.

Při použití enterální výživy se jen vzácně setkáváme s **hyperalimentací**, protože dochází k pocitu napětí v břiše, křečích a průjmu. Rizikovými jsou malnutriční pacienti s poruchami funkce GIT a neuromuskulárními chorobami. Prevencí je dobrý odhad energetické potřeby.

Hyperglykémie nastává sekundárně při rychlém přívodu enterální výživy, při diabetu, po léčbě steroidy. Je potřeba upravit dávku živin, upravit rychlost přívodu enterální výživy, změnit složení, zvýšit podíl monosaturovaných mastných kyselin a snížit podíl mono- a disacharidů. Diabetici lépe tolerují intermitentní režim se synchronizovaným podáváním inzulínu dle glykémie po 6 hodinách. Jedenkrát za 3 dny kontrolujeme hladinu triacylglycerolů.

Pacienti, kteří byli dlouhou dobu v katabolismu a podvýživě jsou ohroženi i tzv. **realimentačním syndromem (refeeding syndrom)**. Hyperalimentace zvyšuje nároky na oxidační procesy, na oběhový a respirační systém a může oxidaci vitální funkce. Jako prevence a léčba se doporučuje pomalý vzestup přívodu energie, monitorace fosforu, draslíku, hořčíku, pátrat po projevech hypovitaminózy, deficitu stopových prvků.

Syndromem enterální výživy jsou ohroženi velmi mladí a velmi staří pacienti. Jedná se o překročení dávek proteinů a energetických substrátů v koncentrované formě a překročení schopnosti ledvin vyloučit katabolity. Největší nebezpečí je při používání kuchyňsky připravené hyperosmolární stravy a nesprávně volené modulové enterální výživě. Doporučuje se sledovat přívod tekutin nejméně 1ml/1kcal a hrazení ztrát, nepřekračovat 1,5g proteinu na 1kg ideální tělesné hmotnosti.

Parenterální výživa je jednoznačně indikována tam, kde nemocný nemůže přijímat výživu enterální cestou. Parenterální výživa může výrazněji ovlivnit dusíkovou bilanci. Indikujeme ji tedy u pacientů, kteří nemohou přijímat potravu pro anatomickou obstrukci zažívacího traktu, u pacientů v období těžkého zvracení v důsledku chemo a radioterapie, indikujeme ji při syndromu krátkého střeva, při enteritidě po ozařování, při poruchách příjmu v souvislosti s ulceracemi a těžké mukozitidě v důsledku chemoterapie nebo aktinoterapie, při střevní malabsorbci či ztrátě živin z píštělí. Parenterální výživa by měla být podána zejména těm, u nichž je naděje na přechodné zlepšení stavu. Všude tam, kde je to možné, přivádíme současně s parenterální výživou alespoň minimální množství živin enterální cestou.

Většinou parenterální výživu podáváme kontinuálním způsobem, tedy nepřetržitě po celých 24 hodin. Při zahájení úplné parenterální výživy začínáme vždy s menšími dávkami, než je stanovena kalorická potřeba (kolem 1000 kcal /24 hodin). Postupně od třetího dne začínáme s plnou úhradou kalorické potřeby. Je výhodné používat plastické vaky s obsahem všech živin „all in one“. Jsou vyráběny průmyslově nebo „na míru“ pacienta v nemocničních lékárnách. V současné době je již prakticky opuštěn mnohohlahvový systém. K dispozici jsou firemní přípravky dvou nebo třikomorových vaků.

Obvykle podáváme energii v dávce 30-35kcal/kg/den, aminokyseliny v dávce 1-2g/kg/den a lipidy v dávce 30-50% celkového množství nebilkovinné energie. Zvýšený obsah větvených aminokyselin nemá u nemocných s nádory žádnou výhodu. Dávka glukózy se obvykle pohybuje do 250g na 70kg hmotnosti. Údaje o riziku podávání tukových emulzí jsou nejednotné. I když tuky se střední délkou řetězce (MCT) nejsou metabolizovány nádorovou tkání, není mezi LCT a MCT tuky zásadní rozdíl v účinnosti nutriční podpory.

Poněkud odlišné schéma se doporučuje pro předoperační období. Aby se nutriční intervence projevila pozitivně, musí trvat nejméně 10 dní před operací. Doporučená energie 1,5x vypočtená hodnota klidové energetické potřeby vztahovaná na ideální váhu. Dávka proteinů se doporučuje 1g dusíku na 150kcal a poměr cukrů a tuků ve výživě 70: 30.

Nebyl by tento stručný přehled úplný, pokud bychom se nezmínilo o možnostech ovlivnění nechutenství. V paliativní léčbě onkologicky nemocných s anorexií a nádorovou kachexií mohou významně zlepšit kvalitu života **léky se stimulačním apetitumem**. Z celé řady testovaných léků mají nejvýraznější efekt syntetické *gestagenní hormony*. V několika prospektivních randomizovaných studiích lék **Megace** významně snížil anorexiu a zvýšil tělesnou hmotnost a tím i kvalitu života pacientů. Podání suspenze je přijemné pacientům, kteří mají problémy s polykáním tablet. Doporučená dávka Megace se pohybuje od 400 mg se stoupajícím efektem až do 800 mg podaných v jedné denní dávce. Nejlepšího účinku je dosaženo tehdy, je-li léčba zahájena včas, tedy na počátku váhového úbytku. Chut k jídlu se obvykle zvyšuje během několika dní, vzestup váhy nastává postupně. Občasným nežádoucím účinkem přípravku Megace je retence tekutin, která však většinou reaguje dobře na diuretika. Váhový přírůstek je ovšem nezávislý na případné retenci tekutin. *Kortikosteroidy* nemohou nahradit gestagenní hormony v léčbě nádorové anorexie a kachexie vzhledem k jejich přechodnému a krátkodobému účinku a častějšímu výskytu nežádoucích účinků.

U pacientů s pokročilým nádorovým onemocněním ani intenzivní nutriční podpora nevede k prodloužení života. Je nutný individuální přístup ke každému pacientovi a stanovení reálného cíle. U pokročilého nádorového onemocnění je hlavním cílem zlepšení subjektivního stavu pacienta a kvality života pacienta.

Adresa pro korespondenci:
MUDr. Milana Šachlová, CSc., Masarykův onkologický ústav, Žlutý kopec 7, 656 53 Brno, e.mail: sachlova@mou.cz
Přehled literatury u autora.

ZÁPIS ZE SCHŮZE VÝBORU ČOS JEP KONANÉ DNE 4. 3. 2003

Přítomni: **prof. MUDr. Pavel Klener, DrSc.**
prof. MUDr. Josef Koutecký, DrSc.
prim. MUDr. Jan Fischer
prim. MUDr. Alena Jelínková
as. MUDr. Olga Příbylová
doc. MUDr. Luboš Petruželka, CSc.
prim. MUDr. Vratislav Šmelhaus
prof. MUDr. Jirí Vorlíček, CSc.
doc. MUDr. Tomáš Eckschlager, CSc.

Omluveni: doc. MUDr. Jan Žaloudík, CSc.

Nepřítomen: MUDr. Josef Drbal

1. **Kontrola zápisu** – předešlý zápis nebyl publikován v Klinické onkologii pro uzávěrku nového čísla, ale byl zveřejněn na stránkách OS www.linkos.cz.

2. **Volby nového výboru ČOS** – byly projednány připomínky z dopisu doc. Žaloudíka a dopis prof. Macháčka, prof. Mihál, MUDr. Cwierty a MUDr. Hajdúcha, týkající se požadavku na rozšíření volební komise o regionální zástupce. Výbor rozhodl neměnit své původní rozhodnutí, neboť nepochybuje o morální bezúhonnosti navržených členů komise. Výbor rozhodl navrhnout prof. Macháčkovi vyslání dvou pozorovatelů za olomoucký region k vyhodnocování 1. i 2. kola voleb do OS.

3. **Navrhované doporučené léčebné postupy:** vyzván doc. Vyzula, aby v co nejkratším termínu rozeslal poslední verzi doporučených postupů všem členům výboru k připomínkám, které mu obratem zašlou. Závěrečná verze se zapracováním všech připomínek výboru bude odeslána prof. Klenerovi a tato bude poskytnuta pojišťovně. Předpokládá se vydání 2000 výtisků.

4. **Běh Terryho Foxe** – doc. Petruželka zpracoval zprávy ze všech projektů, které byly zaslány všemi řešiteli v termínu a dostačujícím rozsahu. Výbor OS rozhodl u všech projektů splnění výzkumného záměru a závěrečná zpráva bude předána zástupcům obce sokolské. **Připomínka členům OS – uzávěrka přihlášek pro letošní rok je 31. 3. 03.**

5. **Oznámení semináře** – dne 17. 3. 03 se koná v Brně pracovní setkání *Onkologů a zástupců pojišťoven. Pořádá HZP ve spolupráci se SZP, VZP a vedení Masarykova onkologického ústavu.*

Datum: Pondělí 17. 3. 2003

Místo: MOÚ BRNO, zasedací místnost 4. p. nová budova
Čas: 11:00 hod. .

6. **Ceny za publikace:**

Návrhy

Cena Paula Janssenova:

prof. Klener: Klinická onkologie

prof. Mayer, Starý: Leukemie, nakl. Grada Praha 2002
doc. Eckschlager Tomáš, Richard Průša: Laboratorní vyšetření v onkologii, nakladatelství Triton, Praha 2002

Cena ČOS

Koutecký, Kabíčková, Starý: Dětská onkologie pro praxi

Cena ČLS

Adam, Vorlíček: Diagnostické a léčebné postupy u maligních chorob

7. **Různé**

a) Dopis firmy Janssen-Cilag ohledně preskripcce Durogesicu. Výbor doporučil zrušení kodu P.

b) Dopis firmy Novartis – Gleevec v léčbě GIST. Výbor OS doporučuje rozšíření indikace léčby pro nádory GIST s Overexpresí c-kit., s podmínkou soustředění této léčby ve vybraných pracovištích komplexní onkologické péče.

c) Indikace rekombinantního erythropoetinu. Výbor OS trvá na doporučených a již schválených indikacích pro rekombinantní erythropoetin v léčbě solidních nádorů, jak je zveřejněno na stránkách linkos.

d) Dopis doc. Abrahámové ohledně léčby vyšší linií chemoterapie u testikulárních nádorů. Léčbu vyšší řady řeší vypracované doporučené postupy v souladu s požadavkem.

e) Seminář o problematice DRG – za OS nominován prim. Šmelhaus.

8. **Nově přijatí členové:**

MUDr. Babičková Lenka, KNTP Bohunice, FN Brno, Jihlavská 20, 625 00 Brno – Bohunice

MUDr. Kaplanová Jana, Klinika plicních nemocí a tbc FN Brno – Bohunice, 625 00 Brno – Bohunice

MUDr. Ehrmannová Jana, odd. klinické onkologie, SPEA s. r. o., nám. Nár. hrdinů 2, 771 11 Olomouc

MUDr. Krynská Jana, Plicní oddělení, Baťova nem. Zlín, Havlíčkovo náb. 600,762 75 Zlín

MUDr. Kubová Olga, Klin. nem. plicních a tbc., FN Brno-Bohunice, Jihlavská 20, 625 00 Brno-Bohunice

MUDr. Pálková Ivana, Klin. nem. plicních a tbc., FN Brno-Bohunice, Jihlavská 20, 625 Brno-Bohunice

MUDr. Roubíčková Alena, ÚRO FN Bulovka, Na Truhlářce 100, 180 00 Praha 8

Doc. MUDr. Skříčková Jana, CSc., Klin. nem. plicních a tbc., FN Brno-Bohunice, 625 Brno-Bohunice

MUDr. Štěpánek Petr, odd. II. interní – onkologická ambulance, Státní slezská nemocnice Opava, Olomoucká 86, 746 01 Opava

MUDr. Tomášková Marcela, Klin. nem. plicních a tbc., FN Brno-Bohunice, 625 00 Brno-Bohunice

MUDr. Vondroušková Ivana, Gynekologie, soukromý lékař, Vršovická 75a, 100 00 Praha 10

MUDr. Zemanová Milada, Onkol. klinika VFN, U Nemocnice 2, 128 08 Praha 2

Prof. MUDr. Pavel Klener, DrSc., předseda