
klinická onkologie

2/2008

ROČNÍK / VOLUME 21

15. dubna 2008

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

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

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

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

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

Vychází 6krát ročně / Issued six times a year
Roční předplatné 180 Kč
pro studenty LF 90 Kč

Expedici na základě roční objednávky
vyřizuje redakce

Ministerstvo kultury ČR
MK ČR 5158
ISSN 0862-495 X (print)
ISSN 1802-5307 (online)

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

INDEXED IN EXCERPTA MEDICA
EXCERPTED IN BIBLIOGRAPHIA
MEDICA CZECH

ČASOPIS ČESKÉ ONKOLOGICKÉ SPOLEČNOSTI
A SLOVENSKEJ ONKOLOGICKEJ SPOLEČNOSTI

THE JOURNAL OF THE CZECH AND SLOVAK
ONCOLOGICAL SOCIETIES

VÝKONNÁ REDAKČNÍ RADA
MANAGING EDITORS

VEDOUcí REDAKTOR
EDITOR-IN-CHIEF

REJTHAR ALEŠ

VÝKONNÝ REDAKTOR
DEPUTY EDITOR

FAIT VUK

REDAKTOŘI
ASSOCIATE EDITORS

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

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

REDAKČNÍ RADA
EDITORIAL BOARD

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

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

ČESTNÍ ČLENOVÉ REDAKČNÍ RADY
EDITORS EMERITI

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

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

Vyzvaný článek

Z. Mechl, P. Smílek, R. Červená

Současné strategie léčby karcinomů ORL oblasti 45

Přehled

Němec P., Kuglík P., Hájek R.

Úloha chromozomových translokací při vzniku a vývoji mnohočetného myelomu 53

Původní práce

Očadlíková D., Kovářová L., Hájek R., Michálek J.

Příprava myelom-specifických T lymfocytů aktivovaných dendritickými buňkami naloženými nonapeptidy odvozenými od mucinového proteinu muc1 a katalytické podjednotky telomerázy htert 59

Doleželová H., Šlampa P., Ondrová B., Bolčák K., Gombošová J., Sovadinová Š., Novotný T., Růžičková J.,

Hynková L., Opletal P., Forbelská M.

Význam PET v diagnostice a predikci léčebné odpovědi karcinomu cervixu u pacientek léčených radioterapií – výsledky pilotní studie 66

Kazuistika

Míroslava Svíteková, Luboš Minář, Z. Pačovský

Carcinoma mammae v puerperiu 71

Zpráva

Šlampa P., Smrčka M., Bolješčíková E., Lakomý R., Kramár F., Příbáň V., Malinová B., Štěrba J., Pajdlhauser R.

Závěry „winter glioblastoma meeting“ 2008 74

Aktuality v onkologii

Novák J., Šachlová M., et al.

Karcinoidy v populaci české republiky 75

Onkologické společnosti

Zápis ze schůze výboru České onkologické společnosti 12. února 2008 v ORTO FN Plzeň 76

CONTENTS

Invited article

Z. Mechl, P. Smílek, R. Červená

Current treatment strategies for patients with cancers of the head and neck 45

Review

Němec P., Kuglík P., Hájek R.

The origin and formation of chromosomal translocations in multiple myeloma 53

Original publications

Očadlíková D., Kovářová L., Hájek R., Michálek J.

The preparation of myeloma-specific T cells activated with dendritic cells loaded with nonapeptides derived from mucin protein MUC1 and catalytic subunit of telomerase hTERT 59

Doleželová H., Šlampa P., Ondrová B., Bolčák K., Gombošová J., Sovadinová Š., Novotný T., Růžičková J., Hynková L., Opletal P., Forbelská M.

The role of pet in the diagnosis and prediction of the treatment response in patients with cervical carcinoma treated with radiotherapy – results of pilot study 66

Case report

M. Svíteková, L. Minář, Z. Pačovský

Breast cancer in puerperium 71

Report

Šlampa P., Smrčka M., Bolješčíková E., Lakomý R., Kramár F., Příbáň V., Malinová B., Štěrba J., Pajdlhauser R.

„Winter Glioblastoma Meeting“ 2008 outcomes 74

Topicalities in oncology 75**Oncological associations** 76

SOUČASNÉ STRATEGIE LÉČBY KARCINOMŮ ORL OBLASTI.

CURRENT TREATMENT STRATEGIES FOR PATIENTS WITH CANCERS OF THE HEAD AND NECK.

MECHL Z.¹, SMILEK P.², ČERVENÁ R.¹

¹ KOMPLEXNÍ ONKOLOGICKÉ CENTRUM, ODDĚLENÍ KLINICKÉ A RADIAČNÍ ONKOLOGIE.

² KLINIKA OTORINOLARYNGOLOGIE A CHIRURGIE HLAVY A KRKU, LF MASARYKOVY UNIVERZITY A FN U SV ANNY V BRNĚ

Souhrn

Díky novým léčebným postupům dochází v posledních letech k výrazným změnám v léčbě nádorů hlavy a krku. Multidisciplinární protokoly, neoadjuvance u místně pokročilých nádorů, konkomitantní chemoradioterapie s nebo bez cytostatické indukce, zachovné protokoly a zcela recentně biologická terapie přináší určitý pokrok a změnu léčebných náhledů. Otázky možného downstagingu a zachování orgánu jsou častým předmětem současných diskuzí. Důraz je kladen na hodnocení terapeutického indexu, tj. poměru mezi léčebným výsledkem a toxicitou. Záměrem nových metod je zlepšení účinnosti léčby bez zvyšování její toxicity. Je podán přehled současných optimálních léčebných postupů. Inkorporace nových látek, nové kombinační postupy, použití nových biomarkerů pro upřesnění a individualizaci terapie a výrazná podpůrná terapie jsou cílem dalších léčebných snah.

Klíčová slova: nádory ORL oblasti, chirurgická léčba, radioterapie, chemoterapie, inhibitory EGFR, optimální léčebné postupy.

Abstract:

Head and neck squamous cell cancer (HNSCC) management is evolving rapidly. Approaches under exploration include induction chemotherapy, altered fractionation radiation with chemotherapy, intensity modulated radiation therapy (IMRT) and the use of biologically targeted drugs to enhance radiation. The goal of the new methods is improving the effectivity without increasing the toxicity. This article will focus mainly on locally advanced HNSCC, which frequently remains a clinical challenge, review state-of-the-art therapy and introduce promising novel therapies. For the future the incorporation of new agents, the use of novel biomarkers to accurately assess and individualize therapy, and expanded supportive care approaches will play an increasingly important role.

Key words: head and neck cancer, surgery, radiotherapy, chemotherapy, EGFR receptor inhibitors, disease management.

Úvod

Léčba nádorů ORL vstoupila do nového období. Informace přicházejí rychleji, než klinické studie jsou schopny je ověřit. (Canellos)(1).

Spinoceulární karcinomy hlavy a krku (HNSCC) patří mezi jednu z předních příčin úmrtí na zhoubná onemocnění. Celosvětově se udává výskyt 400 – 500.000 nových případů ročně (2). Přes intenzivní kampaň proti kouření, jedné z hlavních příčin HNSCC, se v posledních letech jejich výskyt nesnížil. Zlepšilo se ale 5leté přežití. American Cancer Society of Clinical Oncology uvádí následující údaje.

Tabulka 1. 5 leté přežití nemocných s HNSCC (3)

	1975-77 (%)	1984-1986 (%)	1996-2002 (%)
Hrtan	51	56	66
Dutina ústní	53	55	60

Přesto, že HNSCC jsou většinou dobře přístupné vyšetření, pouze 15-20% pacientů přichází v časném, potencionálně kurabilním stadiu. Některé nádory jsou symptomatické až v pokročilém stadiu, což je jednou z příčin, že 75 – 80% pacientů je diagnostikováno s místně pokročilým onemocněním. Vzhledem k lokalizaci nádorů dochází i po úspěšné léčbě ke snížení kvality života (kosmetické a funkční defekty).

Etiologie

Existuje celá řada faktorů, které zvyšují riziko vývoje nádorů ORL oblasti. Typický pacient s karcinomem dýchacích či polykacích cest je muž nad 50 let, s horším ekonomickým zázemím, s nezdravou stravou a špatnou hygienou dutiny ústní, kuřák a alkoholik (4).

Kouření a alkohol patří mezi hlavní příčiny většiny HNSCC. Cigaretový kouř obsahuje vysoký počet toxinů a karcinogenů, včetně benzenu a karbon monooxidu. Alkohol může mít vliv na karcinogenezi prostřednictvím chronického

dráždění sliznice chemickou reakcí s karcinogeny, opakovaný kontakt sliznice s alkoholem vede ke zvýšení propustnosti buněčných membrán a usnadnění průniku karcinogenů rozpuštěných v alkoholu.

Věk. HNSCC jsou méně časté u lidí mladších 50 let. Pravděpodobnost postižení se zvyšuje věkem.

Pohlaví: HNSCC jsou častější u mužů. S přibývajícím počtem kuřaček se zvyšuje v poslední době i počet postižení u žen.

Dieta: potrava chudá na ovoce a zeleninu, zvyšuje pravděpodobnost vývoje nádorů.

Konzumace solených uzenin, tuků a nedostatek látek s antioxidačním účinkem zvyšuje riziko karcinogeneze.

Prostředí. Inhalace některých průmyslových chemikálií má vztah k některým typům nádorů ORL. Také delší expozice na UV záření může postihnout zvláště rty. Mezi průmyslové kancerogeny patří olovo, nikl, chrom, azbest, dehet a průmyslové oleje.

Infekce. Epstein Barrův virus postihuje mnoho lidí, aniž by byl virulentní. Určitý počet lidí infikovaných EB virem může být postiženo nazofaryngeálním karcinomem. EB virus je jednou z hlavních příčin vzniku karcinomu nosohltanu v populaci Dálného východu. Infekce herpes virem 1 je spojována s vyšším rizikem karcinomu dutiny ústní.

Genetika. Genetika je zajímavá ve východní Asii a Orientu zvláště pro karcinomy nosohltanu.

Léčba karcinomů ORL

Volba léčebného postupu závisí na histologickém typu nádoru, jeho lokalizaci a pokročilosti (TNM klasifikace), dále na celkovém stavu a individuálním přání pacienta. Hlavním léčebným přístupem je chirurgie, radioterapie, chemoterapie a v poslední době i biologická terapie.

Při léčbě HNSCC lze v současné době sledovat celosvětově snahu o prodloužení přežití při zachování přijatelné kvality života a léčebné postupy prochází výraznými změnami. Z léčby jedné odbornosti se stává přístup multidisciplinární.

Vyvíjí se nové strategie: integrace systémové chemoterapie do radioterapeutických režimů, indukční terapie, alterovaná frakcionační radioterapie v kombinaci s chemoterapií, IMRT (Intensity modulated radiation therapy) a v poslední době se zaměřuje pozornost i na využití cílelé biologické terapie. Všechny tyto změny se významně projevují v dosažení lepšího přežití.(5) Důraz je kladen na hodnocení terapeutického indexu, t.j. poměru mezi léčebným výsledkem a toxicitou. Záměrem nových metod je především zlepšení účinnosti léčby bez zvyšování její toxicity.

Nemocní v **časném stadiu** jsou léčeni chirurgií anebo radioterapií a více než 80% z nich má naději na vyléčení. Dlouhodobé léčebné výsledky u nemocných s **místně pokročilým** onemocněním jsou nedostatečné.

Při použití kombinace chirurgie s následnou chemoradioterapií u nemocných s resekabilním místně pokročilým onemocněním dochází k lokoregionální recidivě u 50–60% nemocných a metastatickému rozsevu u 20%. Nemocní s neresekabilním onemocněním mají 5leté přežití pouze 10–20%.(6)

Chirurgická léčba

Chirurgická léčba je základem nejméně ve dvou třetinách případů všech solidních nádorů oblasti hlavy a krku, umožňuje odstranit primární nádor, radikálně ošetřit spádový lymfatický systém a zrekonstruovat operovanou krajinu. (7) Chirurgickou léčbu lze považovat za léčbu poskytující nejvyšší procento uzdravení za předpokladu, že je možno odstranit celý nádor in toto s dostatečně širokou bezpečnostní resekční linií. Účinnost této léčby klesá s pokročilostí onemocnění. Chirurg zároveň usiluje o zachování funkčně důležitých, patologickým procesem nepostižených struktur. Aby byla možnost nádor bezpečně odstranit, je nutné použít takový přístup, při kterém jsou dobře patrné hranice nádoru, je zabezpečena kontrola krvácení a jsou šetřeny důležité okolní struktury současně s dobrým estetickým efektem.(8)

S rozvojem techniky souvisí zavedení některých postupů, jako jsou moderní zobrazovací metody, nová mikroskopická technika, počítačem navigované operace zejména v oblasti rhinobaze, laser, koblace aj. Došlo také k pokroku v jiných medicínských oborech, například v anesthesiologii, což umožňuje provádět mnohohodinové operace s minimální morbiditou a s navazující intenzivní péčí. Vývojové možnosti zlepšení chirurgické léčby jsou na rozdíl od konzervativní onkologické léčby téměř vyčerpány, chirurgická léčba se tak dostává k hranicím možností a zdá se, že již příliš nepřispěje ke zlepšení přežití nemocných.

K nejvíce diskutovaným otázkám v chirurgické léčbě solidních nádorů hlavy a krku patří radikalita chirurgických postupů versus kvalita života, otázka rekonstrukce pooperačních defektů a otázka ošetření lokoregionálních metastáz.

Nebylo dosud dosaženo všeobecné shody v otázce pojmu **operabilní versus inoperabilní nádor**. Termín inoperabilní (neresekabilní) nádor je nepřesně definován, názor na operabilitu je ovlivněn možnostmi chirurgické rekonstrukce opravované krajiny a závisí na multidisciplinární spolupráci při rekonstrukci a rehabilitaci. Za inoperabilní se považuje takový nádor, u něhož pochybujeme o možnosti jeho odstranění v bezpečných anatomických hranicích nebo když nemáme jistotu, že nádor budeme moci zvládnout i s pomocí pooperační radioterapie. Typicky takové nádory postihují krční obratle, plexus brachialis, hluboké krční svaly, krkavici, obě vnitřní jugulární žíly současně a lebeční spodinu. Určitým trendem je opuštění superradikálních výkonů ve prospěch funkčně a kosmeticky příznivějšího řešení, zajištěného radioterapií nebo chemoterapií.

Cílem tzv. **záchového protokolu** je ušetření orgánu a tím i a zajištění přijatelné kvality života. Toto šetření orgánů nesmí být na úkor délky přežití nemocných. Uplatnění záchového protokolu je indikováno u nemocných s lokálně pokročilým, ale ještě resekabilním nádorem. Chirurgická léčba je zcela vynechána nebo alespoň prováděna v minimálním rozsahu. Použití záchového protokolu u nádorů hlavy a krku je indikováno zvláště u laryngofaryngeálních nádorů (zachování hrtanu), u karcinomu jazyka (zachování jazyka) a u karcinomů vedlejších dutin nosních (zachování oka). Při uplatnění záchového protokolu u laryngálního a hy-

pořadí nádoru je šetřen hrtan. Nemocnému zůstává zachována funkce řeči, dýchání i polykání. Záchovný protokol je zvláště výhodný, je-li nádor převážně v hypofaryngu – při chirurgické léčbě je nutno obětovat i funkčně normální hrtan. K dalším výhodám patří i možnost záchranné chirurgické léčby a pozitivní vliv na psychologii nemocných (čím větší strukturální změny, tím závažnější jsou negativní psychologické následky). K nevýhodám záchovného protokolu patří zvýšená toxicita snižující kvalitu života, vedlejší účinky léčby se sčítají a to bez prodloužení života. Řada nemocných s karcinomy hlavy a krku také mají závažné přidružené choroby, které kontraindikují podání konkomitantní chemoradioterapie. Použití záchovného protokolu má svá omezení. Pravděpodobnost, že budeme nuceni obětovat funkci orgánu při snaze o dosažení lokální kontroly nad nádorem vzrůstá se zvětšujícím se objemem nádoru. Při nárůstu toxicity léčby také stoupá podíl nemocných vyžadujících trvale vyživovací sondu u laryngofaryngeálních karcinomů. Nemocní léčení se záměrem šetření orgánů, kteří se stávají trvalými nosiči kanyly a vyživovací sondy zřejmě měli být léčeni chirurgicky. Zachování orgánu bez zachování jeho funkce má pro pacienta jen malý význam. Za vhodné kandidáty pro záchovný protokol nejsou považováni nemocní s průnikem tumoru chrupavkou. V budoucnu budou zřejmě hrát významnou roli při indikaci záchovného protokolu biologické markery. Významnou součástí léčebných postupů je kvalitní rehabilitační péče o polykání, výživu, řeč a eliminace kouření.

Radioterapie

Radioterapie je jednou ze základních léčebných modalit v terapii nádorů hlavy a krku.

Cílem kurativní radioterapie je lokoregionální kontrola onemocnění. Ke zvýšení účinku významně přispívá současný vývoj nových technologií, nové poznatky z oblasti radiobiologie, kombinace již ověřených léčebných metod a vývoj nových léčiv.

Nádory hlavy a krku jsou v 90% spinocelulární karcinomy, které jsou charakteristické především lokálním růstem a metastazováním lymfatickou cestou. Hematogenní diseminace nastává až v pozdních stádiích choroby. Nejvyšší riziko lymfatického rozsevu je u nádorů nasofaryngu a piriformního sinu, naopak nízké riziko je u karcinomu hlasivek a paranasálních dutin. Dvě třetiny nemocných přichází k léčbě s pokročilým onemocněním, to znamená s postižením spádových lymfatických uzlin. Prognóza pokročilého onemocnění je nepříznivá, pětileté přežití nepřesahuje 20-30%.

Léčebný plán je určován na základě lokalizace primárního tumoru, rozsahu onemocnění dle TNM klasifikace histologického typu, gradingu, předchozí léčby. Celkový stav, věk, komorbidita, nutriční stav a váhový úbytek mohou významně ovlivnit léčebný záměr. Neméně důležitá je spolupráce pacienta a jeho přání s preferencí léčebných možností. Definitivní léčebný postup je určen na mezioborové indikační komisi, které se pravidelně účastní tým odborníků složený z otolaryngologa, diagnostika, radiačního a klinického onkologa, plastického chirurga. Nemocný je

s postupem léčby seznámen a souhlas s léčbou stvrzuje podpisem informovaného souhlasu.

Radioterapie je dle záměru kurativní nebo paliativní, dle zařazení do léčebného plánu samostatná nebo kombinovaná, dle umístění zdroje ionizujícího záření – zevní radioterapie nebo brachyradioterapie

Kurativní radioterapie. Aplikované dávky radioterapie dosahují 70 Gy. Při aplikaci takto vysokých dávek je nutno dodržet toleranční dávky zdravých orgánů a tkání, aby v důsledku pozdní toxicity nedošlo ke zhoršení kvality života nemocného. Cílem pooperační radioterapie je eradikace zbytkové mikroskopické choroby.

Paliativní radioterapie. Slouží k odstranění symptomů, úlevě obtíží. Aplikované dávky jsou nižší, využívá se zkrácených frakcionačních režimů.

Reiradiace je často jedinou možností léčby u inoperabilních lokoregionálních recidiv. Tyto postihují 50-60% nemocných. Recidivy jsou často chirurgicky neřešitelné a aplikace paliativní chemoterapie je v těchto případech bez většího efektu.

Zevní radioterapie. Jako standard zdroje záření se používá lineární urychlovač.

Nemocný musí být ozařován v přesně identifikované, reprodukovatelné poloze, která je zajištěna fixačními pomůckami. V současné době je možnost využití variabilních systémů fixačních masek z termoplastického materiálu. Používají se další pomůcky k šetření zdravých tkání např. depresor jazyka, patra.

Technika ozáření. Vzhledem k pokročilému rozsahu onemocnění u většiny nemocných je zpravidla nutno ozářit primární tumor a svodnou lymfatickou oblast. Z důvodu přítomnosti orgánů s nižší tolerancí vůči požadované dávce záření v cílovém objemu (rizikové orgány) je radioterapie nádorů hlavy a krku složitá. Využívá se techniky postupně se zmenšujících polí kdy po určité dávce aplikované do cílového objemu se vyšší dávka aplikuje mimo kritické orgány. Standardním postupem v současné době je třídimenzionální konformní radioterapie 3D-CRT. Tato technika přizpůsobuje tvar ozařovaného objemu tvaru nádoru. Ke tvarování polí se používá u moderních přístrojů mnohočetný listový kolimátor (9). Při technice **IMRT** (radioterapie s modulovanou intenzitou svazku) je pacient ozařován fotonovými svazky s modulovanou intenzitou, tj. s nehomogenním rozložením toku fotonů. Výhodou IMRT je možnost eskalace dávky v blízkosti rizikových orgánů a cíleně nehomogenní rozložení dávky záření v cílovém objemu. Technika vyžaduje přístrojové vybavení, plánovací systém s možností inverzního plánování, fixační pomůcky. Kromě technického vybavení klade nároky na odbornost lékaře a fyzika a je časově a finančně náročná.

Nejmodernější přístroje disponují i technologiemi umožňujícími ověření správnosti ozáření – verifikační systémy. Jsou to portálové zobrazovače a nejnověji systémy pro **IGRT** (obrazem řízená radioterapie) (10).

Frakcionace znamená rozložení dávky v čase tj. rozložení celkové dávky na jednotlivé dílčí denní frakce. Důvodem frakcionace je vyšší schopnost normálních buněk reparovat radiační poškození. U nádorů hlavy a krku se využívá radioterapie s alterovanými frakcionačními režimy. Reži-

my vychází z poznatků biologického chování nádorů této lokalizace. Jejich použitím se zvyšuje lokoregionální kontrola a tím i přežití pacientů.

Brachyradioterapie je technika ozáření kdy je zdroj záření zaváděn přímo do nádoru nebo jeho bezprostřední blízkosti, eventuelně pooperačně do oblasti lůžka nádoru. Výhodný je prudký spád dávky se stoupající vzdáleností od zdroje záření a tím dosažení vysoké dávky záření v nádoru při šetření zdravých tkání. Brachyradioterapie je indikována u časných stadií nádorů v oblasti rtů, hrany jazyka, spodiny dutiny ústní, nádorů nosohltanu a v případě paliativní reiradiace.

U časných stadií nádorů hlavy a krku vystačíme v léčbě s jednou modalitou, radioterapií nebo chirurgií, přičemž radioterapie umožňuje zachování (preservaci) postiženého orgánu.

U pokročilého onemocnění je nutná kombinace léčebných metod – radioterapie, chemoterapie a chirurgie. U inoperabilních forem nádorů kombinační postup nejen zlepšil kvalitu života nemocných, ale dle posledních výsledků došlo i k prodloužení celkového přežití. Standardní kombinací je radioterapie a chemoterapie s platinovými deriváty.(11)

Kombinovaná léčba u pokročilého onemocnění dosahuje vyšší lokoregionální kontroly než samostatná radioterapie. Intenzifikace léčby má za následek zvýšení toxicity léčby. Akutní toxicita může být kožní, slizniční nebo hematologická. Akutní mucositis především může být limitujícím faktorem pro dokončení kurativní léčby. Před zahájením radioterapie je nutná sanace chrupu, zajištění preventivní perkutánní endoskopické gastrotomie či prosté gastrotomie. V průběhu radioterapie je důležitá intenzivní podpůrná léčba, nutriční podpora včetně dostatečné hydratace. Opakovaná edukace nemocného (i rodinných příslušníků) je nezbytným požadavkem k úspěšnému dokončení léčby.

Vzhledem k intenzifikaci léčby přetrvává nyní akutní toxicita léčby déle než po aplikaci samostatné radioterapie, je však stále reparaibilní. Kvalitu života vyléčeného nemocného limituje především toxicita pozdní – chronická, která je ovlivnitelná velmi omezeně. K jejím projevům patří například atrofie pokožky, teleangiektázie, pigmentace pokožky, fibróza podkoží, xerostomie, zvýšená kazivost chrupu, dysfagie, ototoxicita, neurotoxicita, osteoradionekróza, chronická myelopatie.

Sledování pacientů po léčbě představuje aktivní vyhledávání lokoregionálních recidiv, ložisek vzdálené diseminace a sekundárních nádorů. Umožňuje vyhodnocení výsledků léčby, projevů chronické toxicity a zhodnocení kvality života pacientů po léčbě.

Léčebné výsledky u pokročilých nádorů hlavy a krku jsou neuspokojivé. Zvýšení místní kontroly vede sice ke zlepšení kvality života pacientů, ale zatím bez výraznějších efektů na přežití. Ke zlepšení léčebných výsledků přispívá rozvoj nových přístrojových a výpočetních technologií, aplikace nových léčebných schémat využívající možnosti kombinace alterovaných frakcionačních režimů radioterapie a chemoterapie, aplikace radiosenzibilizujících a radioprotektivních látek, vývoj nových farmak. Nezbytnou součástí každého hodnocení léčebných výsledků musí být i zhodnocení poléčebné kvality života pacienta.

Chemoterapie

Chemoterapie nádorů ORL patřila dlouho mezi málo úspěšné kapitoly klinické onkologie. Úloha chemoterapie v léčbě nádorů ORL byla omezena na paliativní podání u nemocných s recidivujícím nebo metastatickým postižením. Pokrok během posledních let přinesl řadu nových informací, které změnily léčebné náhledy na použití chemoterapie.

Lokoregionálně pokročilé onemocnění.

Použití chemoterapie v léčbě tohoto stadia onemocnění je v současné době vyvinula do následujících modalit .

A. Chirurgie následovaná adjuvantní chemoradioterapií. Predikcí recidivy po chirurgickém výkonu jsou pozitivní okraje resekce, extranodální extrakapsulární rozsev, perineurální invaze a přítomnost postižených regionálních uzlin.

Adjuvantní postoperační RT je dobře prostudována. Standardem operabilních nádorů ORL oblasti je chirurgie + adjuvantní postoperační radioterapie která snižuje procento místních recidiv.

Adjuvantní postoperační chemoterapie. Použití adjuvantní chemoterapie po místní definitivní terapii naráží na řadu problémů. Ve studiích fáze II nebyl dokumentován přínos adjuvance ve smyslu prodloužení přežití. Jiným problémem je častý nesouhlas nemocných. Pro nemocné po radikálním chirurgickém výkonu se adjuvantní podání samotné chemoterapie ukázalo jako málo nadějně a z hlediska evidence based medicine **se nedoporučuje.**(12)

Adjuvantní pooperační chemoradioterapie. V řadě studií bylo dokumentováno, že konkomitantní chemoradioterapie je pro místně pokročilé nádory účinnější než samotná radioterapie.(13) Účinku cytostatik mohou současně být vystaveny nejen primární nádor ale i mikrometastázy. Pooperační konkomitantní CRT u místně pokročilých nádorů ORL, zvláště u pacientů vysokého rizika dnes patří mezi postupy standardní. Pro nemocné bez vyššího rizika je přínos CRT ve srovnání se samotnou radioterapií méně jasný.

B. Definitivní konkomitantní chemoradioterapie

Během posledních let došlo k vývoji atraktivní alternativy k chirurgické léčbě. Konkomitantní chemoterapie (CRT) byla původně vyvinuta jako postup pro lokoregionálně pokročilé, inoperabilní nemocné a dnes je zvažována jako jedna z možností definitivní léčby i u resekabilních nádorů.(14) Většina studií pracovala s kombinací **cisplatina + RT**, při použití dávky 100 mg/m², 3 cykly během RT, nebo s kombinací **cisplatina + 5-fluorouracil + RT**. Není však důkazů že by tato dvojkombinace byla účinnější než cisplatina samotná .V současné době je věnována pozornost taxanům.

Souhrnem: konkomitantní chemoradioterapie je v léčbě místně pokročilých nádorů ORL v současné době hodnocena jako účinný prostředek lokoregionální kontroly, na hladině *evidence based IA*.

C. Indukční chemoterapie.

Indukční chemoterapie je studována více jak 20 let a je nejvíce diskutovaným, doporučovaným nebo zavrženým postupem. Indukční chemoterapie kombinací cisplatiny + 5-fluorouracil (PF) byla vyvinuta v pozdních

70. letech Al Sarrafem.(15) Původní hypotéza předpokládala, že indukční chemoterapií může být dosaženo zlepšení léčebných výsledků a zachování funkčnosti orgánů. Podkladem byla pozorování, že chemoterapie PF (cisplatina + 5-fluorouracil) vedla často k dramatickému zmenšení pokročilých, neresekabilních HNSCC.. Entusiasmus pro indukční chemoterapii se začal zmenšovat poté, když bylo zjištěno že nedochází k prodloužení přežití.

Analýzou studií indukční chemoterapie byly získány následující informace:

- Odpověď na indukční chemoterapii je prediktivní na odpověď následující radioterapie.
- Indukční chemoterapie může potlačit vývoj vzdálených metastáz. Benefit snížení výskytu vzdálených metastáz není však příliš významný, neboť pacienti častěji umírají spíše na lokální progresi nádoru.
- Přířosem je zlepšení celkového stavu pacienta díky zmírnění symptomů spojených s růstem nádorů.

V současné době slaví indukční terapie opět renesanci díky výsledkům čtyř studií fáze 3, které přinesly výrazně pozitivní výsledky po zařazení taxanů ke kombinaci PF (TPF).(16,17)

Na základě těchto a dalších studií se v současné době se považuje indukce **TPF následovaná chemoradioterapií** za účelnou alternativu k samotné chemoradioterapii. Indukci ale zatím nelze považovat za postup standardní. Je možné, že po ověření a uvedení individualizované cílené terapie, indukční chemoterapie by mohla být pro nemocné se špatnou prognózou a místně pokročilým nádorem klíčovou součástí agresivní, kurativní terapie.

Kombinace indukční chemoterapie následované CRT

Tento postup představuje poslední stupeň vývoje indukčních postupů a je v současné době v centru zájmu pro studia, kde dosud byla CRT standardem. Tento postup nabízí řadu předností:

1. Zlepšení místní lokoregionální kontroly.
2. Možnost zachování orgánu.
3. Zmenšení objemu nádoru před zahájením CRT.
4. Identifikace nemocných s resistantní chorobou, kteří vyžadují chirurgickou léčbu spíše než CRT, nebo více agresivní CRT.
5. Zlepšení celkového stavu díky včasné kontrole lokoregionálního postižení.
6. Vhodné u velkých neresekabilních nádorů.

Souhrnem lze konstatovat, že indukční chemoterapie by mohla zlepšit přežití u **místně pokročilých nádorů** ORL oblasti v kombinaci s CRT, což je zatím ověřeno pouze na nižší hladině evidence. Indukční chemoterapii + CRT zatím nelze doporučit pro standardní použití, ale v některých situacích může být vhodná a užitečná. .

D. Inhibitory EGFR v kombinaci s RT nebo CT

Integrace molekulární cílené terapie je v současné době nejzajímavější oblastí klinického výzkumu. Protinádorová terapie s použitím EGFR inhibitorů byla navržena již v časných 80. letech, jako jeden z prvních léčebných přístupů pro interferenci se specifickým molekulárním cílem nádorových buněk.(19) Byla založena na autokrinní hypotéze autonomní proliferace nádorových buněk.

Tabulka 2: Současné hlavní cíle biologické terapie karcinomů ORL v klinických studiích

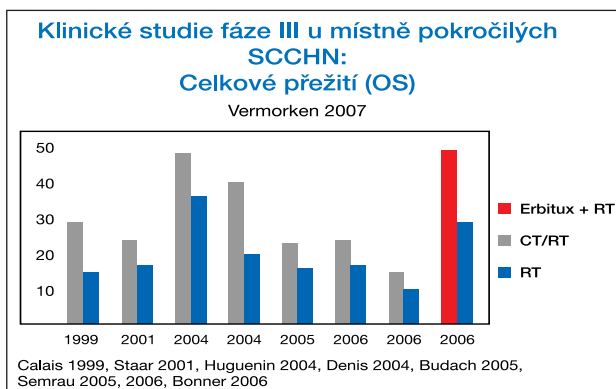
EGFR	monoklonální protilátky	cetuximab
	cílené na EGFR	
	anti EGFR TKI	erlotinib
		gefitinib
	inhibitory EGFR a HER2	lapatinib
VEGF cílené látky		bevacizumab
COX-2 inhibitory		

První studie prokázaly, že inhibice EGFR přináší:

- zlepšené výsledky léčby pacientů s vysokým rizikem recidivy,
- snížení toxicity při nezkráceném přežití,
- zvýšení účinku radioterapie .

Ve studii Bonnera a spol. byla u nemocných s místně pokročilými nádory ORL srovnána terapie samotným zářením s kombinací záření + cetuximab. Medián trvání kompletní remise byl 24,4 měsíce pro kombinační postup vs 14,9 měsíců pro samotnou radioterapii.(19)

Graf 1: Trvání celkového přežití bylo 49 vs 29,3 měsíce, (p = 0,03).



Metaanalýzy randomizovaných studií chemoterapie vs radioterapie a Bonnerovy studie cetuximab + radioterapie vs radioterapie prokazují, že cetuximab v kombinaci s radioterapií přináší nejlepší výsledky celkového přežití.

Na základě těchto a dalších výsledků FDA v roce 2006 **schválila cetuximab** pro léčbu nádorů ORL,(20) následně použití současného podání Erbituxu s radioterapií u místně pokročilých nádorů ORL oblasti akceptovalo ESMO. Indikaci doporučila ČOS v Zásadách cytostatické léčby (srpen 2007). Cetuximab byl první novou látkou schválenou pro léčbu nádorů této lokalizace za 40 let.

Cetuximab je chimérická monoklonální protilátka, která inhibuje nádorový růst a metastázování.(21)

- Cetuximab vede k regresi u 10 – 20% pokročilých onemocnění, při výrazném procentu stabilizace onemocnění.
- V kombinaci s radioterapií má výrazný účinek u dosud neléčených, místně pokročilých nádorů.
- V kombinaci s hyperfrakcionovanou radioterapií prokázal významný klinický efekt především u karcinomů orofaryngu.

- V kombinaci s radioterapií je vhodný zejména u pacientů s místně pokročilým, neresekabilním onemocněním, s kontraindikací pro chemoterapii.

Kombinace je léčbou volby u nemocných, u kterých použití standardní chemoradioterapie představuje určité riziko.(22) V současnosti probíhají studie ověřující možnost kombinace cetuximabu s chemoradioterapií v rámci orgán zachovného protokolu a u neresekovatelných nádorů.

Další přípravky, **gefinitib, erlotinib a lapatinib** jsou většinou v počátečních fázích klinického výzkumu, s některými zajímavými, nadějnými výsledky. Zatím však nemají dopad do praxe.

Současné optimální léčebné postupy

Místně pokročilé onemocnění představuje více jak 50% ze všech nových případů a jejich léčba je často obtížná. Léčebné možnosti jsou:(23)

- Chirurgická léčba následovaná adjuvantní radioterapií.
- Chemoradioterapie následovaná chirurgií jako záchrannou léčbou.
- Indukční chemoterapie následovaná definitivní místní terapií – chemoradioterapií, Chirurgií +/- adjuvantní terapií.

Nemocní v **časném stadiu** onemocnění jsou léčeni chirurgicky a/nebo radioterapií, při tom více jak 80% pacientů má naději na vyléčení. Dlouhodobé léčebné výsledky u nemocných s **místně pokročilým** onemocněním jsou zcela nedostatečné. Při použití konvenčních režimů radioterapie je dosahováno lokoregionální kontroly onemocnění pouze u 30% léčených. U nemocných s místně pokročilým, resekovatelným onemocněním i při optimálním použití kombinace chirurgické léčby s následnou chemoradioterapií dochází u 50-60% nemocných k lokoregionální recidivě a ve 20% nemocných k metastatickému rozsevu. Nemocní s neresekabilním onemocněním mají pětileté přežití pouze ve 10 – 20% případů.

Tabulka č 3: Pětileté přežití nemocných s nádory ORL oblasti dle stádií.

Stadium	5leté přežití %
I	91
II	77
III	61
IVa	32
IVb	25
IVc	4<

Volba standardního postupu odvisí od místa a stadia onemocnění. Při nízkém riziku jsou dvě možnosti léčby – operace nebo záření. Znamená to, že v počátečních fázích onemocnění je v podstatě jedna modalita, a čím vyšší je riziko, tím musí být agresivita léčby vyšší

Dle operability jsou dvě léčebné linie:

Operabilní pacienti, kde historicky je standardem operace následovaná radioterapií. Až koncem 90. let nastal obrat posunutím chemoradioterapie do první řady u vybraných nádorů. Druhá linie představuje **neresekabilní** onemocnění. Tito nemocní byli dříve léčeni pouze radioterapií. Zde

došlo k posunu chemoradioterapie do první linie s chirurgií jako záchranným postupem. Ve stadiu III a IV je dnes chemoradioterapie standardem. Bylo dosaženo hladiny evidence I jak v meta-analýzách, tak v randomizovaných studiích.(24)

Podobně jako v jiných onkologických oblastech, je důležité v léčbě nádorů ORL zvažovat terapeutický index, tj. poměr mezi léčebným výsledkem a toxicitou léčby. Záměrem nových léčebných metod je především zlepšení účinnosti léčby bez zvyšování její toxicity.

Směřujeme k modalitám, které zlepšují výsledky při konstantní hladině toxicity, jako například při hyperfrakcionaci, která zvyšuje místní kontrolu o 10 – 15% bez navýšení pozdní toxicity. Při chemoradioterapii je situace poněkud komplikovaná, ježto zvyšujeme toxicitu během a po léčbě, ale také výrazně zvyšujeme účinek. Léčebný index je zvýšen, ale hladina toxicity po chemoradioterapii nesmí být podceňována. Fibrosa, nekrosa a hematologické problémy mohou výsledky ovlivnit.

Většina režimů chemoradioterapie je založena na platině a je jasné, že při použití současných dávek bylo dosaženo také maximální tolerované toxicity. Proto se intenzivně hledají nové cesty, více účinných a méně toxických režimů. Výsledky posledních studií s inhibitory EGFR cetuximabem podaným současně s radioterapií demonstrují výrazný klinický benefit nad radioterapií bez zvýšení toxicity.

Souhrnem:

Použití chemoterapie, zvláště v léčbě místně pokročilých dramaticky pokročilo, umožnilo zlepšení léčebných výsledků a nové léčebné algoritmy. Výrazný posun nastává v problematice zachovných postupů laryngu a hypofaryngu, konkomitantní CRT se stala standardem v léčbě místně pokročilých i neresekovatelných nádorů.

Recidivující a metastatické onemocnění.

Léčebné možnosti nemocných s recidivujícím a/nebo metastatickým onemocněním jsou velmi omezené. V některých případech lze použít opět ozáření, záchrannou chirurgii, chemoterapii nebo pouze podpůrnou léčbu, což závisí od stavu nemocného, rozsahu a lokalizace nádorového postižení.

Použití **chemoterapie** je problematické, protože celkový stav pacientů v tomto stadiu je většinou natolik špatný že použití chemoterapie vylučuje. Hlavní úlohou chemoterapie v této situaci je paliace. Ve srovnání s podpůrnou léčbou je dosahováno 15 – 30% krátkodobých remisí, přežití je prodlouženo jen nevýrazně. Indikace chemoterapie musí být pečlivě zvážena z hlediska celkového stavu, předchozí léčby, rozsahu a lokalizace nádorového onemocnění a z hlediska možné toxicity .

V paliativní indikaci bylo zkoušeno velké množství cytostatik. Určitý přínos **cisplatinu** byl prokázán již před 20 lety. Nejvíce byly zkoušeny **metotrexát, 5-fluorouracil a bleomycin**. Možný přínos této chemoterapie spočívá spíše ve zmírnění symptomů, způsobených tlakem rostoucího nádoru. Ve studiích fáze II jsou novější látky: **taxany** (pactitaxel a docetaxel), gemcitabin, vinorelbin, ifosfamid a irinotekan, které dosahují vyššího procenta remisí. Zlepšení léčebných výsledků přinesly kombinační postupy. Dnes je nejčastěji používána kombinace **cisplatinu + 5-fluorouracilu**.

cíl. V randomizovaných studiích je dosahováno v průměru 31 % objektivních remisí. Chemoterapie může vést k léčebné odpovědi u méně než 30 % nemocných, a mediánu přežití 6 až 8 měsíců. Trojkombinací s taxany a cisplatinou bylo dosaženo 40 – 50 % krátkodobých remisí, bez významného zlepšení celkového přežití. Nemocní s progresí po paliativní chemoterapii mají velmi špatnou prognózu, s mediánem přežití ne více jak 100 dní.

Častou otázkou je, zda je účelné u nemocných s pokročilým onemocněním, po neúspěchu první řady, podání chemoterapie druhé řady. V několika málo studiích bylo v této indikaci doloženo jen 3% remise s mediánem přežití 3,5 měsíce. Použití chemoterapie druhé řady se proto považuje za velmi problematické a z hlediska *evidence based medicine* pro ni není doporučení.

Další vývoj směřuje k **biologické**, cílené terapii. Práce s cetuximabem, gefinitibem a erlotinibem uvádí 5 – 15 % remisí při použití v monoterapii. V roce 2007 byly publikovány dvě významné studie. Vermorken na ASCO 2007 prezentoval výsledky multicentrické studie se 103 pacienty, s recidivujícím/metastatickým karcinomem, progresujícím po předchozí léčbě cisplatinou. (25) Pacienti byli léčeni cetuximabem v týdenním podání. U nemocných, u nichž bylo dosaženo kompletní nebo částečné remise bylo pokračováno až do progresse onemocnění. Bylo zaznamenáno 13 % remisí, 46 % stabilizace onemocnění. Medián doby do progresse byl 70 dní. U nemocných s progresí byla podána kombinace cisplatinu (karboplatina) + cetuximab.

V randomizované studii fáze III. Studie EXTREME s 442 nemocnými která byla prezentována na ASCO 2007, bylo prokázáno, že v léčbě recidivujících/metastatických HNSCC může přidání cetuximabu k režimu první řady obsahující cisplatinu prodloužit život nemocných (26). Nemocní byli randomizováni pro týdenní podání kombinace cisplatinu (karboplatiny) + 5-fluorouracil, s cetuximabem nebo bez něj. Cetuximab byl podáván až do progresse nebo toxicity onemocnění. Medián přežití byl výrazně prodloužen ve skupině s cetuximabem (10,1 vs 7,4 měsíce), $p = 0,036$. Je to první studie, která prokázala benefit pro cetuximab v první linii recidivujících, refrakterních, nebo metastatických karcinomů hlavy a krku. Cetuximab představuje

nepochybné obohacení léčby v různých stadiích recidivujícího/metastatického onemocnění, další studie by měly ukázat na optimální způsob jeho využití v praxi. Na kongresu ASCO 2007 byla uvedena řada studií fáze 2 s použitím sorafenibu, sunitibu a různých kombinací, např gefinitib + metotrexat, nebo erlotinib + bevacizumab, však bez dopadu do klinické praxe. Očekává se, že budoucnost v oblasti cílené léčby pokročilých karcinomů hlavy a krku přinese (27):

- * zavedení nových přípravků (látky blokující EGFR nebo angiogenezi)
- * nalezení dalších kombinací (chemoterapie, antiEGFR, antiangiogeneze)
- * identifikaci pacientů vhodných pro cílenou léčbu použitím prediktivních markerů.

Pokroky v léčbě nádorů ORL oblasti v roce 2007.

Ve zprávě American Society of Clinical Oncology (3) byly uvedeny nejvýznamnější pokroky v léčbě, prevenci a screeningu nádorů v roce 2007. Pro nádory ORL oblasti jsou uvedeny dvě hlavní informace:

Role HPV infekce u karcinomů ORL oblasti. Dvě studie rozšířily poznatky o účinku HPV infekce u nádorů ORL oblasti. D'Souza a spol zjistili že orální HPV infekce je úzce spojena s některými typy nádorů ORL, bez ohledu na další rizikové faktory (alkohol a tabák). U 100 pacientů s karcinomem orofaryngu byl zjištěn HPV 16 u 72% pacientů (jeden z kmenů který je spojován s karcinomy cervixu) a u 64% pacientů byla zjištěna protilátka proti bílkovinám, běžně zjišťovanými u HPV 16. Nelze z toho vyvodit, že infekce HPV způsobuje orofaryngeální karcinom, ale je možné zvažovat, zda by bylo možné použít vakcinu proti HPV k prevenci některých karcinomů ORL oblasti.

V druhé studii Fakhry a spol zjišťovali vztah mezi HPV infekcí a léčebnou odpovědí a přežitím. Zjistili že pacienti HPV pozitivní měli lepší prognózu.

Cetuximab.

Cetuximab s chemoterapií jako léčba první řady prodlužuje přežití nemocných s HNSCC. Multicentrická studie fáze III Vermorkena prokázala poprvé účinnost cetuximabu a chemoterapie v první řadě léčby nemocných s recidivujícím nebo metastatickým onemocněním.

Literatura

1. Canellos GP. Clinical Oncology: Onward and Upward. J Clin Oncol 2008; 26: 2.
2. Grandis JR. Advances in the Medical Management of Patients With Head and Neck Cancer. New Engl J Med 2007; 357:17, 1695-1704.
3. Galow J, Ozols RF, Bajorin DF. Clinical Cancer Advances 2007: Major Research Society of Clinical Oncology. JCO 2008; 26:2, 1 – 12.
4. Neuwirthová J. Etiologie maligních nádorů hlavy a krku. EUNI 2007: Nádory hlavy a krku, 2-3.
5. Posner MR. Epidemiology, Outcomes and Conventional Treatment Options for Patients With Cancer of the Head and Neck. CME 2007: Advances in the Treatment of Cancer of the Head and Neck.
6. Lefebvre JL. Current issues and future therapy options for the treatment of head and neck cancer. Oncol Biotherapeutics 2001; 1:3, 2 – 23.
7. Smilek P. Chirurgická léčba karcinomů hlavy a krku.. In: Mechl Z, Smilek P, Neuwirthová J, et al. Maligní nádory hlavy a krku. Pears Health Cyber, EUNI, 2007.
8. Lefebvre JL, Chevalier D, Luboinski B, et al. Is laryngeal preservation with induction chemotherapy safe in the treatment of hypofaryngeal SCC? Final results of the phase III EORTC 24891 trial. Proc ASCO 2004; 22 : 14, 5531.
9. Šlampa P. et al. Zhoubné nádory hlavy a krku. Radiační onkologie v praxi II edit, 2007; 18 – 33.
10. Burkoň P. IMRT – Radioterapie s modulovanou intenzitou. Farmakoterapie 2008; v tisku.
11. Šlampa P. Přehled konkomitantní chemoradioterapie solidních nádorů. Čas Lék čes. 2003; 142 (Suppl 1): 4 – 8.

12. Domenge C, Marandas P, Vignoud J, et al. Post-surgical adjuvant chemotherapy in extracapsular spread invaded lymph node of epidermoid carcinoma of the head and neck. Second International Conference on Head and Neck Cancer. Boston 1988; Abst 74.
13. Cooper JS, Pajak TF, Forastiere AA, et al. Postoperative concurrent radiotherapy and chemotherapy for high risk squamous-cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med* 2004; 350: 1937-1944.
14. Fountzillas G, Ciuleanu E, Dafni E, et al. Concomitant radiochemotherapy vs. radiotherapy alone in patients with head and neck cancer. *Med Oncol* 2004; 21, 1: 95-108.
15. Al-Sarraf M, LeBlanc M, Giri PG, et al. Chemoradiotherapy versus radiotherapy in patients with advanced nasopharyngeal cancer: Phase III randomized Intergroup study 0099. *J Clin Oncol* 1998; 16: 1310-1417.
16. Vermorken JB, Remenar E, Carla van Herpen et al. Cisplatin, Fluorouracil, and Docetaxel in Unresectable Head and Neck Cancer. *N Engl J Med* 2007; 357: 17,1695 –1704.
17. Posner MR, Hershock DM, Blajman CR et al. Cisplatin and Fluorouracil Alone or With Docetaxel in Head and Neck Cancer. *N Engl J Med* 2007; 357: 17, 1705-1715.
18. Grandis JR. Integrating Novel Therapies With Standard Modalities in the Treatment of Head and Neck Cancer. *CME* 2006.
19. Bonner JAS, Harari PM, Goraly J et al. Radiotherapy plus cetuximab for squamous cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med* 2006; 354: 567-678.
20. Cohen EEW. Novel Therapeutic Targets in Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck. *Sem Oncol* 2005; 31: 6: 755-769.
21. Huang SM, Bock JM, Harari PM. Epidermal growth factor receptor blockade with C255 modulates proliferation, apoptosis, and radiosensitivity in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer Res* 1999; 59:1935-1940.
22. Bernier JK, Schneider D. Cetuximab combined with radiotherapy. An alternative. To chemoradiotherapy for patients with locally advanced squamous cell carcinoma of the head and neck. *EJC* 2007; 43 : 6 – 29.
23. Neuwirthová J, Mechl Z, Smilek P et al. Integrace nových biologických přípravků do léčby spinocelulárních karcinomů hlavy a krku. *Remedia* 2007; 17: 181 – 187.
24. Jeremic B, Shibamoto Y, Milikic B et al. Hyperfractionated radiation therapy with or without concurrent low-dose daily cisplatin in locally advanced squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Clin Oncol* 2000; 128 : 1458-1464.
25. Vermorken J, Trigo J, Hitt R et al. Opel-label, uncontrolled, multicenter phase II study to evaluate the efficacy and toxicity of cetuximab as a single agent in patients with recurrent and/or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck who failed to respond to platinum-based therapy. *J Clin Oncol* 2007; 25: 16, 2171-2177.
26. Vermorken J, Mesia R, Vega V et al. Cetuximab extends survival of patients with recurrent or metastatic HNSCC when added to first line platinum-based therapy. Results of a randomized phase III study (EXTREME). *Proc ASCO* 2007; Abst 609.
27. Bernier J. Current Treatment Approaches for Head and Neck Cancer: Benefits, Limitations and Unmet Needs. *CME* 2007.

Korespondenční adresa:
MUDr. Zdeněk Mechl, CSc.
Chorvatská 13
612 00 Brno

Došlo / Submitted: 10. 2. 2008
Přijato / Accepted: 15. 2. 2008

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

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

ÚLOHA CHROMOZOMOVÝCH TRANSLOKACÍ PŘI VZNIKU A VÝVOJI MNOHOČETNÉHO MYELOMU

THE ORIGIN AND FORMATION OF CHROMOSOMAL TRANSLOCATIONS IN MULTIPLE MYELOMA

NĚMEC P.^{1,2}, KUGLÍK P.^{1,2}, HÁJEK R.^{1,3}

¹ UNIVERZITNÍ VÝZKUMNÉ CENTRUM - ČESKÁ MYELOMOVÁ SKUPINA, LÉKAŘSKÁ FAKULTA, MASARYKOVA UNIVERZITA, BRNO

² ODDĚLENÍ GENETIKY A MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE, ÚSTAV EXPERIMENTÁLNÍ BIOLOGIE, PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA, MASARYKOVA UNIVERZITA, BRNO

³ INTERNÍ HEMATOONKOLOGICKÁ KLINIKA, FAKULTNÍ NEMOCNICE BRNO, LF MU BRNO

Souhrn

Mnohočetný myelom (MM) je zhoubné onemocnění terminálních vývojových stádií B-lymfocytů, tj. plazmatických buněk. V těchto buňkách se v průběhu progresu nemoci kumulují genetické změny, které jsou příčinou jejich plně zhoubného fenotypu. Postižení plazmatických buněk je charakterizováno přítomností rozmanitých početních a strukturních chromozomových aberací. Častým cytogenetickým nálezem je přítomnost recipročních translokací, vznikajících procesem tzv. „nelegitimní switch rekombinace“, postihujících gen pro těžké řetězce imunoglobulinů (IgH) v oblasti chromozomu 14q32. Důsledkem této rekombinace se dostávají onkogeny na derivovaných chromozomech pod kontrolu molekulárních zesilovačů lokusu IgH. Tato práce shrnuje současné poznatky o mechanismu vzniku chromozomových translokací u MM a místech jejich vzniku, zmiňuje se také o způsobu jejich detekce. V práci jsou prezentovány nejčastější typy chromozomových translokací postihujících oblast chromozomu 14q32 v karyotypu nemocných s MM, včetně četnosti jejich výskytu a prognostického významu pro pacienty.

Klíčová slova: mnohočetný myelom, chromozómalní aberace, translokace, těžký řetězec B-lymfocytů, cytogenetické vyšetření, fluorescenční in situ hybridizace.

Summary

Multiple myeloma is a malignant disease of terminal developmental stages of B-lymphocytes, i.e. plasma cells. During the progress of the disease genetic changes are cumulated in these cells which are the cause of their fully malignant phenotype. The affection of plasma cells is characterized by the presence of various numerical and structural chromosomal aberrations. A frequent cytogenetic finding is the presence of reciprocal translocations originating within the process of the so-called illegitimate switch recombination, affecting the gene for heavy chains of immunoglobulins (IgH) in the 14q32 chromosome area. As a result of this recombination the oncogenes on derived chromosomes get under control of the molecular enhancers of the IgH locus. This paper summarizes the current knowledge concerning the formation mechanism of chromosomal translocations in multiple myeloma and the areas of their formation; it also mentions the way of their detection. The paper presents the most frequent types of chromosomal translocations affecting the area of chromosome 14q32 in the karyotype of people diseased with multiple myeloma, including the frequency of their detection and the prognostic significance for the patients.

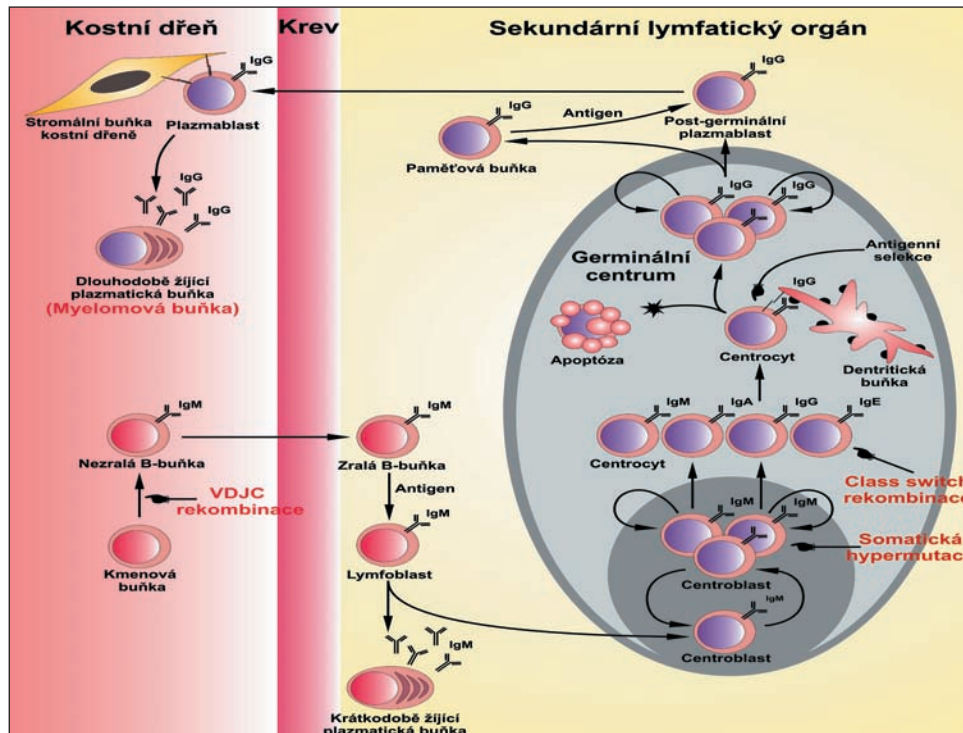
Keywords: multiple myeloma, chromosome aberrations, B-lymphocyte heavy chain gene rearrangement, chromosomal translocation, cytogenetic analysis, fluorescent in situ hybridization.

Úvod

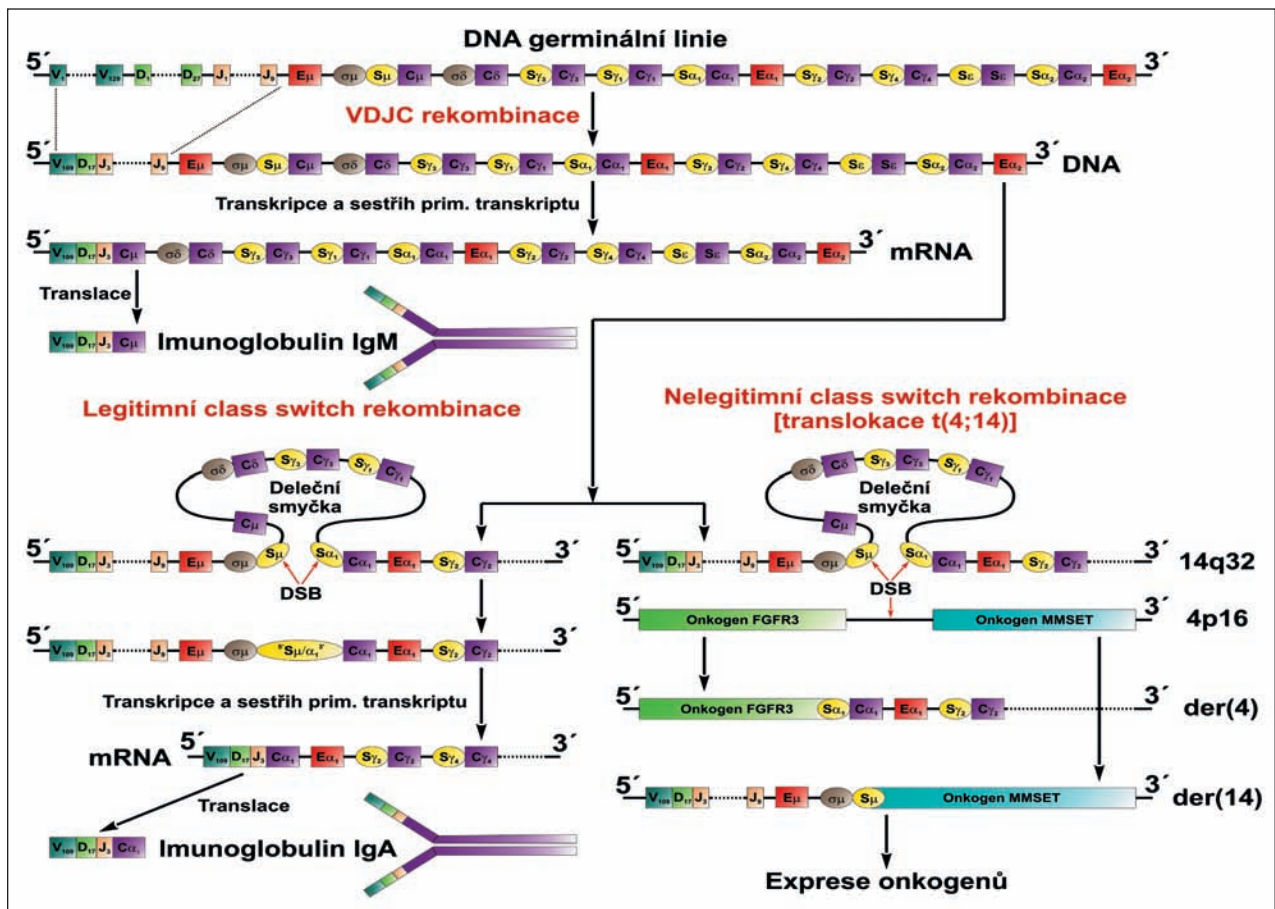
Mnohočetný myelom (MM), je zhoubné onemocnění způsobené maligní transformací B-buňky, její klonální proliferací a akumulací z ní vzniklé populace plazmatických buněk v kostní dřeni. Tyto nádorové buňky tvoří monoklonální imunoglobulin a řadu cytokinů, které způsobují velmi pestré a různě intenzivně vyjádřené příznaky nemoci. Onemocnění představuje 10% krevních nádorových onemocnění. V České republice je incidence nemoci asi 4,0/100 000 obyvatel (1). I přes pokroky v možnostech léčby je mnohočetný myelom stále považován za nevléčitelné onemocnění, medián celkového přežívání pacientů se pohybuje kolem 4 až 5 let. Obdobně jako u jiných krevních nádorových onemocnění i u mnohočetného myelomu

se často setkáváme se specifickými abnormalitami chromozomů. Karyotypová nestabilita nádorových plazmatických buněk je časným rysem onemocnění. U nemocných s MM byly popsány jak početní chromozomové odchylky (tzv. aneuploidie), tak i strukturní přestavby. Poměrně často se jedná o složité komplexní změny karyotypu. V posledních letech je výskyt chromozomových změn v myelomových buňkách považován za jeden z nejdůležitějších prognostických parametrů ovlivňujících stratifikaci pacientů do jednotlivých podskupin a vlastní léčebný postup (2). Nejčastějšími strukturními přestavbami u MM jsou chromozomové translokace zahrnující lokus pro těžký řetězec imunoglobulinu (IgH) v oblasti 14q32, které jsou popisovány u 10-60% nemocných při použití konvenční

přehled



Obrázek č. 1: Vývoj plazmatické buňky



Obrázek č. 2:

Schématické znázornění VDJC rekombinace a obou typů class switch rekombinace. (DSB - dvouřetězcový zlom DNA; E - zesilovač transkripce; V, D, J, C - segmenty DNA; S - switch regiony; σ - sigma sekvence)

cytogenetické analýzy a až u 75% nemocných při použití I-FISH (3-6). Méně často se mohou vyskytovat i přestavy zahrnující IgL lokus v oblasti 22q11 (asi u 17% MM). IgH translokace jsou obvykle přítomny až v 95% případů a pravděpodobně vznikají jako primární změna (asi 50% MM) (7,8).

Molekulární podstata tvorby protilátek na úrovni DNA a patogeneze myelomu

B buňky prodělávají během svého vývoje tři procesy modifikace DNA v IgH genu. Jsou to: VDJC rekombinace, somatická hypermutace (SHM) a tzv. „class switch rekombinace“ (CSR) (9,10). Gen pro těžké řetězce imunoglobulinů se skládá z mnoha genových segmentů označovaných „V“, „D“, „J“ a „C“. Segmentem se v tomto případě rozumí určitá krátká nukleotidová sekvence DNA, kódující specifickou oblast molekuly imunoglobulinu s určitým pořadím aminokyselin. Specifická aminokyselinová sekvence antigen rozpoznávající domény molekuly imunoglobulinu (Fab doména) je určující ve schopnosti protilátky rozpoznávat konkrétní antigeny nebo skupiny antigenů. Schopnost B buněk rozpoznat jen určité typy antigenů je založena mimo jiné na sestavování unikátních kombinací těchto V, D a J segmentů. C segmenty kódují konstantní oblasti těžkých řetězců a rozhodují tak i o tom, do které z 5 isotypových tříd (IgM, IgD, IgG, IgA či IgE) bude vznikající imunoglobulin zařazen. Celý proces modifikace DNA se označuje jako tzv. VDJC rekombinace (VDJC rearrangement). Druhým procesem modifikace DNA v B buňkách je tzv. somatická hypermutace, probíhající v germinálních centrech sekundárních lymfoidních folikulů. Při somatické hypermutaci dochází k náhodným bodovým mutacím v nukleotidové sekvenci DNA kódující variabilní oblast imunoglobulinového řetězce (11-13). Z evolučního hlediska je cílem této mutace zvýšení schopnosti protilátek rozpoznávat antigen, který imunitní reakci vyvolal. Myelomové buňky se odvozují z post-germinálních plazmablastů a z nich vznikajících plazmatických buněk (5,14). Analýza DNA sekvencí IgH lokusu myelomových buněk potvrzuje, že tyto buňky již prodělaly somatickou hypermutaci, prošly tedy i germinálními centry, neboť sekvence DNA kódující variabilní oblast imunoglobulinového řetězce (VDJ segment) je v porovnání s ostatními zralými B buňkami značně mutována. Myelomové buňky vzájemně mezi sebou však vykazují minimální heterogenitu mutací v IgH genu, což také svědčí o post-germinálním původu tohoto klonu (10,13,15). Ve světlé zóně germinálního center podstupují B buňky třetí, z hlediska patogeneze myelomu nejzásadnější proces modifikace DNA, kterou je tzv. class switch rekombinace (CSR) (13). Rekombinace však může proběhnout dvojím způsobem: legitimně (fyziologicky), kdy je výsledkem přesmyk isotypu vznikajícího imunoglobulinu z jedné třídy do druhé (např. z IgM do IgA) nebo nelegitimně (patologicky), kdy je výsledkem chromozomální translokace a s tím související narušená regulace přítomných onkogenů na derivovaných chromozomech, vedoucí přímo nebo postupně k maligní transformaci B buňky (16,17). Souhrnný pohled na vývoj plazmatické/myelomové buňky podává obrázek č. 1. VDJC rekombinace je zobrazena na obrázku č. 2.

Legitimní a nelegitimní class switch rekombinace

Každá imunoglobulinová třída je charakterizována specifickou konstantní oblastí těžkého řetězce. Jednotlivé C segmenty jsou uspořádány lineárně v subtelomerické oblasti dlouhého raménka chromozomu 14 (lokus 14q32). Pořadí C segmentů u germinální B buněčné linie ve směru od telomery k centromere je následující: C_{μ} , C_{δ} , C_{γ_3} , C_{γ_1} , C_{α_1} , C_{γ_2} , C_{γ_4} , C_{ϵ} a C_{α_2} . Tato germinální konfigurace C segmentů je schématicky znázorněna na obrázku č. 2. Samotná „class switch rekombinace“ se uskutečňuje mezi tzv. switch regiony. Switch regiony jsou 1-3Kbp dlouhé sekvence DNA, které jsou tvořeny tandemovými repetitivy a jsou umístěny postupně vždy u 5' konce všech C segmentů vyjma C_{δ} . Class switch rekombinace mezi segmenty C_{μ} a C_{δ} se uskutečňuje mezi duplikovanými 442bp dlouhými sigma sekvencemi σ_{μ} a σ_{δ} , které jsou umístěny před switch regionem S_{μ} a před prvním exonem segmentu C_{δ} (9,16). Legitimní switch rekombinace (legitimate switch recombination) je fyziologická, uskutečňuje se mezi dvěma switch regiony a dochází při ní k tvorbě fúzní switch sekvence, která se skládá z DNA od obou dvou zúčastněných switch regionů. Zároveň dochází ke ztrátě všech segmentů přítomných mezi oběma switch regiony zúčastňujícími se rekombinace. Vzniká tzv. deleční smyčka, kde všechny segmenty přítomné v této smyčce jsou z genomu buňky nenávratně ztraceny. Při rekombinaci zůstává zachována konfigurace VDJ segmentu kódující variabilní oblast těžkého řetězce, avšak je k němu přiřazen nový C segment, jiný než je ten, který tam byl před rekombinací původně přítomen. Nový C segment zodpovídá za příslušnost vznikajícího imunoglobulinu k nové isotypové třídě. Celý tento proces je obecně znám jako isotypový přesmyk imunoglobulinových tříd (9). Definice říká, že tzv. nelegitimní rekombinace je rekombinace mezi dvěma nehomologickými úseky dvou jinak homologických informačních makromolekul. Proto je možné chápat nelegitimní switch rekombinaci (ilegitimate switch recombination) jako rekombinaci, která se uskutečňuje mezi jedním samostatným switch regionem (popř. více switch regiony) na straně jedné a jinou molekulou DNA, nikoliv však jiným dalším switch regionem, na straně druhé. Podstatné je, že při nelegitimní switch rekombinaci nedochází ke tvorbě společné fúzní switch sekvence pocházející od obou zúčastněných switch regionů! Za těchto předpokladů můžeme považovat za jinou molekulu DNA kterýkoliv chromozom (jako molekulu DNA) mimo chromozom 14 (IgH lokus) (16,17).

Zpočátku celý proces probíhá obdobně jako u legitimní switch rekombinace, tzn. vzniká nejprve deleční smyčka obsahující různý počet vyštěpovaných C segmentů přítomných v úseku DNA vymezeném oběma switch regiony účastnícími se rekombinace. Pak dochází k dvouřetězcovým zlomům DNA (double strand break, zkr. DSB) nejčastěji v obou switch regionech, ale narozdíl od legitimní switch rekombinace se vzniklé volné vysoce reaktivní konce DNA nespojují vzájemně za tvorby fúzní switch sekvence, ale spojují se s jiným chromozomem, který předtím prodělal taktéž dvouřetězcový zlom DNA (17). U myelomu se nejčastěji jedná o chromozom 11 nebo chromozom 4. Mechanismus obou typů switch rekombinace znázorňuje obrázek

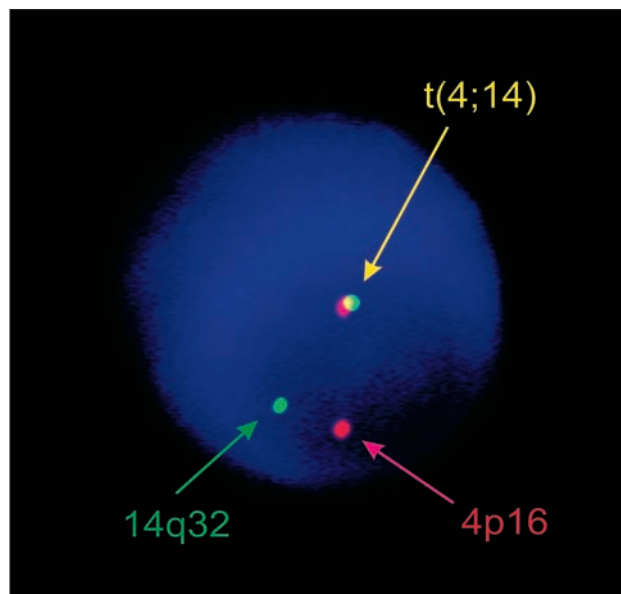
č. 2. Je zřejmé, že tímto mechanismem vznikají chromozomové translokace. Lokus IgH kromě segmentů DNA obsahuje další regulační sekvence DNA – nejméně tři zesilovače transkripce (enhancers), které regulují transkripci IgH genu ve všech vývojových stádiích B buněk. Prvním z nich je zesilovač (E_{μ}) umístěný v intronu mezi posledním segmentem J a prvním switch regionem S_{μ} , a pak další dva zesilovače E_{α_1} a E_{α_2} umístěné centromericky na 3' konci segmentů C_{α_1} a C_{α_2} (16,17). Dojde-li k nelegitimní rekombinaci, dostávají se vedle sebe segmenty části IgH genu obsahující zesilovač transkripce a onkogeny na jiném chromozomu účastnícím se nelegitimní switch rekombinace, např. gen pro cyklin D1 (CCND1) nebo gen pro receptor fibroblastového růstového faktoru (FGFR3). Onkogeny jsou vlivem přítomnosti zesilovačů transkripce v jejich blízkosti upregulovány, tzn. dochází zpravidla k jejich zvýšené expresi. Tak je tomu i v případě dvou nejběžnějších translokací detekovaných u mnohočetného myelomu. Translokací t(11;14) vznikají derivované chromozomy der(11) a der(14). Na der(14) dochází ke zvýšené expresi genu pro cyklin D1 a na der(11) dochází podobně k upregulaci genu *myeov* (myeloma over-expressed gene) (16,18,19). Translokací t(4;14) dochází k upregulaci onkogenu FGFR3 (fibroblast growth factor 3 receptor) na der(14) a genu MMSET (histon-methyltransferáza) na der(4) (7,20,21). Pomocí moderních molekulárně-cytogenetických metod, založených na použití DNA sond hybridizujících k výše uvedeným genům a fluorescenční *in situ* hybridizaci (FISH), je dnes možné přítomnost translokací postihujících IgH lokus v plazmatických buňkách snadno a rychle detekovat. Přítomnost chromozomové translokace v buňkách ovlivňuje léčebné intervaly (celkové přežívání, doba do progresu/relapsu atd.), případně léčebnou odpověď pacienta. Rozhodující v tomto ohledu je především to, jaká konkrétní translokace je v buňkách přítomna a kolik procent plazmatických buněk je touto translokací postiženo. Ukázka translokace t(4;14) v interfázním jádře nádorové buňky detekované metodou FISH je znázorněna na obrázku č. 3.

Translokace postihující IgH lokus

Translokace postihující IgH lokus jsou charakterizovány jako primární, jsou reciproké a vznikají popsáním procesem nelegitimní switch rekombinace v germinálních centrech sekundárního lymfoidního folikulu. Jejich incidence za využití FISH analýzy vzrůstá od 50% u MGUS po 90% u lidských myelomových linií (7,8). Pomocí spektrálního karyotypování bylo dosud popsáno více než 20 různých partnerských chromozomů, které jsou translokovány k IgH (22,23). Nejčastěji detekované či prognosticky nejvýznamnější translokace jsou: t(11;14)(q13;q32), t(4;14)(p16;q32), t(6;14)(p25;q32), t(6;14)(p21;q32) a t(14;16)(q32;q23) (24).

Translokace t(11;14)(q13;q32) je detekována s četností 15-20% za použití FISH (8,25,26). Dvouřetězcový zlom DNA vzniká na chromozomu 11 v nekódující oblasti odělující od sebe gen pro cyklin D1 (CCND1) a gen *myeov*. Zesilovač transkripce E_{α_1} v oblasti 14q32 je translokován do blízkosti genu pro cyklin D1 v oblasti 11q13 (16,18). To může vést ke zvýšené expresi cyklinu D1 a zvyšování proliferativní aktivity postižené B buňky (19). Na der(11) je

pak přemístěn E_{μ} zesilovač transkripce IgH lokusu, který upreguluje expresi genu *myeov*, který má pravděpodobně také onkogenní vlastnosti (27). Ačkoliv se translokace t(11;14) vyskytuje u myelomu ze všech známých translokací nejčastěji, je v současné době její význam považován spíše za prognosticky nevýznamný až sporný. Translokace statisticky významně neovlivňuje přežívání pacientů (28,29).



Obrázek č. 3: Ukázka translokace t(4;14) v interfázním jádře nádorové buňky vizualizovaná metodou FISH. Žlutý fúzní signál tvořený spojením zeleného a červeného signálu vzniká v důsledku translokace oblastí 14q32 a 4p16. Zelený signál reprezentuje druhý translokací nepostižený chromozom 14 (lokus 14q32), červený signál charakterizuje druhý translokací nepostižený chromozom 4 (lokus 4p16).

Translokace t(4;14)(p16;q32) je pomocí FISH detekována až ve 20% případů (6,20,28). Na chromozomu 4p16 vzniká zlom mezi genem MMSET a genem pro FGFR3. Na der(4) dochází vlivem přítomnosti zesilovače transkripce E_{μ} ke zvýšené expresi genu MMSET. Hybridní mRNA transkripty jsou tvořeny prepisem části IgH a MMSET. Podobně z der(14) dochází vlivem přítomnosti zesilovače E_{α} ke zvýšené expresi FGFR3 (20,21). FGFR3 patří do rodiny tyrozin-kinázových receptorů pro ligandy typu fibroblastových růstových faktorů, které jsou exprimovány všemi buňkami mezodermálního původu. Aktivované receptory regulují různé buněčné procesy a v případě upregulace se účastní nádorového bujení a procesů angiogeneze (30). Translokace t(4;14) je zobrazena na obrázku č. 2. Pro pacienty nově diagnostikované, léčené autologní transplantací kostní dřeně je nález translokace t(4;14) velmi nepříznivým prognostickým faktorem (28). Nejnovější studie ukazují, že medián celkového přežití pacientů s translokací t(4;14) je až o 2 roky kratší ve srovnání s pacienty bez translokace (29). Navíc je tato translokace velmi často asociována s přítomností dalších prognosticky nepříznivých chromozomálních aberací (del13q14) a její negativní vliv na přežívání je tak umocněn efektem přidružených chromozomálních aberací (8,31).

Translokace t(14;16)(q32;p23) se objevuje u 5-10% pacientů s mnohočetným myelomem a není ji možné detekovat klasickými cytogenetickými metodami (7,8). Dochází při ní k upregulaci c-maf onkogenu. Zlomky detekované v oblasti 16p23 vznikají uvnitř rozsáhlého genu pro oxidoreduktázu WWOX/FOR, nacházejícím se ve vzdálenosti 800-1000Kb centromericky od genu pro c-maf. I přes poměrně značnou vzdálenost mezi zesilovačem transkripce a c-maf po translokaci je tento transkripční faktor vysoce upregulovaný, což jen potvrzuje sílu zesilovačů transkripce v oblasti IgH (32). V jedné studii byla tato translokace spojena s kratším přežíváním u pacientů léčených konvenční chemoterapií (7).

Sekundární translokace

V plazmatických buňkách se velmi zřídka vyskytují translokace označované jako sekundární. Sekundární translokace jsou komplexní a obvykle nepostihují IgH lokus. Popsány byly translokace, které upregulují c-myc onkogen (23,33). Sekundární translokace nejsou zjištěné klasickými cytogenetickými metodami, ale je možné je zachytit spektrálním karyotypováním. Mechanismus vzniku sekundárních translokací a jejich vliv na prognózu není znám.

Závěr

Z výše uvedeného přehledu vyplývá, že přítomnost chromozomových translokací v myelomových buňkách je často detekovanou genetickou změnou, která se vyskytuje v časně fázi onemocnění, a zejména u pacientů s non-hyperdiploidii je považována za genetickou změnu kauzální. Avšak jsou i případy myelomu, kdy lokus IgH není translokací zasažen a na vzniku onemocnění musejí tedy mít vliv jiné faktory. V této souvislosti se hovoří například o ztrátě tumor supresorového genu *RBI* v oblasti 13q14. Ta je také obvyklá u lymfoproliferativních krevních nádorových onemocnění. Přesto je výskyt specifických chromozomových translokací v myelomových buňkách důležitým prognostickým faktorem, který se podílí na výběru nejvhodnějšího léčebného postupu u každého pacienta. Vyšetřování chromozomových translokací proto tvoří nezadatelnou součást diagnostiky MM.

Poděkování a podpora

Tato práce je podporována granty LC06027 Lékařské fakulty Masarykovy univerzity, IGA NR9317-3 Ministerstva zdravotnictví České republiky a výzkumnými záměry MSM0021622415 a MSM0021622434 Ministerstva školství mládeže a tělovýchovy České republiky.

Literatura

- Hájek R, Mužík J, Maisnar V, et al. Mnohočetný myelom, MKN klasifikace a Národní onkologický registr České republiky. *Klinická onkologie* 2007;20,Suppl. 1,147 – 151.
- Cremer FW, Bila J, Buck I, et al. Delineation of distinct subgroups of multiple myeloma and a model for clonal evolution based on interphase cytogenetics. *Genes Chromosomes Cancer* 2005; 44(2):194-203.
- Avet-Loiseau H, Facon T, Daviet A, et al. 14q32 translocations and monosomy 13 observed in monoclonal gammopathy of undetermined significance delineate a multistep process for the oncogenesis of multiple myeloma. *Intergrroupe Francophone du Myélome. Cancer Res.* 1999 15;59(18):4546-50.
- Avet-Loiseau H, Daviet A, Brigaudeau C, et al. Cytogenetic, interphase, and multicolor fluorescence in situ hybridization analyses in primary plasma cell leukemia: a study of 40 patients at diagnosis, on behalf of the Intergrroupe Francophone du Myélome and the Groupe Français de Cytogénétique Hématologique. *Blood* 2001;97(3):822-5.
- Dalton WS, Bergsagel PL, Kuehl WM, et al. Multiple myeloma. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2001;157-77.
- Moreau P, Facon T, Leleu X, et al. Recurrent 14q32 translocations determine the prognosis of multiple myeloma, especially in patients receiving intensive chemotherapy. *Blood* 2002;100(5):1579-83.
- Fonseca R, Blood E, Rue M, et al. Clinical and biologic implications of recurrent genomic aberrations in myeloma. *Blood* 2003;101:4569–4575.
- Avet-Loiseau H, Facon T, Grosbois B, et al. 2002. Oncogenesis of multiple myeloma: 14q32 and 13q chromosomal abnormalities are not randomly distributed, but correlate with natural history, immunological features, and clinical presentation. *Blood* 2002;99:2185–2191.
- Elgert KD. *Immunology: Understanding The Immune System.* In: Chapter 6 – The genetics of antibody formation. New York, Wiley-Liss; 1996. s. 104-134.
- Kuppers R, Klein U, Hansmann ML, et al. 1999. Cellular origin of human B-cell lymphomas. *N. Engl. J. Med.* 1999;341:1520-1529.
- Kuppers R, Dalla-Favera R. Mechanisms of chromosomal translocations in B cell lymphomas. *Oncogene* 2001;20:5580-5594.
- Pasqualucci L, Neumeister P, Goossens T, et al. Hypermutation of multiple protooncogenes in B-cell diffuse large-cell lymphomas. *Nature* 2001;412:341-346.
- Liu YJ, Malistan F, de Bouteiller O, et al. Within germinal centers, isotype switch of immunoglobulin genes occurs after the onset of somatic mutation. *Immunity* 1996;4:241-250.
- Kuehl WM, Bergsagel PL. Multiple myeloma: evolving genetic events and host interactions. *Nat Rev Cancer* 2002;2:125-187.
- Bakkus MH, Heirman C, Van Riet I, et al. Evidence that multiple myeloma Ig heavy chain VDJ genes contain somatic mutations but show no intraclonal variation. *Blood* 1992;80:2326-2335.
- Bergsagel PL, Chesi M, Nardini E, et al. Promiscuous translocations into immunoglobulin heavy chain switch regions in multiple myeloma. *Proc. Natl. Acad. Sci* 1996;93:13931-13936.
- Fenton JA, Pratt G, Rawstron AC, et al. 2002. Isotype class switching and the pathogenesis of multiple myeloma. *Hematol Oncol* 2002;20:75-85.
- Pratt G, Fenton JA, Davies FE, et al. Insertional events as well as translocations may arise during aberrant immunoglobulin switch recombination in a patient with multiple myeloma. *Br J Haematol* 2001;112:388–91.
- Hoyer JD, Hanson CA, Fonseca R, et al. The (11;14)(q13;q32) translocation in multiple myeloma. A morphologic and immunohistochemical study. *Am. J. Clin. Pathol.* 2000;113:831–837.
- Chesi M, Nardini E, Brents LA, et al. Frequent translocation t(4;14)(p16.3;q32.3) in multiple myeloma is associated with increased expression and activating mutations of fibroblast growth factor receptor 3. *Nat. Genet.* 1997;16:260–264.
- Chesi M, Nardini E, Lim RS, et al. The t(4;14) translocation in myeloma dysregulates both FGFR3 and a novel gene, MMSET, resulting in IgH/MMSET hybrid transcripts. *Blood* 1998;92:3025–3034.
- Sawyer JR, Lukacs JL, Munshi N, et al. Identification of new non-random translocations in multiple myeloma with multicolor spectral karyotyping. *Blood* 1998;92:4269–4278.
- Sawyer JR, Lukacs JL, Thomas EL, et al. Multicolour spectral karyotyping identifies new translocations and a recurring

- pathway for chromosome loss in multiple myeloma. *Br. J. Haematol.* 2001;112:167–174.
24. Vogelstein B, Kinzler WK. The Genetic Basis of Human Cancer. In: Chapter 52 – Genetic Abnormalities in lymphoid malignancies. New York, McGraw-Hill; 2002. s. 787-797.
25. Fonseca R, Blood EA, Oken MM, et al. Myeloma and the t(11;14)(q13;q32) represents a uniquely defined biological subset of patients. *Blood* 2002;99:3735–3741.
26. Avet-Loiseau H, Li JY, Facon T, et al. High incidence of translocations t(11;14)(q13;q32) and t(4;14)(p16;q32) in patients with plasma cell malignancies. *Cancer Res* 1998;58:5640–5.
27. Janssen JW, Vaandrager JW, Heuser T, et al. Concurrent activation of a novel putative transforming gene, myeov, and cyclin D1 in a subset of multiple myeloma cell lines with a t(11;14)(q13;q32). *Blood* 2000;95:2691–8.
28. Avet-Loiseau H, Attal M, Moreau P, et al. Genetic abnormalities and survival in multiple myeloma: the experience of the Intergroupe Francophone du Myélome. *Blood* 2007;109(8): 3489-95.
29. Gutiérrez NC, Castellanos MV, Martin ML, et al. Prognostic and biological implications of genetic abnormalities in multiple myeloma undergoing autologous stem cell transplantation: t(4;14) is the most relevant adverse prognostic factor, whereas RB deletion as a unique abnormality is not associated with adverse prognosis. *Leukemia* 2007;21(1):143-50.
30. Plowright EE, Li Z, Bergsagel PL, et al. Ectopic expression of fibroblast growth factor receptor 3 promotes myeloma cell proliferation and prevents apoptosis. *Blood* 2000;95:992–8.
31. Fonseca R, Oken MM, Greipp PR, et al. The t(4;14)(p16.3;q32) is strongly associated with chromosome 13 abnormalities in both multiple myeloma and monoclonal gammopathies of undetermined significance. *Blood* 2001;98:1271–1272.
32. Chesi M, Bergsagel PL, Shonukan OO, et al. Frequent dysregulation of the c-maf proto-oncogene at 16q23 by translocation to an Ig locus in multiple myeloma. *Blood* 1998;91:4457–4463.
33. Shou Y, Martelli ML, Gabrea A, et al. Diverse karyotypic abnormalities of the c-myc locus associated with c-myc dysregulation and tumor progression in multiple myeloma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2000;97:228–233.

Korespondenční adresa:

Pavel Němec
 University Research Centre, Czech Myeloma Group
 Laboratoř molekulární cytogenetiky, Masarykova univerzita,
 ILBIT A3, Kamenice 5, 625 00 Brno, Česká republika
 e-mail: handcock@mail.muni.cz

Došlo / Submitted: 11. 12. 2007

Přijato / Accepted: 23. 1. 2008

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

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zaslané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE „uniform requirements“ for biomedical papers.

PŘÍPRAVA MYELOM-SPECIFICKÝCH T LYMFOCYTŮ AKTIVOVANÝCH DENDRITICKÝMI BUŇKAMI NALOŽENÝMI NONAPEPTIDY ODVOZENÝMI OD MUCINOVÉHO PROTEINU MUC1 A KATALYTICKÉ PODJEDNOTKY TELOMERÁZY hTERT

THE PREPARATION OF MYELOMA-SPECIFIC T CELLS ACTIVATED WITH DENDRITIC CELLS LOADED WITH NONAPEPTIDES DERIVED FROM MUCIN PROTEIN MUC1 AND CATALYTIC SUBUNIT OF TELOMERASE hTERT

OČADLÍKOVÁ D.¹, KOVÁŘOVÁ L.¹, HÁJEK R.^{1,2}, MICHÁLEK J.^{1,3}

¹LABORATOŘ EXPERIMENTÁLNÍ HEMATOLOGIE A BUNĚČNÉ IMUNOTERAPIE, ODDĚLENÍ KLINICKÉ HEMATOLOGIE, FN BRNO

²INTERNÍ HEMATOONKOLOGICKÁ KLINIKA, FN BRNO

³I.DĚTSKÁ INTERNÍ KLINIKA, FN BRNO

Souhrn

Východiska: Mnohočetný myelom je nevléčitelné onemocnění. Jako standardní terapie je využívána vysokodávkovaná chemoterapie s autologní transplantací kmenových buněk či alogenní transplantací. Relaps onemocnění je však neodvratný, a proto jsou rozvíjeny i jiné směry léčby. Jedním z nich je buněčná imunoterapie, která využívá potenciálu cytotoxických T lymfocytů. Jako nádorový antigen lze využít nádorově specifické proteiny, jako jsou nonapeptidy hTERT, odvozený od katalytické podjednotky telomerázy, a MUC1, odvozený od mucinového proteinu, vázající se na HLA-A2 systém molekul. **Typ studie a soubor:** V *in vitro* studii byla na souboru zdravých HLA-A2 pozitivních dárců testována možnost aktivace, identifikace, imunomagnetická separace a expanze myelom-specifických T lymfocytů s využitím hTERT a MUC1 jako nádorových antigenů. **Metody a výsledky:** Z mononukleárních buněk periferní krve byly kultivovány T lymfocyty a dendritické buňky. Dendritické buňky byly naloženy nonapeptidy hTERT a MUC1. Po opakované stimulaci T lymfocytů takto naloženými dendritickými buňkami došlo k jejich aktivaci charakterizované produkcí interferonu gama. Poté byly aktivované T lymfocyty imunomagneticky separovány a expandovány *in vitro* do množství využitelných v klinických aplikacích. **Závěry:** Tato práce ukazuje možnost specifické aktivace, identifikace separace a expanze protinádorových T lymfocytů, které lze využít při léčbě mnohočetného myelomu.

Klíčová slova: Mnohočetný myelom, imunoterapie, interferon gama, hTERT, MUC1 protein.

Summary

Backgrounds: Multiple myeloma is an incurable hematological disease. High-dose chemotherapy including autologous stem cell transplantation is recently considered a standard therapy for myeloma. Unfortunately, a relapse of the disease is inevitable. Therefore, new approaches such as immunotherapy have been considered recently. A specific activation of cytotoxic T cells can be reached using dendritic cells loaded with tumor-specific antigens. The HLA-A2-specific nonapeptides as hTERT derived from catalytic subunit of telomerase and MUC1 derived from mucin protein can be used. **Design and subjects:** Activation, identification, separation and expansion of myeloma-specific T cells from healthy HLA-A2 blood donors were tested in an *in vitro* study using hTERT and MUC1 nonapeptides as tumor-specific antigens. **Methods and results:** T cells and dendritic cells were obtained from peripheral blood. T cells were repeatedly stimulated with hTERT and MUC1 nonapeptide-loaded dendritic cells. Activated myeloma-specific T cells produced interferon gamma and were evaluated by flow cytometry. The activated T cells were immunomagnetically separated and *in vitro* expanded to the number usable in clinical trials. **Conclusions:** This study demonstrates feasibility of a specific activation, identification, separation and expansion of tumor-specific T cells that can be used in myeloma therapy.

Key words: Multiple myeloma, immunotherapy, interferon gamma, hTERT, MUC1 protein.

1. Úvod

1.1 Význam buněčné imunoterapie v léčbě mnohočetného myelomu

Za posledních 15 let byly učiněny velké pokroky v léčbě mnohočetného myelomu (MM), přesto je stále považován

za nevléčitelné, avšak dlouhodobě léčitelné onemocnění (1).

Vysokodávkovaná chemoterapie s autologní transplantací je dnes zlatým standardem v léčbě MM, nicméně její využití je limitováno věkem a celkovým zdravot-

ním stavem pacienta (2). Mezi standardní léky u MM patří v současnosti také imunomodulační látky povahy imidů jako thalidomid, jeho derivát revlimid (komerční název Lanalidomid) a inhibitor proteazomu bortezomib (komerční název Velcade) (3-6).

Avšak i přes úspěšné přijetí transplantátu či dosažení kompletní remise (complete remission; CR) přežívají v organismu pacienta nádorové buňky, tzv. zbytkové nádorové onemocnění (minimal residual disease; MRD), které je příčinou dalších relapsů a opakovaného propuknutí choroby (7, 8). Proto jsou hledány nové cesty, jak zlepšit jeho prognózu.

Jednu z nich představuje protinádorová imunoterapie, která zaznamenala značný úspěch u melanomu a renálního karcinomu (9, 10). V posledním desetiletí byly rovněž podány experimentální důkazy o možnostech navození imunitní reaktivity i vůči méně imunogenním nádorům včetně MM (11, 12). Imunitní systém může být aktivován specifickými nádorovými antigeny, zpravidla prostřednictvím dendritických buněk (DB). DB jsou naloženy specifickým nádorovým antigenem, který prezentují T lymfocytům (TL). Sahrávají tak klíčovou úlohu v indukci specifických protinádorových TL schopných cytotoxicky zabít nádorové buňky (13).

1.2. Nádorové antigeny u MM

U MM byly využity DB ve spojení s myelom-specifickým antigenem, tzv. Id-proteinem nebo lyzátem z nádorových buněk (14, 15). V současné době jsou testovány různé druhy potenciálních nádorových antigenů: apoptotická tělíška připravená ozářením nádorových buněk, nádorové specifické proteiny či peptidy, nádorová mRNA a DNA (16, 17, 18).

Na našem pracovišti jsme testovali dva velmi známé a univerzální peptidy odvozené od katalytické podjednotky telomerázy (hTERT) a mucinového proteinu (MUC1) jako nádorové antigeny u MM, které byly nebo v současné době jsou testovány klinicky.

1.3. hTERT jako nádorový antigen

hTERT je katalytická podjednotka enzymu telomerázy, jejímž úkolem je syntéza koncových úseků eukaryotických chromozómů-telomer, které mají ochrannou funkci (19, 20). Mezi aktivitou telomerázy a maligním potenciálem nádorových buněk existuje velmi úzká korelace. Pokud buňka vykazuje telomerázovou aktivitu, exprimuje na svém povrchu peptidy odvozené od hTERT (21). Více než 85% lidských nádorů vykazuje telomerázovou aktivitu (22).

Bylo prokázáno, že hTERT je schopna indukovat odpověď cytotoxických TL (CTL) u mnoha nádorových onemocnění včetně MM jak *in vitro* (23, 24), tak *in vivo* (19, 25). Peptidy odvozené od hTERT nesou motivy pro nejběžnější alely HLA systému I.třídy (HLA-A2), což je jeden z důležitých předpokladů pro úspěšnou aktivaci TL a imunoterapeutické protokoly nové generace (19, 22, 26). U zdravých jedinců nebyla pozorována imunitní reakce proti hTERT. Přesto bylo prokázáno, že hTERT-specifické TL mohou být identifikovány *ex vivo* jak u zdravých jedinců, tak i u nemocných s nádory

(27). Nedávno byly zahájeny klinické aplikace protinádorových vakcín využívajících hTERT jako nádorového antigenu (28).

1.3. MUC 1 jako nádorový antigen

MUC1 je typ I transmembránového glykoproteinu, který je exprimován na epiteliálních, ale také non-epiteliálních nádorových buňkách. Jeho extracelulární doména je složena z různého počtu (20-60) tandemových repetitivních 20 aminokyselin (29, 30) (tandemová repetitivní doména; TRD). V oblasti TRD se vyskytují antigenní epitopy (31). MUC1 je hojně exprimován u hematologických malignit, zejména u MM (92%), byl nalezen v séru pacientů s MM (32, 33) a je rovněž exprimován na myelomových buněčných liniích ARH 77 (34, 35).

Bylo prokázáno, že na HLA-neomezené CTL z periferní krve (PK) pacientů s MM rozpoznávají epitopy MUC1 proteinu lokalizované v TRD (30, 33, 36). Po imunizaci MUC1 proteinem mohou být indukovány také na HLA-omezené CTL (37).

Klinické studie využívající autologní DB naložené nonapeptidy odvozené od MUC1 proteinu byly provedeny u různých nádorových onemocnění (38, 39). Vakcína byla velmi dobře tolerována a byla zaznamenána i klinická odpověď včetně regrese metastáz (38, 39).

Bylo zjištěno, že MUC1 je exprimován také zdravými buňkami např. gastrointestinálního traktu hemopoetickými buňkami v kostní dřeni (KD). U vakcinační pomoci MUC1 proteinu nebyla však nikdy pozorována žádná autoimunitní reakce ani anémie (38). Pro detekci maligních buněk či imunoterapii musí být pečlivě voleny cílové epitopy (40).

1.4. Aktivace T lymfocytů naloženými dendritickými buňkami

V naší práci jsme jako nádorové antigeny využili HLA-A2 specifické nonapeptidy hTERT I₅₄₀ (aminokyselinová sekvence ILAKFLHWL) a MUC1 (aminokyselinová sekvence TSAPDTRPA), který je lokalizován v TRD a je rozpoznáván MUC1 specifickými CD8⁺ TL (41, 42). DB naložené těmito nádorovými antigeny byly využity k opakované stimulaci TL, které se aktivovaly a produkovaly měřitelné množství interferonu gama (IFN- γ). Aktivované IFN- γ ⁺ byly imunomagneticky separovány a expandovány *in vitro* na množství využitelná v klinických aplikacích.

2. Materiál a metody

2.1. Buněčné kultury

2.1.1. Mononukleární buňky periferní krve

Mononukleární buňky (MN) byly izolovány z nesrážlivé PK zdravých dárců z Transfuzní stanice ve FN Brno po podepsání informovaného souhlasu metodou gradientové centrifugace (Histopaque 1077, Sigma-Aldrich, Praha, Česká republika) a kultivovány v médiu obsahujícím X-VIVO 10 (BioWhittaker, Walkersville, MD, USA) s tepelně inaktivovaným 10% lidským AB-sérem (Sigma-Aldrich, Praha, Česká republika), s 80U/ml DNAsy (Boehringer, Mannheim, Německo) a 1mM L-glutaminem (Sigma-Aldrich, Praha, Česká republika) v 6-jamkových miskách při 37°C v atmosféře 5% CO₂

a 4,5% O₂. Iničiální buněčnost byla 3,3x10⁶ buněk/ml tohoto média.

2.1.2. T lymfocyty

Po 2-hodinové kultivaci byla suspenze rozdělena na adherentní a neadherentní frakci. Byl odebrán supernatant s neadherentní frakcí bohatou na TL a tyto buňky byly kultivovány v kompletním médiu (KM) obsahujícím X-VIVO 15, 50mg/l gentamycin, 2mM L-glutamin, 25mM hepes pufr (BioWhittaker, Walkersville, MD, USA), 10% lidské AB-sérum (Sigma-Aldrich, Praha, Česká republika) a 10 IU/ml interleukinu 2 (IL-2) (Proleukin, Chiron, Amsterdam, Holandsko) po dobu 7 dnů při 37°C v atmosféře 5% CO₂.

2.1.3. Dendritické buňky

Adherentní frakce bohatá na prekurzory DB byla dále kultivována v médiu pro DB: X-VIVO 10 (BioWhittaker, Walkersville, MD, USA) se 100 ng/ml interleukinu 4 (IL-4) (Sigma-Aldrich, Praha, Česká republika), 800 U/ml granulocyty a makrofágy stimulujícím faktorem (GM-CSF) (Schering Plough, New Jersey, USA) a 40 ng/ml tumor-nekrotizujícím faktorem alfa (TNF-α) (Bender Medsystems Diagnostics, Vídeň, Rakousko) po dobu 6 dnů při 37°C v atmosféře 5% CO₂ a 4,5% O₂. Médium pro DB včetně IL-4, GM-CSF a TNF-α bylo měněno každé 2 dny (43, 44).

2.2. Příprava antigenu

Jako antigeny byly využity nonapeptid I₅₄₀ odvozený od hTERT s aminokyselinovou sekvencí ILAKFLHWL a nonapeptid odvozený od MUC-1 s aminokyselinovou sekvencí TSAPDTRPA specifické pro HLA-A2 třídu (Clinalfa, Läufelfingen, Švýcarsko). Jako negativní kontrola byl využit nonapeptid ⁴⁷⁶ILKEPVHGV⁴⁸⁴ odvozený od HIV-1 reverzní transkriptázy (HIV-1) (Clinalfa, Läufelfingen, Švýcarsko) vázající se rovněž na alelu HLA-A2 (22, 38). Pracovní roztoky byly připraveny rozpuštěním 274,4 μg nonapeptidu hTERT v 1 ml sterilní TKV nebo 298,0 μg nonapeptidu MUC1 v 1 ml 0,9% NaCl. hTERT a MUC1 byly k DB přidávány ve formě takto připravených pracovních roztoků (22, 38).

Pracovní roztok HIV-1 nonapeptidu (nestimulující, referenční peptid) sloužícího jako kontrola byl připraven rozpuštěním 249,0 μg nonapeptidu HIV-1 v 1 ml sterilní TKV a v této formě byl přidáván k DB (38).

2.3. Naložení dendritických buněk nádorovým antigenem

7.den kultivace byly DB naloženy antigenem. Jako antigeny byly přidávány hTERT, MUC1 či referenční peptid HIV-1 ve formě pracovního roztoku (viz 2.2.) (22, 38) v množství 20 μg peptidu/200 000 DB (38).

2.4. Stimulace a restimulace T lymfocytů

8. den kultivace byly naložené či samotné DB smíchány s TL v poměru 20:1 (TL:DB). Část DB byla zamrazena a uchovávána při -80°C pro pozdější restimulaci. DB byly 2 hod před restimulací kultivovány v KM. Restimulace byla prováděna naloženými či samotnými DB v restimulačním poměru 2:1 (TL:DB) (44).

2.5. Značení pomocí interferonu gama

Antigenem aktivované TL produkující IFN-γ byly zhodnoceny pomocí Secretion Assay Cell Enrichment And Detection Kit (MACS Reagens, Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Německo) podle pokynů výrobce (44, 45). Stejným způsobem byly zpracovány i TL stimulované samotnými DB či pomocí HIV-1.

2.6. Imunomagnetická separace

Imunomagnetická separace byla prováděna v den značení TL (na IFN-γ) restimulovaných DB naloženými hTERT, MUC-1 a HIV-1 nonapeptidy nebo samotnými DB (negativní kontrola) na koloně umístěné v magnetickém poli přístroje Vario MACS (MACS Reagents, Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Německo). Nabarvené TL byly označeny paramagnetickou kuličkou pomocí Secretion Assay Cell Enrichment And Detection Kit (MACS Reagens, Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Německo) podle pokynů výrobce (44, 45). Pozitivní frakce byla získána dvojitou separací pro zvýšení čistoty. V pozitivní i negativní frakci byly spočítány buňky a přidány protilátky (viz. 2.7.). Z každé frakce byl odevzdán vzorek na měření na průtokovou cytometrii. Zbylé buňky pozitivní frakce byly expandovány *in vitro* (viz 2.8.).

2.7. Průtoková cytometrie

TL (1x10⁶) po restimulaci naloženými DB byly inkubovány 15 minut s monoklonálními protilátkami anti-CD4 značenými fluoroisothiokyanátem (FITC), anti-CD8 FITC, anti-CD3 phycoerythrin-cyaninem (PE-Cy) (Immunotech, Marseille, Francie) a s anti-IFN-γ phycoerythrinem (PE) (Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Německo). TL byly analyzovány na průtokovém cytometru CytomicsTM FC 500 (Beckman Coulter, Miami, Florida, USA) ve vstupní frakci před magnetickou separací a v pozitivní a negativní frakci po separaci. Jako negativní kontrola byly využity nestimulované TL a TL stimulované samotnými DB.

2.8. Expanze IFN-γ⁺ hTERT a MUC1 specifických T lymfocytů

IFN-γ⁺ hTERT a MUC1 specifické TL po imunomagnetické separaci byly expandovány *in vitro* v KM obohaceném o interleukin 2 (IL-2) v množství 500 IU/ml KM (Proleukin, Chiron, Amsterdam, Holandsko). 1.den expanze byl přidán phytohemaglutinin (PHA) (Sigma-Aldrich, Praha, Česká republika) v množství 5μg/ml KM. Po celou dobu expanze byla udržována buněčnost kultury 1-3 x 10⁶ lymfocytů/ml KM. KM včetně IL-2 bylo vyměňováno 2 x týdně a 1 x týdně byly v rámci výměny média k buňkám přidávány alogenní MNPK ozářené dávkou 30 Gy (tzv. „Feeder cells“).

2.9. Statistické hodnocení:

Ke statistickému zpracování výsledků byly využity mediány a mediány diferencí po odečtení pozadí v negativní kontrole s jejich minimy a maximy. Ke zjištění statistické významnosti aktivace TL byl využit Mediánový test a Wilcoxonův test (tab.č. 1, 2).

T lymfocyty (TL)	CD4 ⁺ TL (%)		CD8 ⁺ TL (%)	
	Medián diference (minimum-maximum)	P	Medián diference (minimum-maximum)	P
IFN- γ ⁺ CD3 ⁺ stimulace hTERT (n=9)	1,60 (0,50-3,18)	0,076 (MT)	2,36 (0,35-5,85)	0,031 (MT)
IFN- γ ⁺ CD3 ⁺ stimulace MUC1 (n=8)	1,37 (0,40-4,85)	0,073 (MT)	2,75 (0,48-8,80)	0,008 (MT)
IFN- γ ⁺ CD3 ⁺ stimulace HIV-1 (n=4)	0,71 (-0,30-1,11)		0,80 (-0,10-0,90)	
IFN- γ ⁺ CD3 ⁺ stimulace DB samotné (n=7)	1,33 (-0,38-2,16)		0,83 (0,70-3,80)	

Tabulka č. 1: Identifikace hTERT- a MUC1-specifických T lymfocytů po stimulaci.

Procentuální zastoupení (mediány diferencí) stimulovaných a nestimulovaných IFN- γ ⁺ CD3⁺ CD4⁺ a IFN- γ ⁺ CD3⁺ CD8⁺ hTERT-, MUC1- a HIV-1-specifických TL a TL aktivovaných samotnými DB s jejich minimy a maximy v závorkách. Měřeno na průtokovém cytometru 48 hod po stimulaci, TL byly stimulovány DB naloženými hTERT a MUC1 nonapeptidy, HIV-1 nestimulujícím nonapeptidem a samotnými DB. Data byla vyhodnocena pomocí Mediánového testu (MT), kde n je počet experimentů a p statistická významnost.

T lymfocyty (TL)	CD4 ⁺ TL (%)		CD8 ⁺ TL (%)	
	Medián diference (minimum-maximum)	P	Medián diference (minimum-maximum)	P
IFN- γ ⁺ CD3 ⁺ restimulace hTERT (n=9)	9,88 (1,2-15,55)	0,005 (MT)	10,35 (1,36-27,17)	0,005 (MT)
IFN- γ ⁺ CD3 ⁺ restimulace MUC1 (n=8)	6,07 (1,0-15,30)	0,008 (MT)	8,56 (0,96-22,28)	0,030 (MT)
IFN- γ ⁺ CD3 ⁺ restimulace HIV-1 (n=4)	1,30 (0,30-4,36)		2,00 (0,04-3,43)	
IFN- γ ⁺ CD3 ⁺ restimulace DB samotné (n=7)	0,76 (-0,30-0,81)		0,96 (-0,20-1,40)	

Tabulka č. 2: Identifikace hTERT- a MUC1-specifických T lymfocytů po restimulaci.

Procentuální zastoupení (mediány diferencí) restimulovaných a nestimulovaných IFN- γ ⁺ CD3⁺ CD4⁺ a IFN- γ ⁺ CD3⁺ CD8⁺ hTERT- a HIV-1-specifických TL a TL aktivovaných samotnými DB s jejich minimy a maximy v závorkách. Měřeno na průtokovém cytometru 24 hod po restimulaci, TL byly stimulovány DB naloženými hTERT a MUC1 nonapeptidy, HIV-1 nestimulujícím nonapeptidem a samotnými DB. Data byla vyhodnocena pomocí Mediánového testu (MT), kde n je počet experimentů a p statistická významnost.

3. Výsledky

3.1. Aktivace T lymfocytů dendritickými buňkami naloženými nonapeptidy hTERT a MUC1

Na základě dříve publikovaných optimalizačních experimentů (44) byla provedena stimulace a restimulace TL DB naloženými nonapeptidy hTERT (9 experimentů) a MUC1 (8 experimentů). 48 hod po stimulaci a 24 hod po restimulaci byla provedena identifikace protinádorových myelom-specifických TL (44) na průtokovém cytometru. Procento aktivovaných TL na základě produkce IFN- γ bylo hodnoceno pro CD4⁺ a CD8⁺ TL po stimulaci a restimulaci. V tab.1 resp. 2 jsou uvedeny mediány diference CD4⁺ a CD8⁺ TL získaných rozdílem procentuálních hodnot IFN- γ ⁺ stimulovaných resp. restimulovaných a nestimulovaných TL s jejich minimy a maximy.

TL byly stimulovány rovněž samotnými DB, které sloužily jako negativní kontrola. Tyto 3 soubory TL (re)stimulovaných pomocí DB samotných, DB naložených HIV-1 nonapeptidem a DB naložených hTERT(MUC1) byly vzájemně statisticky porovnány Mediánovým testem. Statistická významnost aktivace CD4⁺ TL po stimulaci byla p=0,076 resp. 0,073 a CD8⁺ TL 0,031 resp. 0,008 pro hTERT resp. MUC1 stimulované TL (tab.č. 1). Pro restimulované CD4⁺ TL byla p=0,005 resp. 0,008 a pro CD8⁺ TL 0,005 resp. 0,030 (tab.č. 2). Nejvyšší produkce IFN- γ byla zaznamenána u TL aktivovaných DB naloženými hTERT nonapeptidem po restimulaci, pro CD4⁺ resp. CD8⁺ TL byla 9,88% (1,2%-15,55%) resp. 10,35% (1,36%-27,17%), medián diference (minimum-maximum) (tab.č. 2).

3.2. Imunomagnetická separace T lymfocytů aktivovaných dendritickými buňkami naloženými nonapeptidy hTERT a MUC1

Bylo provedeno celkem 6/5 experimentů zahrnujících stimulaci, restimulaci a magnetickou separaci hTERT-/MUC1-specifických TL. Po restimulaci byly aktivované IFN- γ ⁺ TL identifikovány na průtokovém cytometru a poté imunomagneticky separovány na přístroji *Vario MACS*. Procentuální zastoupení aktivovaných TL (CD4⁺ a CD8⁺) ve vstupní frakci před separací bylo 1,08 – 16,31% (medián 3,79%) pro CD4⁺ a 1,96 – 17,99% (medián 3,93%) pro CD8⁺ hTERT-specifické TL (viz tab.č.3 a) a 1,43 – 3,55% (medián 1,62%) pro CD4⁺ a 1,94 – 10,08% (medián 2,02%) pro CD8⁺ MUC1-specifické TL (viz tab.č.3 b). Separace IFN- γ ⁺ frakce byla provedena dvakrát pro zvýšení čistoty. Po separaci došlo k obohacení aktivovaných TL v pozitivní frakci na 30,22 – 79,00% (medián 63,55%) pro CD4⁺ a 31,54 – 86,63% (medián 71,70%) pro CD8⁺ pro hTERT-specifické TL a na 35,56 – 71,50% (medián 43,00%) pro CD4⁺ a 52,38 – 75,98% (medián 62,93%) pro CD8⁺ pro MUC1-specifické TL oproti frakci negativní (tab.č.3 a, b).

Pokus	Vstup [%]		Pozitivní frakce [%]		Negativní frakce [%]	
	CD4 ⁺ IFN γ ⁺	CD8 ⁺ IFN γ ⁺	CD4 ⁺ IFN γ ⁺	CD8 ⁺ IFN γ ⁺	CD4 ⁺ IFN γ ⁺	CD8 ⁺ IFN γ ⁺
1.	1,08	1,96	64,10	77,40	0,67	1,21
2.	3,26	3,18	61,98	58,06	2,56	1,93
3.	8,23	4,26	30,22	31,54	3,54	2,46
4.	4,32	5,02	63,00	66,00	2,11	1,85
5.	16,31	17,99	69,72	86,63	11,81	10,77
6.	1,93	2,59	79,00	85,00	0,64	1,45
medián	3,79	3,93	63,55	71,7	2,34	1,89
min-max	1,08-16,31	1,96-17,99	30,22-79,00	31,54-86,63	0,64-11,81	1,21-10,77
p			p ₁ =0,028	p ₂ =0,028		

Tabulka č 3 a: Identifikace a separace hTERT- a MUC1-specifických T lymfocytů.

Procentuální hodnoty aktivovaných IFN- γ ⁺CD4⁺ a IFN- γ ⁺CD8⁺ hTERT- a MUC1-specifických TL ve vstupní, pozitivní a negativní frakci po magnetické separaci (MACS). Měřeno na průtokovém cytometru 24 hod po restimulaci. Uveden medián, minimální, maximální hodnota (%) a statistická významnost obohacení IFN- γ ⁺CD4⁺ (p₁) a IFN- γ ⁺CD8⁺ (p₂) TL v pozitivní frakci oproti frakci vstupní. Data byla vyhodnocena pomocí Wilcoxonova testu. Tabulka a) separace hTERT-specifických TL; tabulka b) separace MUC1-specifických TL.

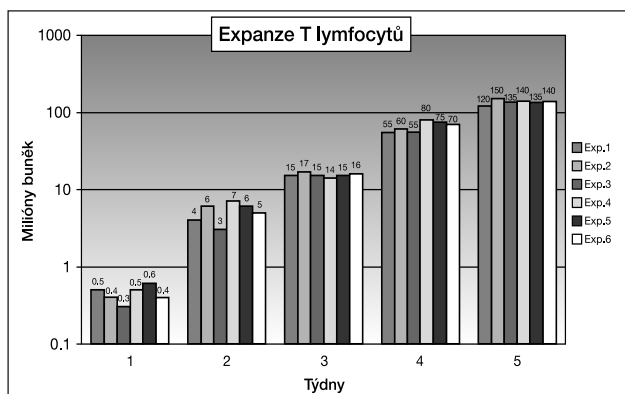
Pokus	Vstup [%]		Pozitivní frakce [%]		Negativní frakce [%]	
	CD4 ⁺ IFN γ ⁺	CD8 ⁺ IFN γ ⁺	CD4 ⁺ IFN γ ⁺	CD8 ⁺ IFN γ ⁺	CD4 ⁺ IFN γ ⁻	CD8 ⁺ IFN γ ⁻
1.	1,46	1,94	35,56	65,63	0,61	1,04
2.	1,43	2,02	36,14	52,38	0,66	1,84
3.	3,1	3,77	43,00	62,56	1,93	2,37
4.	3,55	10,08	71,5	75,98	3,94	2,23
5.	1,62	1,94	54,19	62,93	1,14	1,07
medián	1,62	2,02	43,00	62,93	1,14	1,84
min-max	1,43-3,55	1,94-10,08	35,56-71,5	52,38-75,98	0,61-3,94	1,04-2,37
p			p ₁ =0,043	p ₂ =0,043		

Tabulka č. 3 b

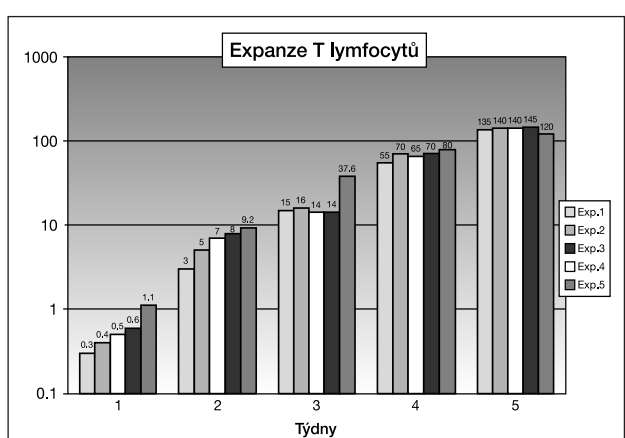
3.3. Expanze hTERT- a MUC1-specifických T lymfocytů *in vitro*

Separované hTERT/MUC1-specifické TL byly u 6/5 experimentů expandovány *in vitro*. Expanze byla prováděna pomocí PHA, IL-2 a alogenních ozářených MNPk zdravých dárců. Obr.č.1 a, b ukazuje expanzi hTERT- a MUC1-specifických TL *in vitro* v čase. Buňky byly počítány 1x týdně po dobu 4 týdnů. Během této doby došlo k expanzi a) pro hTERT-specifické TL z počátečních hodnot 0,30 – 0,60 x10⁶ (medián 0,45 x 10⁶) TL na hodnoty 120,0 – 150,0 x10⁶ (medián 137,5 x 10⁶) TL, b) pro MUC1-specifické TL z počátečních hodnot 0,30 – 1,10 x10⁶ (medián 0,50 x 10⁶) TL na hodnoty 120,0 – 145,0 x10⁶ (medián 140,0 x 10⁶) TL.

Obrázek č. 1 a



Obrázek č. 1 b



Obrázky 1: Expanze hTERT- a MUC1-specifických T lymfocytů *in vitro* v čase.

Graficky jsou zde znázorněny výsledky expanze pro jednotlivé experimenty (odlišeny různým šrafováním). Počty buněk (v milionech) byly zaznamenávány každý týden po dobu 1 měsíce. Obrázek a) expanze hTERT- specifických TL (6 experimentů); obrázek b) expanze MUC1-specifických TL (5 experimentů).

4. Závěr a diskuze

Antigeny hTERT a MUC1 jsou specifické pro HLA-A2 alelu a tedy aktivaci CD8⁺ TL (19, 41, 42). Výsledky ukázaly, že při stimulaci TL DB naloženými hTERT a MUC1 dochází k jejich významné aktivaci oproti nestimulovaným TL nebo TL stimulovaným samotnými DB či DB naloženými HLA-A2 specifickým nestimulujícím referenčním peptidem HIV-1.

Nejsilnější odpověď TL aktivovaných DB naloženými hTERT byla zaznamenána u CD8⁺ TL po restimulaci, což je dáno specificitou peptidu pro HLA-A2 alelu. Stejně tomu tak bylo i v případě MUC1 peptidu. Rovněž došlo k aktivaci CD4⁺ TL po restimulaci DB naloženými hTERT, což ukazuje na možnost zkřížené prezentace antigenu DB CD4⁺ TL. V případě MUC1 peptidu došlo k vyšší aktivaci TL také u CD8⁺ TL po stimulaci. Při srovnání aktivace oběma nonapeptidy hTERT i MUC1 s aktivací nestimulujícím nonapeptidem HIV-1 byly nalezeny statisticky významné rozdíly při stimulaci i restimulaci CD4⁺ i CD8⁺ TL, což dokazuje navození specifické odpovědi nonapeptidy hTERT a MUC1. Srovnání s aktivací samotnými DB ukázalo statistickou významnost pouze po restimulaci, což lze přičítat fyziologické schopnosti DB. Při srovnání stimulační HIV-1 nonapeptidem a samotnými DB nebyly prokázány statisticky významné rozdíly s výjimkou CD8⁺ TL po restimulaci potvrzující schopnost DB navodit aktivaci TL po opakované stimulaci.

Naměřené výsledky jsou v souladu s publikovanými pracemi (23, 45, 46), které rovněž ukázaly možnost identifikace protinádorových TL při využití proteinů jako TAA. Jako TAA byly využity heat shock protein gp96, epitop I₅₄₀ odvozený od hTERT a jiný epitop proteinu MUC1. Proteiny gp96 nebo hTERT byly naloženy do DB získaných ze zdravých HLA-A2 pozitivních dárců. Naloženými DB byly stimulovány autologní TL, které produkují IFN- γ . Buněčná produkce IFN- γ byla stanovena metodou ELISPOT (23, 46). Nonapeptid odvozený z MUC1 proteinu byl rovněž využit jako TAA u MM. Byl testován *in vitro* na HLA-A2 pozitivních pacientech s MM. DB naložené tímto nádorovým antigenem dokázaly úspěšně aktivovat myelom-MUC1-specifické CTL a mohou být využity v protinádorové imunoterapii MM (45).

hTERT a MUC1 byly testovány jako nádorové antigeny v klinických experimentech u různých nádorových onemocnění (28, 38, 39). Vakcína obsahující DB naložené hTERT byla aplikována 6 pacientům s prsním karcinomem a karcinomem prostaty s dosažením 1 smíšené klinické odpovědi (28). Vakcína využívající MUC1 naložený do DB byla aplikována 10 pacientům s karcinomem prsu a vaječníků a 20 pacientům s pokročilým stádiem renálního karcinomu. U vakcinace pacientů s renálním karcinomem bylo dosaženo 1 CR a 2 PR, u 6 pacientů byla pozorována regrese metastáz (38, 39). Bylo prokázáno, že hTERT a MUC1 jsou exprimovány také na některých zdravých tkáních (27, 32, 33, 38, 40), avšak ve vakcinačních studiích

nebyly pozorovány žádné autoimunitní reakce po podání, nebyly rovněž zaznamenány vedlejší účinky či projevy toxicity vyššího stupně (III, IV) (27, 28, 38, 40).

Úspěšná adoptivní T-buněčná imunoterapie byla demonstrována zejména u melanomu a renálního karcinomu.

V této práci ukazujeme, že i u méně imunogenního MM lze pomocí peptidových nádorových antigenů identifikovat populaci potenciálně myelom-specifických TL.

Tato práce byla podpořena projektem MŠMT LC0602.

Literatura

- Hájek R. Základní algoritmus léčby mnohočetného myelomu. *Transfuzie a hematologie dnes*. 2005; 11: (26-30).
- Barlogie B, Jagannath S, Vesole DH, Trikot G. Autologous and allogeneic transplants for multiple myeloma. *Semin.Hematol.* 1995; 32: 31-44.
- Facon T. Frontline treatment in patients not eligible for stem cell transplantation. XIth International Myeloma Workshop, IVth International Workshop on Waldenström's Macroglobulinemia, 25-30 June 2007 – Kos Island, Greece, *The hematology journal*. 2007; (abstr. S 5.5).
- Cavo M. The role of thalidomide in myeloma patients eligible for high-dose therapy. XIth International Myeloma Workshop, IVth International Workshop on Waldenström's Macroglobulinemia, 25-30 June 2007 – Kos Island, Greece, *The hematology journal*. 2007; (abstr. S 5.2).
- Jagannath S. The role of Bortezomib in myeloma patients eligible for high-dose therapy. XIth International Myeloma Workshop, IVth International Workshop on Waldenström's Macroglobulinemia, 25-30 June 2007 – Kos Island, Greece, *The hematology journal*. 2007; (abstr. S 5.3).
- Richardson PG and Anderson KC. Multiple myeloma. *Remedica Publishing*. 2004; 3: 57.
- Adam Z, Hájek R, Ščudla V a kol. Mnohočetný myelom a další monoklonální gamapatie. *Masarykova Univerzita Brno*. 1999; 1-260.
- Hájek R, Büchler T, Musilová R, Křivanová A. Perspektivní léky v léčbě mnohočetného myelomu. *Klinická onkologie*. 2002; suppl.: 38-42.
- Thumer B, Haendle I, Roder C, et al. Vaccination with mage-3A1 peptide-pulsed mature, monocyte-derived dendritic cells expands cytotoxic T cells and induces regression of some metastases in advanced stage IV melanoma. *J Exp Med* 1999; 190: 1669-1678.
- Lam JS, Beldegrun AS, Figlin RA. Advances in immune-based therapies of renal cell carcinoma. *Expert Rev Anticancer Ther* 2004; 4: 1081-1096.
- Barlogie B, Jagannath S, Epstein J, et al. Biology and therapy of multiple myeloma in 1996. *Semin Hematol* 1997; 34: 67-72.
- Yi Q, Österborg A. Idiotype-specific T cells in multiple myeloma: targets for an immunotherapeutic intervention?. *Med.Oncol* 1996; 13: 1-7.
- Büchler T, Hájek R. Dendritic cell vaccines in the treatment of multiple myeloma. *Med Oncol* 2002; 19: 213-308.
- Yi Q, Desikan R, Barlogie B, Munshi N. Optimizing dendritic cells-based immunotherapy in multiple myeloma. *Br J Hematol* 2002; 117:297-305.
- Wen YJ, Min R, Yi Q, et al. Tumor lysate-specific cytotoxic T lymphocytes in multiple myeloma-promising effector cells for immunotherapy. *Blood* 2002; 99: 3280-3285.
- Hayashi T, Hideshima T, Akiyama M, et al. Ex vivo induction of myeloma-specific cytotoxic T-lymphocytes. *Blood* 2003; 4: 1435-1442.
- Reichardt V, Milazzo C, Brossart P, et al. Induction of myeloma specific cytotoxic T cells using dendritic cells transfected with tumor-derived RNA. The 44th Annual Meeting of the American Society of Hematology 2002; (abstr. 3182).
- Brossart P, Wirths S, Brugger W, Kanz L. Dendritic cells in cancer vaccines. *Exp Hematol*. 2001; 29:1247-1255.
- Minev B, Hipp J, Zanetti M, et al. Cytotoxic T cell immunity against telomerase reverse transcriptase in humans. *PNAS*. 2000; 97: 4796-4801.
- Fajkus J. Jak začínají a končí chromozomy, rub a líc buněčné nesmrtnosti. *Živa*. 2002; 6: 245-248.
- Shay JW, Bacchetti S. A survey of telomerase activity in human cancer. *Eur J Cancer*. 1997; 33: 787-791.
- Vonderheide RH, Hahn WC, Schultze JL, Nadler LM. The telomerase catalytic subunit is a widely expressed tumor-associated antigen recognized by cytotoxic T lymphocytes. *Immunity*. 1999; 10: 673-690.
- Vonderheide RH, Schultze JL, Anderson KS, et al. Equivalent induction of telomerase-specific cytotoxic T lymphocytes from tumor-bearing patients and healthy individuals. *Cancer Res* 2001; 61: 8366-8370.
- Vonderheide RH. Telomerase as a universal tumor-associated antigen for cancer immunotherapy. *Oncogene*. 2002; 21: 674-679.
- Pang JX. Human telomerase reverse transcriptase as a target for tumor immunotherapy. *Ai Zheng*. 2003; 22: 893-895.
- Arai J, Yasukawa M, Fujita S, et al. Identification of human telomerase reverse transcriptase-derived peptides that induce HLA-A24-restricted antileukemia cytotoxic T-lymphocytes. *Blood*. 2001; 97: 2903-2907.
- Matthews P, Jones CJ. Clinical implications of telomerase detection. *Histopathology*. 2001; 38: 485-489.
- Vonderheide RH, Domchek SM, Chen D-Y, et al. Vaccination of Cancer Patients Against Telomerase Induces Functional Antitumor CD8+ T lymphocytes. *Clinical Cancer Research*. 2004; 10: 828-839.
- Gendler S, Taylor-Papadimitriou J, Burchell J-A, et al. A highly immunogenic region of a human polymorphic epithelial mucin expressed by carcinomas is made up of tandem-repeats. *J Biol Chem*. 1988; 263: 12820-12823.
- Finn OJ, Jerome KR, Henderson RA, et al. MUC1 epithelial tumor-mucin-based immunity and cancer vaccines. *Immunol Rev*. 1995; 145: 61-89.
- Hinoda Y, Nakagawa N, Yachi A, et al. Recognition of the polypeptide core of mucin by monoclonal antibody MUSE 11 against an adenocarcinoma-associated antigen. *Jpn.J.Cancer Res*. 1990; 81:1206.
- Brossart P, Wirths S, Brugger W, Kanz L. Dendritic cells in cancer vaccines. *Exp Hematol*. 2001; 29:1247-1255.
- Takahashi T, Makiguchi Y, Yachi A, et al. Expression of MUC1 on myeloma cells and induction of HLA-unrestricted CTL against MUC1 from a multiple myeloma patient. *Journal of Immunology*. 1994; 153: 2102-2109.
- Treon SP, Raje N, and Anderson KC. Immunotherapeutic strategies for the treatment of plasma cell malignancies. *Semin. Oncol*. 2000; 27: 598-613.
- Burton J, Mishina D, Gold DV, et al. Epithelial Mucin-1 (MUC1) expression and MA5 anti-MUC1 monoclonal antibody targeting in multiple myeloma. *Clin Cancer Res*. 1999; 5: 3065-3072.
- Noto H, Takahashi T, Hinoda Y, et al. Cytotoxic T lymphocytes derived from bone marrow mononuclear cells of multiple myeloma patients recognize an underglycosylated form of MUC1 mucin. *Int. Immunol*. 1997; 9: 791-798.
- Appostopoulos V, Haurum JS, McKenzie IF. MUC1 peptide epitopes associated with five different H-2 class I molecules. *Eur J Immunol*. 1997; 27: 2579-2585.
- Brossart P, Wirths S, Stuhler G, et al. Induction of cytotoxic T-lymphocyte responses in vivo after vaccinations with peptide-pulsed dendritic cells. *Blood*. 2000; 96: 3102-3108.
- Wierecky J, Mueller MR, Brossart P, et al. Immunologic and clinical responses after vaccinations with peptide-pulsed dendritic cells in metastatic renal cancer patients. *Cancer Res*. 2006; 66: 5910-5918.
- Brugger W, Buhring HJ, Kanz L, et al. Expression of MUC1 epitopes on normal bone marrow: implications for the detection of micro-metastatic tumor cells. *J.Clin.Oncol*. 1999; 17:1535-1544.

původní práce

41. Agrawal B, Reddish MA, Longenecker BM, et al. The anti-MUC1 monoclonal antibody BCP8 can be used to isolate and identify putative major histocompatibility complex class I associated amino acid sequences. *Cancer Res.* 1998; 58: 5151-5156.
42. Gong J, Apostopoulos V, Kufe D, et al. Selection and characterization of MUC1-specific CD8+ T cells from MUC1 transgenic mice immunized with dendritic-carcinoma fusion cells. *Immunology.* 2000; 101: 316-324.
43. Büchler T, Hájek R, Bourková L a kol. Generation of antigen-loaded dendritic cells in a serum-free medium using different cytokine combinations. *Vaccine.* 2003; 21: 877-882.
44. Očadlíková D, Kovářová L, Vidláková P a kol. Identifikace myelom-specifických T-lymfocytů na základě produkce interferonu gama. Edukační sborník XXVIII. Brněnské onkologické dny a XVIII. Konference pro sestry a laboranty 26.-28.května 2004. 2004; 53: 113-116.
45. Beckove H, Witzens M, Choi C, et al. MUC-1-reactive cytotoxic memory T cells in bone marrow of myeloma patients. The 44th Annual Meeting of the American Society of Hematology 2003, Blood. 2003; (abstr. 5227).
46. Yi Q, Qian J, Xie J, et al. Generation of tumor-specific cytotoxic T lymphocytes in multiple myeloma using dendritic cells pulsed with tumor-derived heat shock protein gp96. The 44th Annual Meeting of the American Society of Hematology 2004, Blood. 2004; (abstr. 2451).

Korespondenční adresa:

Mgr. Darina Očadlíková,
Oddělení klinické hematologie – Laboratoř experimentální hematologie
a buněčné imunoterapie, FN Brno
Jihlavská 20, Brno-Bohunice, 625 00
e-mail: jennynka@seznam.cz

Došlo / Submitted: 11. 12. 2007

Přijato / Accepted: 15. 1. 2006

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

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané
do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE „uniform requirements“
for biomedical papers.

VÝZNAM PET V DIAGNOSTICE A PREDIKCI LÉČEBNÉ ODPOVĚDI KARCINOMU CERVIXU U PACIENTEK LÉČENÝCH RADIOTERAPIÍ – VÝSLEDKY PILOTNÍ STUDIE

THE ROLE OF PET IN THE DIAGNOSIS AND PREDICTION OF THE TREATMENT RESPONSE IN PATIENTS WITH CERVICAL CARCINOMA TREATED WITH RADIOTHERAPY – RESULTS OF PILOT STUDY

DOLEŽELOVÁ H.¹, ŠLAMPA P.¹, ONDROVÁ B.¹, BOLČÁK K.², GOMBOŠOVÁ J.¹, SOVADINOVÁ Š.¹, NOVOTNÝ T.¹, RŮŽIČKOVÁ J.¹, HYNKOVÁ L.¹, OPLETAL P.³, FORBELSKÁ M.⁴

¹MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV, KLINIKA RADIAČNÍ ONKOLOGIE LF MU, BRNO

²MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV, ODDĚLENÍ NUKLEÁRNÍ MEDICÍNY, BRNO

³MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV, ODDĚLENÍ RADIODIAGNOSTIKY

⁴MASARYKOVA UNIVERZITA, PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA, KATEDRA APLIKOVANÉ MATEMATIKY, BRNO

Souhrn

Východiska: Pozitronová emisní tomografie se uplatňuje v diferenciální diagnostice benigních a maligních lézí, v rozlišení recidiv a poléčebných změn. Nově se začíná uplatňovat v predikci léčebné odpovědi. V radioterapii má své místo jako doplňující metoda při určování cílových objemů. Zařazení PET do léčebné praxe může změnit strategii léčby a tím i zlepšit léčebné výsledky. Naše pilotní studie ověřuje u karcinomu děložního čípku význam PET ve stanovení klinického stadia (stagingu) a při plánování cílových objemů pro radioterapii. **Soubor pacientů a metody:** Do souboru bylo od března 2005 do května 2007 zařazeno celkem 51 pacientek s verifikovaným karcinomem děložního čípku. U všech pacientek byla provedena kombinovaná radioterapie (zevní radioterapie a HDR brachyterapie), eventuálně konkomitantně s cisplatinou. Plánovací cílový objem lymfatických oblastí byl stanoven na základě výsledků fúze PET/CT vyšetření. Výsledky léčby byly hodnoceny kontrolním PET vyšetřením 9 měsíců po léčbě. **Výsledky:** Ve studii byl hodnocen rozdíl v nálezech na PET a CT vyšetření. V 32 případech (62,75%) se nálezy PET v oblasti lymfatických uzlin shodovaly s nálezy na CT vyšetření. Ve 14 případech PET vyšetření prokázalo rozsáhlejší postižení uzlinových oblastí než CT vyšetření (27,45%). Naopak v 5 případech nález na CT ukazoval větší postižení než při PET vyšetření (9,8%). Při kontrolním PET vyšetření tři měsíce po léčbě byl nález stacionární ve třech případech (5,88%) a negativní v 35 případech (68,63%); progresse byla zaznamenána ve 4 případech (7,84%) a parciální regrese ve třech případech (5,88%). Další vyšetření PET devět měsíců po léčbě nepotvrdilo názor, že by tři měsíce po léčbě ještě mohly přetrvávat falešně pozitivní výsledky PET pro postradiační zánětlivé změny. **Závěr:** Výsledky studie potvrdily významnou úlohu PET vyšetření v diagnostice a léčbě karcinomu hrdla děložního a při určení cílových objemů pro radioterapii. Prediktivní hodnota PET vyšetření nebyla v naší studii dosud ověřena. Vyšetření PET bylo v MOÚ zařazeno mezi standardní vyšetření realizovaná při stagingu u pacientek s karcinomem děložního čípku.

Klíčová slova: pozitronová emisní tomografie, radioterapie, karcinom děložního čípku.

Summary:

Backgrounds: Positron emission tomography (PET) is used to distinguish between benign and malign tumours, to diagnose relapse or post-therapeutic changes and recently to predict treatment response. PET is also a complementary method to determine target volumes in radiotherapy. Using the PET in routine oncology practice can change disease management and improve treatment outcomes of cancer patients. We performed a pilot study to validate the role of PET in staging and in radiotherapy treatment planning of cervical carcinoma. **Patients and Methods:** Between March 2005 and May 2007, 51 patients with cervical carcinoma were treated with combination of external beam radiotherapy and HDR brachytherapy, with or without concomitant cisplatin. The lymphatic nodes treatment field size was determined by PET/CT fusion. Treatment results were evaluated by PET 3 and 9 months after completion of radiotherapy. **Results:** The difference in the results of PET and CT was evaluated in this study. In 32 cases (62.75%) the results of initial PET and CT were identical, in 14 cases (27.45%) the nodal involvement was more extensive according to PET, in 5 cases (9.8%) the nodal involvement was more extensive according to CT. Comparing the results of PET done before and 3 months after the treatment, we found stable disease in 3 cases (5.88%), progression of disease in 4 cases (7.84%), partial regression in 3 cases (5.88%) and in 35 cases (68.63%) both PET scans were negative. There should not occur any false positive results caused by inflammatory reaction persisting 3 months after radiotherapy, as was confirmed by repeating PET 9 months after the treatment. **Conclusion:** The results of this study confirmed the important role of PET in diagnosis and treatment of cervical carcinoma and for determination of target volumes in radiotherapy. The predictive value of PET has not yet been validated in our study. PET was integrated into the standard staging of cervical carcinoma in Masaryk Memorial Cancer Institute.

Key words: positron-emission tomography, radiotherapy, uterine cervical neoplasms.

Úvod

Karcinom děložního hrdla patří mezi nejčastější malignity u žen. V České republice se ročně objeví 21 nových případů na 100 tisíc obyvatel. Je to čtvrtý nejčastější zhoubný nádor u žen a druhá nejčastější gynekologická malignita. Incidence tohoto onemocnění stoupá od 25. roku věku s maximem výskytu mezi 45.-49. rokem. Mortalita v České republice je 6,9 na 100 tisíc; v Evropě 5,8 a celková světová mortalita je 4,3 na 100 tisíc obyvatel (1,2,3).

I přes osvětu a možnost preventivního vyšetření řada pacientek přichází k lékařům až s velmi pokročilým nálezem. Onemocnění klinického stadia I a IIa jsou řešena chirurgickou cestou. Od klinického stadia IIb je primární volbou léčby radioterapie. Pětileté přežití závisí na klinickém stadiu – I klin. st. má pětileté přežití 80-85%; II klin. st. 50-60%; III klin. st. 30-40% a IVa klin. st. pouze 17% a IVb jen 9,4% (4,5,6). Kurativní kombinovaná radioterapie (zevní konformní radioterapie a brachyterapie) může být aplikována samostatně nebo konkomitantně s chemoterapií. Velikost ozařovaného objemu pro zevní radioterapii závisí na postižení svodné lymfatické oblasti (7,8). Proto z důvodu rizika případného „overtreatmentu“ nebo naopak poddávkování postižené oblasti je nutné ještě před zahájením kombinované terapie přesně stanovit rozsah postižení i svodných lymfatických uzlin. K standardnímu vyšetření u gynekologických malignit patří CT vyšetření břicha a pánve. Postižení lymfatických uzlin na CT lze rozpoznat za předpokladu zvětšení postižené uzliny nad 1 cm. Přitom v řadě případů mohou být lymfatické uzliny infiltrovány nádorem bez toho, aby došlo k jejich zvětšení (9-13). Pozitronová emisní tomografie (PET) s 18F-fluoro-deoxy-glukózou je schopna detekovat postižené lymfatické uzliny normální velikosti. Význam PET v diagnostice a stagingu onemocnění bylo potvrzeno již v řadě malignit (14-19).

Výsledky předkládané pilotní studie ověřují význam PET ve stanovení klinického stadia (stagingu) u karcinomu děložního čípku a při plánování cílových objemů pro radioterapii. Dalším cílem studie byla snaha zjistit, zda výsledky PET mohou predikovat odpověď na léčbu a zda lze tímto způsobem identifikovat pacientky s vyšším rizikem diseminace či relapsu.

Soubor pacientů a metody

Metodika studie byla schválena Etickou komisí MOÚ a u všech pacientek zařazených do souboru byl proveden informovaný souhlas. Pacientky byly do studie zařazovány postupně v období od března 2005 do května 2007. U všech pacientek byl verifikován karcinom děložního hrdla a byla provedena fakultativní vyšetření, tedy i CT vyšetření břicha a pánve a doplněno celotělové vyšetření PET.

Metodika pozitronové emisní tomografie: Před vlastním vyšetřením bylo pacientkám aplikován nitrožilně radiofarmakum (18F-fluoro-deoxy-glukóza, 370MBq pro standardního pacienta s hmotností 70 kg; akumulací fáze 60 min). Celotělové vyšetření (mimo kalvy) při nastavení akvizice 3D bylo prováděno na přístroji PET scanner E.CAT Accel firmy Siemens. Následná rekonstrukce řezů byla provedena interaktivní metodou OSEM (Ordered Subset Maximalization Expectation) s korekcí absorpce. Hodnocení scanů proběhlo ve třech rovinách (transverzální, koronální a sagitální a pseudotřírozměrné zobrazení MIP-Maximum Intensity Projections). V oblasti patologických ložisek se hodnotil tzv. SUV (Standardized Uptake Value), t.j. naměřená aktivita v cílové tkáni vztažená k podané aktivitě a dále k hmotnosti nebo k povrchu pacienta, což umožňuje semikvantitativně zhodnotit metabolický obrat hodnocených ložisek. Dále byla provedena softwarová fúze obrazů s CT nálezy. Všechny nálezy byly hodnoceny nezávisle dvěma erudovanými lékaři z odd. nukleární medicíny.

Metodika CT vyšetření: Standardní tloušťka řezu 5 mm, standardní posun (inkrement) 5 mm. Měřitelné léze byly měřeny ve dvou na sebe kolmých průmětech v axiálním řezu. Byla zhodnocena velikost čípku před a po terapii, změřeny případně další patologické léze v pánvi (např. patologické uzliny).

Sledování: Tři měsíce po ukončení léčby bylo provedeno gynekologické vyšetření, CT vyšetření břicha a pánve a kontrolní PET vyšetření. Byla sledována toxicita léčby. Za dalších 6 měsíců, tj. 9 měsíců po léčbě, bylo u většiny pacientek provedeno druhé PET vyšetření s cílem vyloučení falešně pozitivních změn po léčbě v důsledku postradiačních reakcí. Pacientky byly nadále pravidelně sledovány na gynekologické ambulanci a na ambulanci radiační onkologie.

Radioterapie: Podle výsledků stagingových vyšetření a PET vyšetření byla u pacientek určena léčebná strategie podle standardních léčebných postupů MOÚ. V případě, že vyšetření PET ukázalo rozsáhlejší postižení uzlinových oblastí než CT, byl plánovací cílový objem pro radioterapii rozšířen o tato postižená místa. Všechny pacientky podstoupily kombinovanou kurativní radioterapii (zevní konformní radioterapii a brachyterapii – uterovaginální aplikaci HDR zdrojem ¹⁹²Ir). Zevní radioterapie (5x1,8 Gy/týden, celkem 45 Gy s event. cíleným ozařením parametří 4-6 Gy) byla aplikována brzdným svazkem 18 MV na lineárním urychlovači Varian C/D. Pacientky byly ozařovány v poloze na zádech s rukama na prsou. U části pacientek byla použita fixace pánve v poloze na břiše za použití podložky – bellyboard. Pánev byla ozařována technikou box (čtyři konvergentní pole); břišní paraaortální uzliny technikou dvou protilehlých polí. Brachyterapie byla provedena na HDR přístroji Varisource s iridiovým zdrojem. Uterovaginální aplikace byly prováděny v celkové anestézii zpravidla v pěti frakcích (5x5,5-6 Gy).

Statistika: Statistické zpracování bylo provedeno Katedrou aplikované matematiky Přírodovědecké fakulty Masarykovy univerzity. Byl použit program MatLab a Kaplan-Meierova funkce přežití.

Výsledek

Celkem bylo do studie zařazeno 51 pacientek s diagnózou primárního karcinomu děložního hrdla. Medián věku byl 49,8 rok (29,4-75,1). V 94% případů (48 pacientek) se jednalo o verifikovaný spinocelulární karcinom. Zbývající tři pacientky měly jinou histologii (2x adenokarcinom, 1x světlóbněčný karcinom). Zhodnocení stupně malignity na základě histologických kritérií v případech spinocelulárního karcinomu (grading): st. 1 v jednom případě (1,96%), st. 2 v 23 případech (45%) a st. 3 u 24 pacientek (47%). Podle klinických stadií lze soubor pacientek rozdělit: IIb stadium v 22 případech (43,14%); IIIb stadium v 28 případech (54,9%) a stadium III bylo určeno v jednom případě (1,96%).

Dále byl hodnocen rozdíl v nálezech na PET a CT vyšetření. V 32 případech (62,75%) se nálezy PET v oblasti regionálních lymfatických uzlin shodovaly s nálezy na CT vyšetření. Ve 14 případech PET vyšetření prokázalo rozsáhlejší postižení uzlinových oblastí než CT vyšetření (27,45%). Naopak v pěti případech nález na CT ukazoval větší postižení než při PET vyšetření (9,8%). V případech rozsáhlejšího CT nálezu než PET se jednalo o suspektní postižení lymfatických uzlin u tří pacientek a ve dvou vyšetření CT bylo hodnoceno jako pozitivní postižení svodné lymfatické oblasti. Hodnoty SUV_{max} se pohybovaly v rozmezí 3-19,12 s mediánem 9,2.

Použití výsledků PET vyšetření v léčebné strategii vedlo ke změně cílového objemu u 9 pacientek (17,4%). V dalších pěti případech, kdy nedošlo ke změně cílového objemu, nález na PET napomohl upřesnit lokalizaci postižení. Většina pacientek byla ozařena na oblast pánve s kranálními hranicemi pole na rozhraní obratlů L4/5 (29 pacientek; 56,86%). U dvou pacientek byla

původní práce

kraniální hranice prodloužena na úroveň rozhraní obratlů L2/3 (3,92%), u dvou po L3/4 (3,92%). Pánev a paraaortální břišní uzliny byly ozářeny u 18 pacientek (35,3%).

Celkem 96% pacientek v souboru bylo ozářeno standardní frakcionací 5x1,8 Gy/týden v celkové dávce 45 Gy. U dvou pacientek tato dávka nebyla dodržena vzhledem k závažnějším nežádoucím účinkům léčby. Boost na parametria byl aplikován u 28 pacientek (54,9%), ve většině případů v dávce 6 Gy ve 3 frakcích. Brachyterapii podstoupily všechny pacientky. Dvacet osm obdrželo dávku 27,5 Gy (54,9%), 13 dávku 30 Gy (25,49%). Chemoterapie byla podána u 39 pacientek (76,47%). Toxicita léčby byla mírná, většinou se jednalo o reakce st. 1-2 (hematotoxicita, kolitida, nauzea, cystitida), pouze dvě pacientky měly sterkorální peritonitidu, jedna byla léčena pro febrilní neutropenii, jedna anémií G3 a u třech pacientek byla zaznamenána leukopenie st. 3.

Gynekologický nálezy tři měsíce po ukončení léčby byl v 86,27% případů negativní. U 7 pacientek byl zaznamenán vitální tumor (13,73%). Tři měsíce po ukončení léčby bylo provedeno kontrolní CT vyšetření u 44 pacientek. Jedna pacientka do té doby zemřela pro progredující onemocnění a dvě měly stále projevy výrazné toxicity léčby; z těchto důvodů u nich nebylo CT provedeno. V 21 případech bylo poléčebné CT negativní (41,18%); v 19 případech byla zaznamenána regrese tumoru (37,25%) a u 4 pacientek byl nálezy stacionární (7,84%). U dvou pacientek ze souboru se objevily plicní metastázy.

Při kontrolním PET vyšetření tři měsíce po léčbě byl nálezy stacionární ve třech případech (5,88%) a negativní v 35 případech (68,63%). Progrese byla zaznamenána ve 4 případech a parciální regrese ve třech případech (5,88%). Vyšetření nebylo provedeno u 6 pacientek.

Vyšetření CT ukázalo regresi tumoru nebo negativní nálezy v případech, kdy nálezy na PET byl již negativní. Lze předpokládat, že PET ukáže dříve odpověď na léčbu než standardně používané CT vyšetření.

V jednom případě popisovalo CT vyšetření metastázy do plic, jater a kostí a přitom PET vyšetření bylo u této pacientky pozitivní pouze v oblasti pánve. Pacientka brzy zemřela na progresi onemocnění. V jednom případě progredujícího onemocnění byl nálezy na CT i PET shodný. Jedna pacientka vykazovala suspektní nálezy na plicích dle PET. Tento nálezy byl pak po dalším sledování negativní. U dvou pacientek bylo podezření na metastázy do plic dle PET.

U 38 pacientek bylo provedeno další vyšetření PET devět měsíců po léčbě. Nepotvrdila se myšlenka, že by tři měsíce po léčbě ještě mohly být postradiační zánětlivé změny, které by mohly vést k falešně pozitivním výsledkům na PET vyšetření. V 8 případech došlo k progresi (15,68%). Hodnoty SUV neprokazují statistickou významnost ve vztahu k progresi onemocnění ($p=0,29$). Čtyřicet tři pacientek přežívá bez známek recidivy onemocnění (84,43%). Zemřelo celkem 8 pacientek (15,68%). Jedna pacientka zemřela na infarkt myokardu, ostatní na progresi onemocnění. Charakteristika pacientek, u nichž došlo k exitu, je uvedena v tabulce (tabulka č. 1).

Tabulka č. 1: Charakteristika pacientek, u nichž došlo k exitu

číslo pac.	stadium	grading	SUV _{max}	cílový objem	PET vs. CT
1	3	2	5,3	pánev + RP	=
2	3	2	x	pánev po L2/3	=
3	3	3	x	pánev po L2/3	>
4	3	3	x	pánev + RP	=
5	2	2	5,6	pánev + RP	=
6	3	x	8,8	pánev po L4/5	=
7	3	2	6,2	pánev + RP	=
8	3	3	17,4	pánev po L4/5	>

SUV_{max} - Standardized Uptake Value, RP - retroperitoneum,

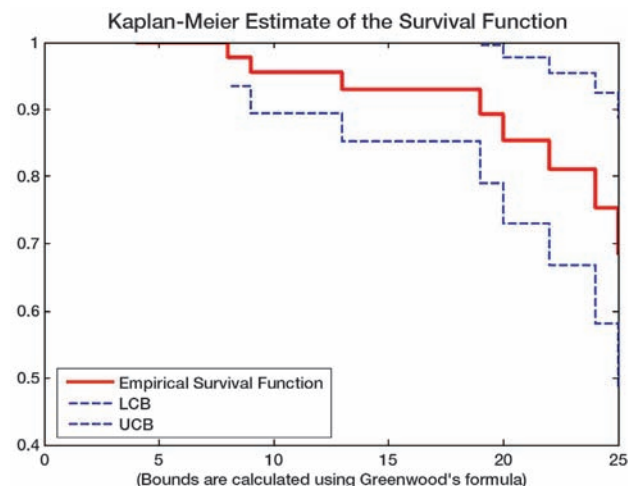
Charakteristiku souboru pacientek, u kterých došlo k progresi onemocnění ukazuje další tabulka (tabulka č. 2). Metastatický rozsev se u pacientek projevil s mediánem 10 měsíců. V pěti případech šlo o metastázy do plic, ve třech případech byly postiženy lymfatické uzliny, v jednom případě se objevilo postižení jater a dvě pacientky měly metastázy skeletu.

Tabulka č. 2: Charakteristika pacientek, u nichž došlo k progresi onemocnění

číslo pac.	stadiu m	grading	SUV _{ma} x	PET vs. CT
1	3b	2	5,3	=
2	3b	2	x	=
3	3b	3	x	>
4	3b	3	x	=
5	3b	3	6,8	=
6	3b	x	8,8	=
7	3b	2	6,2	=
8	3b	3	17,4	>

SUV_{max} - Standardized Uptake Value

Medián sledování přežívajících pacientek je 17 měsíců (4-36 měsíců). Pacientky, které zemřely, měly medián sledování 10 měsíců. U 9 pacientek, které měly zvětšený cílový objem na podkladě výsledku PET, došlo v jednom případě k progresi. Ostatní pacientky žijí v kompletní remisi (15,7%). Výsledky léčby jsou dále uvedeny v grafu přežití (graf č. 1).



Graf č. 1: Celkové přežití pacientek konzervativně léčených v MOU v období III/2005-VI/2007 pro karcinom děložního čípku, soubor 51 pacientek.

Diskuse

Karcinom děložního čípku se objevuje na předních místech v incidenci zhoubných nádorů u žen v České republice. Mezi nejvýznamnější prognostické faktory toho onemocnění patří velikost tumoru a postižení lymfatických uzlin. V léčbě časných stadií se uplatňuje chirurgický přístup, u ostatních stadií je léčebnou modalitou kombinovaná radioterapie (RT) a chemoterapie (CHT) (20).

Pro výběr optimálního léčebného postupu je důležité správné určení klinického stadia onemocnění (staging). Tumor děložního hrdla se lymfaticky šíří přes pánevní uzliny do břišních paraaortálních lymfatických uzlin a dále do ostatních orgánů. Postižení pánevních a paraaortálních lymfatických uzlin je tedy důležitý prognostický faktor ovlivňující lokální kontrolu i celkové přežití. Bylo prokázáno v řadě studií, že kontrola onemocnění v regionálních uzlinách zajistí i celkovou kontrolu onemocnění a zvyšuje celkové přežití (21).

Možnosti CT vyšetření v identifikaci postižených pánevních a paraaortálních lymfatických uzlin jsou omezené. Dle GOG studií (Gynecologic Oncology Group) identifikuje CT pouze 34% postižených paraaortálních uzlin (22,23).

Velkým přínosem v diagnostice se nyní stává PET vyšetření. Pozitronová emisní tomografie s použitím radiofarmaka FDG (¹⁸F-fluorodeoxyglukóza) umožňuje na metabolickém podkladě identifikovat nádorová ložiska, která nelze prokázat jinými diagnostickými metodami. Využití PET vyšetření se hledá ve stagingu různých malignit, v diagnostice nádorů neznámého primu nebo ve vyhledávání recidiv onemocnění (14-19). Některé studie se také pokouší nalézt prediktivní hodnotu tohoto vyšetření a na podkladě výsledků pak zvýšit efektivitu léčby (24).

Bylo publikováno několik studií, které se snaží využít této nové diagnostické metody v diagnostice a léčbě karcinomu děložního hrdla. Většinou se jednalo však o retrospektivní sledování. Grigsby *et al.* ve své práci retrospektivně hodnotili 101 pacientek s diagnózou karcinomu děložního hrdla. Pacientky absolvovaly CT a PET vyšetření před zahájením léčby. Podstoupily kombinovanou léčbu (RT+CHT) a byly dále sledovány. Všechny pacientky, které dle CT vyšetření měly postiženy břišní paraaortální uzliny, byly i PET v této lokalizaci pozitivní. Pacientky byly rozděleny do tří skupin podle pozitivní a negativní CT a PET vyšetření. Byl zjištěn statisticky významný rozdíl v dvouletém progression free survival (73% pro CT neg. + PET neg.; 49% pro CT neg.+ PET poz.; 39% pro CT poz. + PET poz.). Závěrem studie byla hypotéza, že abnormální výsledek PET vyšetření lymfatických uzlin je důležitým prediktorem progresu onemocnění (25,26).

Také Singh *et al.* ve své studii použili PET vyšetření před léčbou pacientek v klinickém stadiu IIIb. Třileté přežití bylo u pacientek bez postižení uzlin (dle PET) 79%, u pacientek s pozitivními pánevními uzlinami 58%, u pacientek s pozitivními paraaortálními uzlinami 29% a při postižení nadklíčkových uzlin 0% (27). GOG studie udávají postižení paraaortálních uzlin u pacientek ve IIIb klinickém stadiu kolem 30%. Survival rate se u těchto pacientek pohybuje kolem 26-30% (22,23). Singh v závěru studie doporučuje PET vyšetření ve stagingu všech pacientek s karcinomem děložního čípku. U pacientek s PET pozitivními paraaortálními uzlinami doporučuje radioterapii i na oblast těchto uzlin, případně zvýšit dávku pomocí IMRT (intensity modulated radiotherapy) či aplikovat agresivnější režim chemoterapie (27).

Vysokou specifitu a senzitivitu PET vyšetření prokázali také Rose *et al.* Pacientky absolvovaly předléčebné PET vyšetření. Poté následovala operace s lymfadenektomií. Cílem studie bylo zjistit korelaci mezi PET vyšetřením a histologickým nálezem. Senzitivita PET vyšetření byla 75%, specifita 92%, pozitivní predictive value 75%, negativní predictive value 92% (28). Podobně také Miller *et al.* hodnotí význam PET ve vyhledávání rizikovějších pacientek, které by měly léčebný efekt z agresivnější léčby (29,30). Např. uplatnění PET při IMRT ve studii Murtieho *et al.* (31).

Kromě předléčebného stagingu a ve výběru léčebné modalitě se může PET uplatnit i v následné dispenzarizaci. Nakamoto *et al.*

hodnotili možnosti PET v diagnostice recidivy onemocnění. Brzka diagnóza recidivy má také vliv na celkovou prognózu. Nejčastějším projevem relapsu je tumorózní infiltrát v pánvi nebo lymfadenopatie. Někdy je těžké rozlišit nádorovou tkáň od tkáňových jizev a postadiačních změn. Nakamoto prováděl PET vyšetření za 3-7 měsíců po radioterapii. Lokální recidiva byla vždy PET pozitivní. Falešně pozitivní nálezy byly způsobeny zánětlivými změnami po radioterapii. Senzitivita byla 100%, specifita 60%, pozitivní predictive value 45%, negativní predictive value 100% (32).

V naší studii se uplatnilo PET vyšetření v předléčebné strategii. U 17,4% pacientek díky použití PET došlo ke zvětšení cílového objemu a zahrnutí oblastí, které by podle CT výsledků nebyly ozařovány. Lze přepokládat, že by tyto pacientky při standardně používaných diagnostických metodách, byly poddávkovány, resp. cílové objemy pro radioterapii byly určeny nedostatečně, chybně (33).

Hodnoty SUV_{max} v naší studii nedokázaly predikovat odpověď na léčbu. I v dříve proběhlých studiích je predikce předléčebných výsledků PET nejasná. Ve studii Kitagawa *et al.* předléčebné vyšší hodnoty SUV ukazovaly přetrvávající viabilní buňky. Pacienti s nižším SUV byli úspěšně léčeni. Jednalo se o diagnózu nádorů hlavy a krku (34). Podobné výsledky byly zjištěny u nádorů konečnicku (19). Naopak Ichiya *et al.* publikovali opačné výsledky. Vyšší hodnoty SUV byly ve skupině pacientů, kteří měli kompletní remisi oproti pacientům, u nichž došlo k progresi (35). Zajímavá je studie Koike *et al.*, která použila u pacientů 3 měsíce po léčbě vyšetření dvofázovým PET. Obraz PET byl snímán 60 a 180 min. po aplikaci FDG. Pouze retenční index ukázal signifikantní rozdíl mezi pacienty s reziduálním tumorem a bez tumoru. Ostatní faktory byly statisticky bezvýznamné (36).

Dalším zajímavým výsledkem naší studie byl rychlejší průkaz efektu léčby při PET vyšetření než při CT vyšetření – ať již se jednalo o progresi onemocnění nebo jeho remisi. Nevýhodou našeho zpracování bylo, že CT a PET vyšetření byly prováděny samostatně, v různé dny a na dvou pracovištích. Následná fúze obou vyšetření pak byla zatížena možnými chybami. V blízké době je zvažován nákup hybridního CT/PET přístroje, který tyto nedostatky odstraní.

Závěr

Výsledky studie potvrdily významnou úlohu PET vyšetření v diagnostice a léčbě karcinomu hrdla děložního a při určení cílových objemů pro radioterapii. Vyšetření PET bylo v MOÚ zařazeno do standardních vyšetření stagingu u pacientek s karcinomem cervixu. Prediktivní hodnota PET vyšetření nebyla ověřena. Výsledky sledování pacientek také ukazují na vhodnost zařazení kontrolního PET vyšetření v časně době (3-4 měs.) po léčbě; dříve než CT ukazuje výsledky léčby – regresi tumoru nebo případný relaps. Prediktivní hodnota PET vyšetření nebyla ověřena, nicméně tato možnost vyšetření PET bude dále vyhodnocována sledováním na větším počtu zařazených pacientek v pokračujícím období.

Práce byla podpořena grantem IGA MZ ČR NR 8322-3/2005

Literatura:

1. ÚZIS ČR. *Novotvary 2002 ČR*. ÚZIS ČR, NOR ČR 2005.
2. NCI. Cervical, endometrial, Ovarian Cancer: Prevention: Incidence and Mortality. www.nci.nih.gov
3. Rob L. Epidemiologie gynekologických nádorů v ČR – současné trendy prevence a léčby gynekologických nádorů. Referátový výběr z onkologie. *Gynekologické malignity – speciál 2007*; 2: 3-7.
4. Pluta M. Současné trendy operační léčby u karcinomu děložního hrdla. Referátový výběr z onkologie. *Gynekologické malignity – speciál 2007*; 2: 19-23.
5. Rob L, Svoboda B, Robová H, et al. Guideline gynekologických zhoubných nádorů 2004 – Primární komplexní léčba operabilních stadií zhoubných nádorů děložního hrdla. *Čes Gynek 2004*; (5): 376-383.
6. Kaušitz J, Altaner Č, a kol. *Onkologie*. 1. vydání Bratislava, Veda; 2003. s. 435-441.
7. Perez CA and Brady LW (Ed.). *Principles & Practice of Radiation*

- Oncology, 4th ed., Philadelphia, Lippincott&Wilkins; 2004. s. 791-896.
8. Stankušová H, Šlampa P. Zhoubné nádory děložního hrdla. In: Šlampa, P., Petera, J. et al. Radiační onkologie. 1. vydání Praha, Galén; 2007. s. 247-262.
 9. Bujenovic S. The role of positron emission tomography in radiation treatment planning. *Sem Nucl Med* 2004; 34(4): 293-299.
 10. Grosu AL, Piert M, Weber WA, Jeremic B, Picchio M et al. Positron emission tomography for radiation treatment planning. *Strahlenther Oncol* 2005; 8: 483-499.
 11. Cohade C, Wahl R. Applications of positron emission tomography/computed tomography image fusion in clinical positron emission tomography-clinical use, interpretation methods, diagnostic improvement. *Sem Nucl Med* 2003; 33: 228-237.
 12. Doleželová H, Šlampa P. The impact of positron emission tomography in the radiotherapy treatment planning. *Neoplasma* 2007; 54 (2): 95-100.
 13. Horová H, Hynková L, Košťáková Š, et al. Využití pozitronové emisní tomografie v radioterapii. *Klinická onkologie* 2004; 17(6): 201-202.
 14. Rigo P, Hustinx R, Bury T. PET imaging in lung cancer. In: Valk PE, Bailey DL, Townsend DW, Maisey MN, editors. *Positron Emission and Tomography: Basic Science and Clinical Practice*. London, UK: Springer; 2003. s. 517-534.
 15. Van der Well A, Nijsten S, Hochstenbag M, et al. Increased therapeutic ratio by 18FDG-PET-CT planning in patients with clinical CT Stage N2/3 M0 non-small cell lung cancer (NSCLC): A modeling study. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2005; 61: 649-655.
 16. Paulino AC, Koshy M, Howell R. Comparison of CT and FDG-PET-defined gross tumor volume in intensity-modulated radiotherapy for head-and-neck cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2005; 61: 1385-1392.
 17. Kanski A, Doss M, Milestone B, et al. The integration of 18-fluorodeoxyglucose positron emission tomography and endoscopic ultrasound in the treatment-planning process for esophageal carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2005; 61: 1123-1128.
 18. Grosu AL, Weber WA, Riedel E, et al. L-(Methyl-11C) methionine positron emission tomography for target delineation in resected high-grade gliomas before radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2005; 63: 64-74.
 19. Huebner R, Park KC, Shepard J. Meta-analysis of the literature for whole body FDG PET detection of recurrent colorectal cancer. *J Nucl Med* 2000; 41: 1177-1189.
 20. Šlampa P, Soumarová R, Kocáková I, et al. *Konkomitantní chemoradioterapie solidních nádorů*. 1. vydání Praha, Grada; 2005. 168 s.
 21. Šlampa P, a kol. *Radiační onkologie v praxi*. Druhé aktualizované vydání. Masarykův onkologický ústav, Brno; 2007. s. 126-135.
 22. Ryu SY, Kim MH, Choi SC, et al. Detection of early recurrence with 18F-FDG PET in patients with cervical cancer. *J Nucl Med* 2003; 44(3): 347-52.
 23. Belhocine T, Thille A, Fridman V, et al. Contribution of whole-body 18FDG PET imaging in the management of cervical cancer. *Gynecol Oncol* 2002; 87(1): 90-97.
 24. Gambhir S, Czernin J, Schwimmer J, et al. A tabulated summary of the FDG-PET literature. *J Nucl Med* 2001; 42: S1-93.
 25. Grigsby PW, Siegel BA, Dehdashti F. Lymph node staging by positron emission tomography in patients with carcinoma of the cervix. *J Clin Oncol* 2001; 19(17): 3745-3749.
 26. Grigsby PW, Siegel BA, Dehdashti F. Posttherapy surveillance monitoring of cervical cancer by FDG-PET. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2003; 55: 907-913.
 27. Singh AK, Grigsby PW, Dehdashti F, et al. PDG-PET lymf node staging and survival of patients with FIGO stage IIIB cervical carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2003; 56(2): 489-493.
 28. Rose PG, Adler LP, Rodriguez M, et al. Positron emission tomography for evaluating para-aortic nodal metastasis in locally advanced cervical cancer before surgical staging: A surgicopathologic study. *J Clin Oncol* 1999; 17(1): 41-45.
 29. Miller TR, Grigsby PW. Measurement of tumor volume by PET to evaluate prognosis in patients with advanced cervical cancer treated by radiation therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2002; 53(2): 353-359.
 30. Miller TR, Pinkus E, Desdashi F, et al. Improved prognostic value of ¹⁸F-FDG PET using a simple visual analysis of tumor characteristics in patients with cervical cancer. *J Nucl Med* 2003; 44(2): 192-197.
 31. Mutic S, Malyapa RS, Grigsby PW, et al. PET-guided IMRT for cervical carcinoma with positive para-aortic lymph nodes—a dose-escalation treatment planning study. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2003; 55(1): 28-35.
 32. Nakamoto Y, Eisbruch A, Achtyes ED, et al. Prognostic value of positron tomography using F-18-Fluorodeoxyglucose in patients with cervical cancer undergoing radiotherapy. *Gynecol Oncol* 2002; 84: 289-295.
 33. Novotný T, Šlampa P, Košťáková Š, et al. The role of PET in prediction of treatment response of patients treated by curative radiotherapy – early experiences and obtained data. *Radiotherapy&Oncology* 2006; 81(Suppl. 1): S330-331.
 34. Kitagawa Y, Sadato N, Azuma H, et al. FDG PET to evaluate combined intra-arterial chemotherapy and radiotherapy of head and neck neoplasm. *J Nucl Med* 1999; 40(2): 1132-1137.
 35. Ichiya Y, Kuwabara Y, Otsuka M et al. Assessment of response to cancer therapy using fluorine-18-fluorodeoxyglucose and positron emission tomography. *J Nucl Med* 1991; 32: 1655-1660.
 36. Koike I, Ohmura M, Hata M, et al. FDG-PET scanning after radiation can predict tumor regrowth three months later. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2003; 57(5): 1231-1238.

Korespondenční adresa:
MUDr. Hana Doleželová
Klinická radiační onkologie
Žlutý kopec 7
656 53 Brno

Došlo / Submitted: 16. 12. 2007
Přijato / Accepted: 16. 1. 2008

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

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zaslané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE „uniform requirements“ for biomedical papers.

CARCINOMA MAMMAE V PUERPERIU

BREAST CANCER IN PUERPERIUM

SVITEKOVÁ M., MINÁŘ L., PAČOVSKÝ Z.

GYNEKOLOGICKO – PORODNICKÁ KLINIKA LÉKAŘSKÉ FAKULTY MASARYKOVY UNIVERZITY,
FAKULTNÍ NEMOCNICE BRNO

Souhrn

Cíl: Autoři analyzují případ výskytu karcinomu prsu v těhotenství a šestinedělí. **Kazuistika:** Jedná se 29-letou pacientku bez rodinné a osobní zátěže, u které byla v 30. týdnu gravidity pozorována hmatná rezistence v oblasti zevního horního kvadrantu pravého prsu připisována hormonálním změnám v těhotenství. Třetí poporodní den, vzhledem k přetrvávající mastodynii, výraznému edému kůže v popisované oblasti a rezistenci neodpovídající typickému nálezu v období laktace, bylo provedeno ultrazvukové vyšetření mammy. Následně provedena core-cut biopsie s histologickým nálezem invazivního ductálního karcinomu, grading 3, realizován staging: T4b N2 M1(játra). Vzhledem k vysokému stupni onemocnění primární chirurgická léčba (modifikovaná radikální mastektomie) nebyla indikována. Na doporučení mamární komise zavedena neoadjuvantní chemoterapie a poté radioterapie. Při kontrolním PET vyšetření, které bylo realizováno po chemoterapii, byl nalezen pouze reziduální tumor v oblasti postiženého prsu, oblast jater byla bez viabilních tumorózních buněk. Po následující radioterapii došlo k regresi i zbývající části primárního ložiska. Při kontrolním vyšetření po třech měsících byl stav uzavřen jako relaps onemocnění. Nyní, 14 měsíců po porodu, je indikována paliativní chemoterapie, která bude zahájena v nejbližším období. **Závěr:** Z analýzy vyplývá, že i u těhotných žen je nutné kromě rutinních vyšetření věnovat pozornost změnám na prsou a při diagnostických rozpacích využít pomocných vyšetřovacích metod.

Klíčová slova: karcinom prsu, prenatalní poradna, šestinedělí.

Summary

Aim: This case study reports an occurrence of a mammary gland carcinoma in woman during her pregnancy and puerperium. **Case report:** Patient was 29 years old woman, without any familiar or personal history of cancer or cancer risk factors. There was a finding of palpable resistance in the lateral superior quadrant of right breast in 30 week of gestation, which was considered to be hormonal changes in pregnancy. The third day after delivery a breast ultrasonography was performed because of persisting mastodynia, moderate oedema in described area and resistance nonresponding to the typical finding in period of incipient lactation. The result was suspicious of tumor. The core cut biopsy revealed invasive ductal carcinoma grade 3 and the staging was determined as T4b N2 M1(liver). Because of the high clinical stage of the disease, primary surgical therapy (modified radical mastectomy) was not indicated and the patient underwent neoadjuvant chemotherapy followed by radiotherapy. There was a control PET scan after the chemotherapy which confirmed only residual tumor in the area of affected breast and no viable tumor cells in the area of the liver. Additional reduction of the primary tumor lesion occurred after the radiotherapy. The control examination 3 months after the treatment found the statement of the relapse of disease. At the present time, 14 months after the delivery, the palliative chemotherapy is planned. **Conclusion:** Obstetricians should take care not only for routine examinations of pregnant women, but also of the breast changes and when there are uncertain, they must use appropriate diagnostic methods.

Keywords: breast cancer, antenatal diagnosis, puerperium.

Úvod

Karcinom prsu je nejčastější malignitou u žen, čtvrtina případů tohoto onemocnění je diagnostikována před menopauzou. Od června roku 1995, kdy byl na našem pracovišti zahájen senologický program, do dubna 2007 bylo u nás léčeno pro karcinom prsu celkem 874 žen. Tento nádor je nejfrekventovanějším nádorem u těhotných žen, s prevalencí 1-3 případy na 10 000 těhotenství, což představuje 3 % všech diagnostikovaných případů. Nicméně neexistují důkazy, že těhotenství je zodpovědné za jeho vznik nebo progresi. Riziko vzniku karcinomu prsu je však zvýšené u nulipar a u žen s pozdní první graviditou. Přechnodné zvýšení rizika výskytu karcinomů je v průběhu 3-4 let po porodu. Je prokázáno, že kojení má buď protektivní nebo neutrální vliv na vznik onemocnění [5].

Vzhledem k hormonálně podmíněným změnám odehrávajícím se na úrovni prsů je diagnostika tumoru prsu u tě-

hotných a kojících žen velice obtížná. Právě proto jsou karcinomy prsu u žen v průběhu těhotenství z větší části zachyceny až v pokročilém stádiu onemocnění (větší tumory, metastázy v lymfatických uzlinách). V období laktace se karcinom prsu může projevit klasickými symptomy (rezistence v prsu, mastodynie, retrakce bradavky, patologická sekrece, exantém, peau d'orange, zduření spádových lymfatických uzlin v axile). Někdy jsou přítomny příznaky imitující obstrukci mlékovodu bez reakce na konzervativní postup do 72 hodin. Podezřelý z tumoru je nález recidivující mastitidy v stejné lokalitě neodpovídající na antibiotickou terapii. Odmítnání postiženého prsu novorozencem může být subtilní údaj vedoucí k odhalení maligní léze. Až 90 % karcinomů prsů v těhotenství a období kojení je detekovaných při samovyšetření prsů [4]. Při vyslovení podezření na přítomnost maligního onemocnění prsu se doporučuje provést další diagnostiku pomocnými

vyšetřovacími metodami – mamografie, která není kontraindikována v těhotenství a u kojících žen, ultrazukové vyšetření prsou, axil a abdomenu. Avšak vzhledem k relativnímu zvýšení denzity vody a hyperplastickým změnám probíhajícím na úrovni mléčné žlázy v těhotenství a v období šestinedělí je při mamografickém vyšetření až 37 % výsledků falešně negativních. Přesto se mamografie nepovažuje ani za méně specifickou ani za méně citlivou v tomto období ženy. Definitivní diagnózu potvrdí až bioptické vyšetření s došetřením steroidních receptorů FISH metodou, které rovněž není kontraindikováno v těhotenství a v laktaci. Když je u kojící ženy diagnostikován karcinom prsu, je nutné bez prodlení zahájit zástavu laktace a adekvátní terapii. Základní terapii zůstává modifikovaná radikální mastektomie. Cytostatická léčba může být podána v druhém a třetím trimestru gravidity, ale je kontraindikována při kojení, protože tyto látky v malém množství pronikají do mateřského mléka a mohou být toxické pro novorozence. Radioterapii je možné v těhotenství podstoupit, není kontraindikována, předpokládá se, že při malé expozici není vývoj plodu ohrožen (max. celková dávka 46 Gy). Další možností je hormonoterapie, nicméně zatím nejsou k dispozici fakta o pasáži tamoxifenu přes placentární bariéru a do mateřského mléka.

Kazuistika

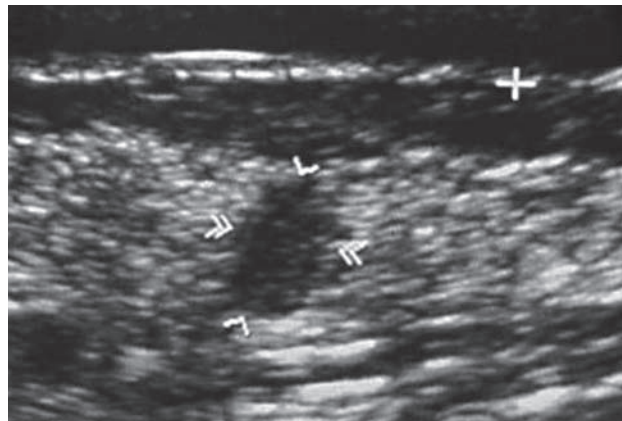
Jednalo se o 29-letou ženu bez rodinné a osobní zátěže, poprvé rodila ve věku 27 let, menarché ve 13 letech. V období diagnostiky byla pacientka 2 roky od prvního spontánního porodu. V průběhu gravidity pacientka pozorovala hmatnou rezistenci v oblasti zevního horního kvadrantu pravého prsu, která byla připisována projevům hormonálních změn v těhotenství. Třetí den po porodu si pacientka stěžovala na unilaterální mastodynii. Ošetřující lékař pozoroval mírný edém kůže v suspektní oblasti a vyklenující se rezistenci neodpovídající typickému nálezu v období incipientní laktace (**obr.1**).



Obrázek 1: Klinický nálezný obrázek třetího poporodního dne

Proto bylo indikováno provedení ultrazukového vyšetření mammy, axily a dutiny břišní. Radiolog popsal bilaterálně mléčnou žlázu v laktaci, vpravo výrazný edém kůže a podkoží prakticky v rozsahu celého prsu, v zevním horním kvadrantu v hloubce nehomogenní area v rozsahu

kolem 50 mm, hypoechogenní s výraznými stíny-ložisko?, v pravé axile drobnější kulovité uzliny 8-9 mm (**obr.2**).



Obrázek 2: Ultrazukový nálezný obrázek třetího poporodního dne

Bylo vysloveno podezření na tumor a na základě ultrazukového vyšetření dutiny břišní i na jaterní metastázy. Následně byla pacientka odeslána do mamární komise, která doporučila core-cut biopsie a došetření Her-2 receptorů FISH metodou. Vzhledem k agresivitě onemocnění byla okamžitě zahájena systémová chemoterapie na bázi antracyklinů a taxanů, zastavena laktace. Histologický nálezný obrázek core-cut biopsie konstatuje přítomnost invazivního duktálního karcinomu, staging T4b N2 M1 (hepar), grade 3, Her-2 negativní. Na základě restagigových vyšetření (UZ a PET) byla konstatována regrese jaterních metastáz – parenchym jater bez viabilních tumorózních buněk, drobné ložisko pravého prsu vykazující nízkou kumulovanou aktivitu, ale mnohem vyšší než okolní parenchym svědčící pro reziduální tumor tvořený viabilními buňkami – částečná odezva na terapii. Radioterapeut doporučil kurativní radioterapii na oblast pravého prsu a svodnou lymfatickou oblast technikou čtyř izocentrických polí s asymetrickými clonami v dávce 50 Gy v 25 frakcích, dále aplikován boost na tumor dávce 20 Gy v 10 frakcích. Pacientka ji absolvovala bez větších potíží. Po ukončení léčby byl objektivně konstatován pouze sytý erytém se suchou deskvamací a tumorová infiltrace v regresi, lymfatické uzliny nehmátelné, druhostranná mamma bez patologického nálezu. Za tři měsíce po skončení radioterapie (14 měsíců po porodu) při kontrolním vyšetření bylo diagnostikováno rozsáhlé postižení obou prsů, mediastina a jater, stav byl uzavřen jako relaps onemocnění. Proto je nyní plánována už jen paliativní chemoterapie v režimu Gemzar/Taxol.

Závěr

Preventivní vyšetření děložního čípku a prsou je předepsanou součástí prenatalní poradny. Podrobné vyšetření prsou v průběhu první návštěvy prenatalní poradny ještě před vznikem hormonálně podmíněných změn může pomoci k časnému odhalení maligního postižení prsu. V těhotenství i v šestinedělí je proto důležité věnovat pozornost změnám na prsou a nepodceňovat anamnestické údaje a subjektivní pocity pacientky. Při jakékoli nejistotě je nutné využít možnosti pomocných vyšetření k potvrzení nebo vyloučení diagnózy carcinoma mammae.

Literatura:

1. Borg A. Semin Cancer Biol, 2001, 11: 375-85.
2. Helewa M. J. Obstet Gynaecol, 2002, 24 (2): 172-180.
3. Chovanec J., Bláha O. Senologický program ve Fakultní porodnici v Brně. Gynekolog, 1997, 6: 34 – 35.
4. Lerebours. Cancérologie gynécologique, 2004, 20: 39-40.
5. London SJ., Colditz GA., Stampfer MJ., et al. Lactation and risk of breast cancer in a cohort of US women. Am J Epidemiol, 1990, 132: 17-26.
6. Philippe H. J. Gynecol Obstet Biol Reprod, 2006, 31: 3S279-294.
7. Senologie.cz [internetová stránka]. Senologická sekce ČGOPS ČLS JEP, Česká republika; c2002-2007 [aktualizováno 12.3.2007; citováno 25.dubna 2007]. Dostupné z: <http://www.senologie.cz>.

Korespondenční adresa:

MUDr. Miroslava Svitekova
Gynekologicko-porodnická klinika FN Brno a LF MU Brno
Obilní trh 11, 602 00 Brno
e-mail: msvitekova@fnbrno.cz

Došlo / Submitted: 5. 10. 2007

Přijato / Accepted: 6. 2. 2008

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

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

Vážení kolegové, milí 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 96 lékařů.*

Setkání se uskuteční ve dnech 13.-15. června 2008

v hotelu Medlov, Fryšava pod Žákovou horou, okres Žďár nad Sázavou.

Pro letošní rok jsme pro prezentace vybrali **karcinom prsu**.

Program je dále doplněn o další aktuální témata a letos poprvé se pokusíme o interaktivní diskusi nad zajímavými případy z klinické praxe.

Účastníkům bude v plné výši uhrazeno ubytování i stravování.

Zájemci o setkání se mohou přihlásit elektronicky pomocí webového formuláře umístěného na internetové stránce www.koc.cz <http://kmo.koc.cz/>.

Přijetí přihlášky Vám bude elektronicky potvrzeno.

Za organizátory

MUDr. Jan Novotný
Onkologická klinika VFN a 1. LF UK
U nemocnice 2, Praha 2, 128 08

MUDr. Tomáš Svoboda
Odd. onkologie a radioterapie FN Plzeň
Doudlevecká 449, Plzeň, 304 60

ZÁVĚRY „WINTER GLIO TRACK MEETING“ 2008

„WINTER GLIO TRACK MEETING“ 2008 OUTCOMES

ŠLAMPA P.¹, SMRČKA M.², BOLJEŠÍKOVÁ E.³, LAKOMÝ R.¹, KRAMÁR F.⁴, PŘIBÁŇ V.⁵, MALINOVÁ B.⁶, ŠTĚRBA J.², PAJDLHAUSER R.⁶

¹MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV A LF MU

²FAKULTNÍ NEMOCNICE BRNO A LF MU

³ONKOLOGICKÝ ÚSTAV SV. ALŽBETY, BRATISLAVA

⁴1. LF UK A ÚVN PRAHA

⁵NEMOCNICE ČESKÉ BUDĚJOVICE

⁶FN PRAHA-MOTOL

Ve dnech 18.-19. ledna letošního roku se ve Znojmě v hotelu Prestige setkalo asi 40 odborníků z České a Slovenské republiky na pracovním semináři, který se zabýval léčbou a následným sledováním pacientů s vysoce maligními gliomy mozku (glioblastom multiforme, astrocytom G3-4). K účasti na workshopu byli vyzváni lékaři z onkologických center, kteří se přímo ve své denní praxi zabývají léčbou těchto onemocnění a následným sledováním pacientů po léčbě. V kolektivu účastníků byli zastoupeni neurochirurgové, radioterapeuti, onkologové (i dětští), neurologové a patologové. Setkání bylo organizačně podpořeno firmou Schering-Plough.

V úvodní přednášce doc. Šlampa zhodnotil současné standardní postupy léčby high-grade gliomů a zdůraznil týmovou spolupráci v řešení těchto onemocnění. Jako příklad uvedl činnost Komise pro nádory CNS v MOÚ (ve složení – neurochirurg, radioterapeut, onkolog, diagnostik a neurolog), která určuje léčebnou strategii pacientů s nádory CNS především po chirurgickém zákroku, u inoperabilních stavů a recidiv. Dále podtrhl význam indikace adjuvantní chemoradioterapie u high-grade gliomů s aplikací temozolomidu, neboť recentní data studií potvrzují signifikantní zlepšení léčebných výsledků u tohoto onemocnění v případech konkomitantní kombinované terapie (*Mirimanoff R et al., I. J. Rad. Oncol., 69, 2007, 3, S2*: V randomizované studii na souboru 573 pacientů léčených v letech 2000-2002 s glioblastomem bylo prokázáno zlepšení léčebných výsledků při adjuvantní aplikaci temozolomidu s radioterapií proti skupině pacientů „jen“ adjuvantně ozařovaných – čtyřleté přežívání 12,9% vs. 3,8%; medián přežívání 14,6 měs. vs. 12,1 měs.)

V dalším sdělení MUDr. Kramář seznámil všechny účastníky s celostátním registrem pacientů s nádorovým onemocněním mozku (Do-IT registr), na jehož databázi se podílejí takřka všechna neurochirurgická a onkologická pracoviště. Data do registru zadávají pouze určení lékaři za jednotlivá centra v republice a závěry z registru lze využít k zhodnocení statistických ukazatelů a nepřímo i jako podklady pro organizaci péče o nemocné s nádory mozku a pro případné změny v léčebných postupech - národních standardech.

Další jednání probíhalo paralelně ve třech skupinách, přičemž v jednotlivých skupinách byly zastoupeny všechny zúčastněné odbornosti. V každé sekci byly prezentovány 2-3 kazuistiky, u nichž byla diskutována terapie z pohledu neurochirurgie, onkologie a radioterapie. Závěrem jednání sekcí byly vždy konkrétní závěry, které lze doporučit do praxe pro lékaře zabývající se léčbou vysoce maligních gliomů.

Z neurochirurgické sekce (vedoucí: doc. M. Smrčka, MUDr. V. Přibáň): Operační léčba zůstává iniciální terapeutickou modalitou léčby gliomů. Chirurgický zákrok je zásadní pro stanovení histologické diagnózy a genetického profilu. Chirurgická cytoredukce je často podmínkou další komplexní léčby. Radikalita výkonu je přímo úměrná délce přežití pacientů s gliomy. Bezpečnost radikální operace je umožněna novými technologiemi – funkční magnetická rezonance (fMR), peroperační elektrofyziologie, navigace, fluorescence a awake kraniotomie, traktografie. Samotný chirurgický zákrok trvale nevyčlení pacienta s high-grade gliomem mozku. Týmová spolupráce s radioterapeuty, onkology a neurology je nutnou podmínkou pro zlepšení výsledků terapie gliomů.

Účastníci v **radioterapeutické sekci** (vedoucí: MUDr. B. Malinová, doc. E. Bolješiková) dlouho diskutovali na téma stanovení cílových objemů po resekcii high-grade gliomu; zda nadále provádět historicky stanovenou shrinking-field techniku zmenšování ozařovaných objemů, tzn. určení plánovacího objemu PTV 1 s větším lemem a po dávce 40 či 50 Gy zmenšení na objem PTV 2 (většina přítomných radioterapeutů se shodla na dávce 50 Gy). Nebo stanovit pro celou dobu radioterapie jen jeden plánovací cílový objem (viz *standards NCCN, verze 1. 2007*, kde je uvedena právě tato možnost jako alternace shrinking-field techniky; lem k nádorovému objemu při jednom PTV je stanoven 3 cm). Standardně v radioterapii gliomů je nutno používat při plánování cílových objemů fúzi MR (T1, T2 Flair)/CT plánovacího vyšetření (T2 Flair je více vhodný pro stanovení rozsahu edému u PTV 1). Není-li fúze k dispozici, je nutné CT plánovací vyšetření s i.v. kontrastem. Standardem musí být také 3D konformní radioterapie nebo IMRT technika. V případech indikace pooperační radioterapie u pacientů s high-grade gliomy je nutno ozařování zahájit co nejdříve, pokud to celkový a lokální stav dovolí (do 4 týdnů od operace). Standardní dávkou záření je 60 Gy, vyšší dávky (70-80 Gy) se v praxi neosvědčily. Limitujícími faktory neurotoxicity radioterapie u mozkových nádorů je ozařovaný objem, věk pacienta (vyšší riziko u pacientů mladších 5 let a starších 60 let) a také konkomitantní podání cytostatik. Na základě výsledků randomizovaných studií je zcela zřejmý význam kombinované konkomitantní chemoradioterapie (temozolomid a radioterapie, 60 Gy) s adjuvantní aplikací temozolomidu po ukončení konkomitantní chemoradioterapie u pacientů po resekcii glioblastomu. Otázka reiradiace recidiv je značně individuální.

Onkoneurologická sekce (vedoucí: MUDr. R. Lakomý, MUDr. R. Pajdlhauser) řešila otázky především systémové terapie ve vztahu k chirurgické a radioterapeutické léčbě. Jednou z diskutovaných otázek bylo zvýšení počtu

adjuvantních sérií temozolomidu (více než 6 standardně užívaných sérií na celkových 12 sérií). Při aplikaci temozolomidu je vhodné profylakticky podávat antimikrobiální chemoterapeutikum (sulfamethoxazolium). Výhledově bude nutné zařazování nových postupů aplikace temozolomidu: dose-dense režimy, metronomické podávání temozolomidu, překonání aktivity MGMT (methyl-guanin-metyl-transferáza). Zvýšenou nadějí k trvalému vyléčení gliomů bude možné po implementaci výsledků základního výzkumu na poli genetiky, imunoterapie, molekulární biologie aj. V adjuvantní léčbě a při stanovení léčebné

strategie recidivujících gliomů je nutná týmová spolupráce. Pravidelné dispenzární vyšetření jsou nutné k záchytu časných recidiv

Setkání bylo organizováno Klinikou radiační onkologie Masarykova onkologického ústavu a LF Masarykovy univerzity; odbornou záštitu nad seminářem převzala Česká onkologická společnost a Společnost radiační onkologie, biologie a fyziky. Všichni účastníci kladně hodnotili odbornou úroveň diskuzí a vysoce ocenili výměnu praktických zkušeností. V závěrečné diskuzi se také shodli na vhodném pravidelném pořádání obdobných setkání.

aktuality v onkologii

KARCINOIDY V POPULACI ČESKÉ REPUBLIKY

NOVÁK J., ŠACHLOVÁ M., ET AL.

MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV, BRNO

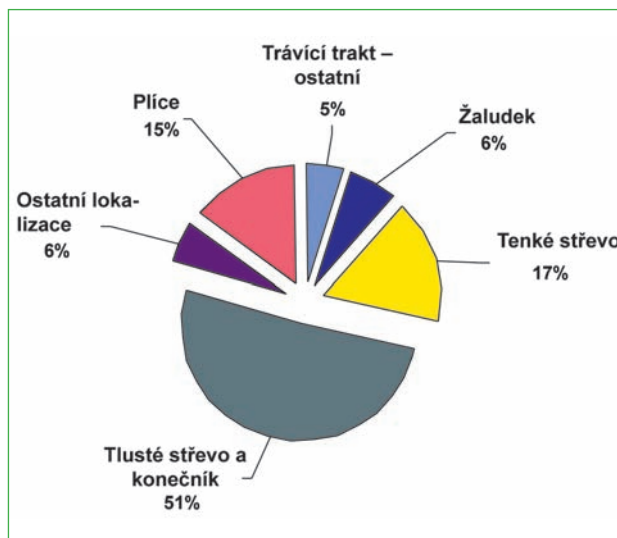
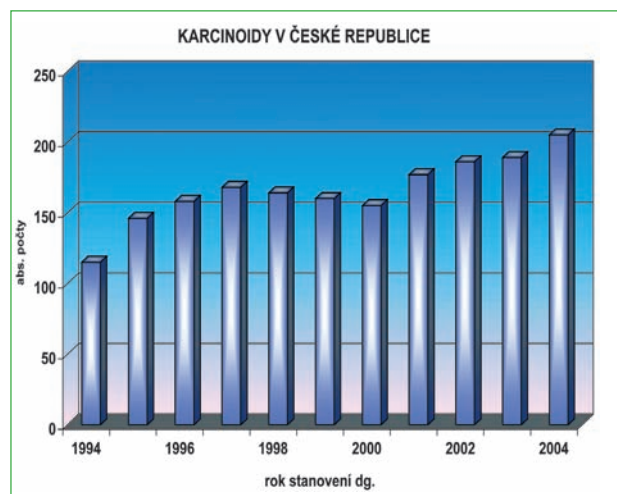
Karcinoidy představují častý typ ze skupiny tzv. neuroendokrinních tumorů (NET). Jedná se o heterogenní skupinu s charakteristickými morfoloogickými a imunohistochemickými vlastnostmi. Jejich původ se odvozuje z neuroendokrinních buněk, které se nacházejí v různých anatomických lokalizacích. Karcinoidy mohou proto vzniknout v řadě nejrůznějších orgánů. Nejčastějším místem vzniku karcinoidu bývá gastrointestinální a respirační trakt. V různých primárních lokalizacích mívají karcinoidy odlišné převažující biologické chování, různý stupeň endokrinní aktivity a rozdílné spektrum produkovaných hormonálních látek. Karcinoidy mohou být součástí syndromu mnohočetných endokrinních neoplázií (MEN).

Incidence karcinoidů v populaci je vesměs velmi nízká. Podle studií ze skandinávských zemí se věkově standardizovaná incidence (svět. standard) karcinoidů pohybuje mezi cca 1-2/100000 obyvatel [1,2]. Údaje z jiných zemí uvádějí hodnoty i nižší, srovnatelnost dat je však s ohledem na klasifikační nejednotností NET značně problematická.

Údaje o karcinoidech v populaci České republiky byly publikovány již dříve [3]. Novější, zde prezentovaná data, byla získána z Národního onkologického registru (NOR) České republiky [4]. Byly zpracovány záznamy o onemocněných diagnostikovaných v období 1994 až 2004, s morfoloogií karcinoidu (Mezinárodní klasifikace nemocí pro onkologii - kódy M-8240 – M-8245 a M-9091) a biologickým chováním nádoru nejisté povahy nebo maligním (kód chování /1, resp. /3).

Počet ročně nově evidovaných karcinoidů se za posledních 10 let zvýšil z cca 150 na více než 200 případů (graf č. 1). V tomto období byl karcinoid diagnostikován celkem u 1823 pacientů, z čehož mírně převažují ženy. U daného souboru pacientů byly v 83% primárně postiženými orgány tlusté střevo (zejména appendix) a konečník, ten-

ké střevo a plíce. Přehled primární lokalizace karcinoidů ukazuje graf č. 2. Žijících pacientů, u nichž byl karcinoid diagnostikován v kterémkoliv roce existence NOR, bylo v době analýzy evidováno 1984.



Karcinoidy, podléjící se v ČR na všech zhoubných nádorových onemocněních cca 0,3%, tvoří spolu s ostatními NET velmi malou, pestrou a z pohledu diagnosticko-léčebné péče výrazně specifickou skupinu zhoubných nádorů.

NET se stávají předmětem zájmu specializovaných interdisciplinárních odborných týmů. V rámci EU byla ustanovena European Neuroendocrine Tumor Society (ENETS). Specifické informace o NET, týkající se např. hormonální aktivity nádorů, karcinoidového syndromu, apod., které není reálné shromážďovat v rámci populačního onkologického registru, jsou v několika evropských zemích předá-

vány do účelového založeného registru neuroendokrinních tumorů.

Literatura:

1. Hemminki, K., Li, X. Incidence trends and risk factors of carcinoid. *Cancer*, 2001, vol. 92, no. 8, p. 2204-2210.
2. Westergaard, T., Frisch, M., Melbye, M. Carcinoid tumors in Denmark 1978-1989 and their risk of subsequent cancers: a population-based study. *Cancer*, 1995, vol. 76, no. 1, p. 106-109.
3. Barkamová J., Epidemiologie karcinoidů. In Petruželka, L. (red.) *Karcinoid*. Praha: Maxdorf, 2004, s. 3-6.
4. Databáze Národního onkologického registru České republiky, stav k 30. 6. 2007.

onkologické společnosti

ZÁPIS ZE SCHŮZE VÝBORU ČESKÉ ONKOLOGICKÉ SPOLEČNOSTI DNE 12. ÚNORA 2008 V ORTO FN PLZEŇ

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

Omluveni: Bartoš, Feltl, Cwiertka

1. Předseda ČOS přivítal účastníky a předal slovo ředitelce FN v Plzni Ing. Jaroslavě Kunové, která seznámila přítomné s problematikou úhrad nákladné péče z pohledu Asociace nemocnic.
2. Následně přivítal přítomné hostitel doc. Fínek.
3. Prof. Vorlíček provedl kontrolu zápisu.
4. Prof. Žaloudík referoval o vývoji situace kolem změn v systému specializačních atestací. V polovině ledna 2008 se pod vedením Dr. Ratha sešel Zdravotní výbor sněmovny. Další jednání bude 27. 2. 2008. Do postgraduálního vzdělávání jsou zařazeny z onkologických oborů základní obory (interní) klinická onkologie, dětská onkologie, radiační onkologie.
5. Prof. Abrahámová referuje: 7 milionů Kč určených pro NOR za rok 2007 nebylo distribuováno pracovištím NOR, neboť zatím nebyl nalezen mechanismus pro jejich rozdělení. Dle MUDr. Pánové, ředitelky Odboru zdravotních služeb MZ ČR, se jedná se o zdlouhavý proces, který bude od této doby ještě trvat minimálně 2 měsíce. Výbor je touto situací krajně pobouřen a bude své stanovisko k této neudržitelné situaci publikovat přes ČTK.
6. Prof. Petruželka informuje o spolupráci ČOS s mezinárodními organizacemi.
7. Jsou vyhlášeny Ceny předsednictva ČLS JEP a vědecké práce.

Vyhlášené kategorie: Původní vědecká práce a práce významným způsobem ovlivňující zdravotní péči.

Prof. Žaloudík navrhuje výboru ČOS jako knihu významným způsobem ovlivňující zdravotní péči knihu *Radiační onkologie* autorů Šlampa, Petera a spol. Výbor souhlasí.

8. Doc. Fínek referuje o konferenci EU The Burden of Cancer., konané ve Slovinsku. Přes opakované sliby nebyla situace s poskytnutím mylných dat Evropské unii řešena- ÚZIS šíří nepravdivé informace a zaslala je do EURO CARE - 4. Česká republika je tedy popsána jako země bez plošného Národního onkologického registru pouze s 8 % pacientů pochycených onkologickými hlášeními.
9. Účast a publikační možnost v Knižním a elektronickém repertoriu nabídla výboru ČOS ČLS JEP (prof. Blahoš). Výbor souhlasí.
10. Léčba a diagnostika karcinomu plic bude doporučena těm KOC, která spolupracují při stanovení diagnózy, stagingu a restagingu s odděleními TRN a mají lůžkové zázemí oboru TRN. Výbor ČOS vzal na vědomí souhlas ČPFS s jednáním, které proběhlo 11.1.2008 mezi zástupci ČOS a ČPFS a jehož závěrem je, že nejsložitější a nejnákladnější léčba karcinomu plic, která představuje 10% - 15% veškeré léčby karcinomu plic, bude doporučena pouze těm KOC, kde je pneumolog s atestací (v budoucnu s licenci) z klinické onkologie, kde je lůžkové zázemí oboru TRN, okamžitá dostupnost intenzivní péče a 24-hodinová přítomnost pneumologa (řešení komplikací), kde je pracoviště intervenční bronchologie se zázemím hrudní chirurgie a kde je komplexní diagnostické zázemí k přesnému stanovení diagnózy a výhledově i ke stanovení prediktivních faktorů. Výbor ČOS doplnil, že to lůžkové odd. TRN, které se bude podílet na léčbě karcinomu plic, musí být součástí KOC.
11. Prof. Petruželka bude na příštím výboru referovat o plánu na výukový program pro zaměstnance farmaceutických firem (zařizuje Mgr. Vonková).

onkologické společnosti

12. Prof. Vorlíček referoval o zahájení vyjednávání s firmou Tesco Stores o podpoře onkologické společnosti a onkologických grantových programů. Výbor souhlasí a podporuje.
13. Předseda ČOS prof. Vorlíček také řešil otázku prezentace KOC/KOS a případně dalších zdravotnických zařízení na webových stránkách www.linkos.cz a www.onconet.cz. Občas se objevují signály, že některé údaje nejsou zcela aktuální nebo dokonce chybí prezentace celého oddělení nebo zařízení. Závěr je jednoznačný, k nespokojenosti není důvod, je ale nutné nové údaje aktualizovat a hlásit. Personální zázemí obou prezentací je dostatečné a připravené reagovat na výzvy z center i z terénu. S doplňujícími informacemi, aktualizacemi nebo změnami je třeba se obracet na mail onconet@iba.muni.cz, podněty budou řešeny ihned. Správci obou portálů se vzájemně informují, takže ke změnám dojde na všech potřebných místech. V případě kdy požadované změny nenavrhuje vedoucí daného KOC/KOS, budou s ním před vyvěšením všechny návrhy konzultovány.
14. Závěrečné zprávy výsledků projektů z nadačních peněz Běhu Terryho Foxe doporučuje Výbor ČOS publikovat v Klinické onkologii.
15. Do nového vydání *Zásad cytostatické léčby* (Modrá kniha) výbor ČOS doporučuje zařadit nově léčebná doporučení pro terapii bisfosfonáty. Navržení autoři Adam, Abrahámová, Mechl.
16. Výbor přebírá záštitu ČOS: Onkologický filmový festival, zajišťuje firma Amgen, Den Hospicové péče v Prachaticích.
17. Noví členové přijatí do ČOS: Tošková Martina, FN Brno.
18. Prim. Jelínková a prim. Aschermannová referují o návrhu stanovení minimálního věcného a technického vybavení pracovišť mimo KOC, bude odeslána na MZ ČR Dr. Hřebíčkové. Provoz onkologické ambulance má splňovat v zásadě kritéria provozu interní ambulance, specifickou záležitostí je zajištění cytostatické léčby, která by měla splňovat všechny zákonné normy.
19. Prof. Žaloudík - diskutoval o prostředcích ze strukturálních fondů EU. Obecný seznam požadovaných věcí tak, jak je vytvořily KOC bude zaslán členům výboru ČOS – jedná se o základní standard pro KOC. Další jednání proběhne v nejbližší době na MZ ČR, zúčastní se prof. Petera a prof. Vorlíček.
20. Prim. Aschermannová referuje o celodenním zasedání Ligy proti rakovině, podpoře preventivních programů.
21. Prof. Abrahámová upozorňuje, že léky, které jsou určeny pro aplikaci v centrech (mimo paušál) indukují další léčbu, která není centrem hrazena.
22. Prof. Žaloudík navrhuje pozvat na příští Výbor europoslance Cabrnocha a informovat jej o aktivitách ČOS.
23. Prof. Žaloudík navrhuje, aby členové Výboru byli eurokreativní.
24. Příští výbor ČOS se koná v Praze v Thomayerově nemocnici dne 18. 3. 2008.

Zapsal: doc. MUDr. Jindřich Fínek, PhD.

ZÁPIS ZE SCHŮZE VÝBORU ČESKÉ ONKOLOGICKÉ SPOLEČNOSTI DNE 18. BŘEZNA 2008 NA ONKOLOGICKÉM ODDĚLENÍ FTN, PRAHA 4

Přítomni: Vorlíček, Petruželka, Aschermannová, Příbylová, Jelínková, Fínek, Stáhalová, Vyzula, Abrahámová, Petera, Bartoš, Felzl, Cwiertka

Omluveni: Žaloudík

Host: MUDr. M. Cabrnoch, poslanec Evropského parlamentu, MUDr. D. Molendová, poslankyně Poslanecké sněmovny Parlamentu ČR

1. Předseda výboru ČOS prof. Vorlíček přivítal účastníky a předal slovo řediteli FTN MUDr. Karlu Filipovi, který seznámil výbor ČOS s plány rozvoje FTN. Hostitelka prof. Abrahámová přivítala účastníky. Prof. Vorlíček provedl kontrolu zápisu z minulé schůze.

2. Prof. Vyzula se vrací k bodu 10 zápisu z minulého výboru ČOS a navrhuje znovu otevřít problematiku léčby plicních nádorů. Výbor ČOS konstatuje, že veškerou nákladnou léčbu plicních nádorů je třeba centralizovat do Komplexních onkologických center. Ostatní pracoviště jsou mimo systém.

3. Prostředky na pokrytí nákladů pracovišť NOR za rok 2007 a 2008 byly převedeny na účty ředitelství nemocnic, výše částky představovala 66,6% částky požadované.

4. Výuka pracovníků farmaceutických firem v onkologické problematice: je vytvořen sylabus obsahující základy onkologie. Prof. Petruželka sylabus rozešle všem členům.

5. Výbor ČOS se pochvalně vyjadřuje nad kvalitou zpracování onkologického tématu v časopisu Postgraduální medicína - koordinátor prim. Cwiertka.

onkologické společnosti

6. Jednání s TESCO STORES o podpoře onkologických programů pokračuje - prof. Vorlíček.
7. Probíhá příprava kapitoly do Doporučených postupů (Modrá kniha) - doporučení pro léčbu bisfosfonáty.
8. Prof. Vyzula - Výzkumné záměry - realizované projekty mají projít schválením odborné společnosti, prof. Vyzula rozešle zprávu z výzkumného záměru MOÚ členům výboru ČOS.
9. Prof. Vyzula informuje o záměru uznat registr nemocných s hepatocelulárním ca.
10. Prim. Stáhalová navrhuje registry decentralizovat a vést je na pracovištích. Jednání se pro časovou tíseň odsouvá na další výbor.
11. Poslanec MUDr. M. Cabrnch informuje výbor ČOS o prioritách MZ ČR pro předsednictví v EU. Onkologie sama o sobě prioritou není. Probíhá diskuze. Výbor ČOS doporučuje vytvoření informační brožury o stavu a potřebách české onkologie pro předsednictví České republiky Evropské unii. Schváleno.
12. Prof. Vorlíček: Publikace vzniklé z podpory Nadace Terryho Foxe byly publikovány v Klinické onkologii.
13. Nabídka na získávání platiny z moči pacientů. Výbor ČOS nevidí možnou realizaci projektu.
14. Výbor ČOS bere na vědomí existenci brožury Výživa při nádorovém onemocnění.
15. Projekt CRAB - včasná diagnostika myelomu. Výbor ČOS podporuje.
16. Laboratoře náročné diagnostiky. Výbor ČOS má zájem o jednotné metodiky vyšetření a navrhuje certifikované laboratoře s jednotnou a deklarovanou metodikou. ČOS očekává, že taková laboratoř bude k dispozici každému KOC. Referenční laboratoř určí Společnost patologů.
17. Prim. Kohoutek informuje, že není k dispozici bleocina. Doprodávají se zásoby, ČOS žádá zajištění dodávek tohoto významného preparátu.
18. Prof. Vorlíček prezentuje pozvánku na polskou Onkologickou olympiádu.
19. ČOS podporuje rozvoj domácí hospicové péče jako formu specializované paliativní péče.
20. Záštitu ČOS: Česká společnost HPB chirurgie - XVII. Jarní zasedání České společnosti HPB chirurgie zhoubného onemocnění jícnu a žaludku. Loket, prof. Ryska.
21. Záštitu ČOS: konference Onkologie problém náš všech, téma kolorektální karcinom, Liberec, 25. - 26. 9. 2008, prim. Bartoš, doc. Fínek.
22. Výbor ČOS vypisuje Cenu České onkologické společnosti za nejlepší publikaci s onkologickou tematikou.
23. Noví členové: Radek Chvátal MOU, Jaroslav Svoboda, Praha, Vlastislav Šrámek, Olomouc, Vladimír Vonka, Praha.
24. Prim. Aschermannová referuje o připravovaném návrhu vyhlášky o požadavcích na technické a věcné vybavení zdravotnických zařízení a personální zabezpečení zdravotních služeb. Je v kontaktu na MZ ČR s Mgr. M. Hřebíkovou je s ní domluveno, že do akutní lůžkové péče onkologie se omylem dostala radiační technika, která bude odstraněna. Dále je třeba navrhnout PVT pro onkologický stacionář. Navrhuje, aby technické a věcné vybavení bylo obdobné jako vybavení ke standardní lůžkové péči. Personální zabezpečení ještě prodiskutuje s MZ ČR a zašle členům výboru ČOS.
25. Prof. Vyzula: Časopis klinická onkologie – sekretáři redakce Ing. Boušovi je 82 let, nemůže se již v rámci MOÚ o vydávání starat. Výbor ČOS podporuje zachovat současný design časopisu i jeho obsah, doporučuje vytipovat nového sekretáře redakce. Výzva bude vyvěšena na www.linkos
26. Na příští schůzi výboru ČOS bude diskutován návrh na Seznam přístrojového vybavení onkologických pracovišť hrazený z fondů Evropské unie.
27. prim. Bartoš: centrální ředění cytostatik - je přijat lékárnický kód pro centrální ředění cytostatik na základě Dodatku ke Smlouvě, je třeba o tento Dodatek požádat.
28. Výbor ČOS se seznámil s produkty Výzkumného záměru řešeného na MOÚ v letech 2005-2007 a pokládá je za relevantní k použití v onkologické diagnostice na vybavených pracovištích (viz příloha).