

VYDÁVÁ
ČESKÁ LÉKAŘSKÁ
SPOLEČNOST J. E. PURKYNĚ
IČO 444359

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

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

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

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

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

Expedici na základě roční objednávky
vyřizuje redakce

Ministerstvo kultury ČR
MK ČR 5158
ISSN 0862-495 X

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

INDEXED IN EXCERPTA MEDICA

ČASOPIS ČESKÉ ONKOLOGICKÉ SPOLEČNOSTI
A SLOVENSKEJ ONKOLOGICKEJ SPOLOČNOSTI

THE JOURNAL OF THE CZECH AND SLOVAK
ONCOLOGICAL SOCIETIES

VEDOUcí REDAKTOR: REJTHAR ALEŠ

ZÁSTUPCE VEDOUcíHO
REDAKTORA: KOZA IVAN
VÝKONNÝ REDAKTOR: FAIT VUK

REDAKTOŘI:

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

REDAKČNÍ RADA:

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

Přehled	
Tichý Mj., Tichý M., Brychtová S. Nové diagnostické, prognostické a terapeutické aspekty primárních kožních lymfomů	245
Křížová H., Wald M., Barkmanová J. Lymfoscintigrafie u pacientek s nekončetinovým lymfedémem po disekci axily a radioterapii	252
Původní práce	
Švébišová H., Cwiertka K., Černá M., Kocher M., Neoral Č., Havlík R., Heřman M. Transkatetrová chemoembolizace v léčbě metastatického postižení jater zhoubným nádorem (kromě metastáz kolorektálního karcinomu)	255
Dudová S., Horák R., Kovářová L., Horváth R., Hájek R., Michálek J. Identifikace individuálních autologních klonů myelom- reaktivních T lymfocytů	260
Fridrichová M., Veselá M., Loučka M., Vítek P. Retrospektivní analýza terapie lokálně pokročilých ca rekta v ÚRO v posledních 6 letech	265
Balcárková P., Hrstková H., Elbl L., Nováková Z., Závodná E., Honzíkova N., Fišer B. Krevní tlak a funkce levé komory srdeční u pacientů léčených antracyklíny	270
Melter J., Pazdrová G., Janků F., Kleibl Z., Novotný J., Petruželka L. Analýza mutace [657del(5)] v exonu 6 genu NBS-1 u 472 pacientek se sporadickým karcinomem prsu v České republice	274
Sdělení	
Jurga L., Malý M. Léčba hormonálně nezávislého karcinomu prostaty	277
Zprávy	
Horváth T. Pohyb v onkologické pneumochirurgii: lymfadenektomie & adjuvance	279
Informace	
Vzpomínka na profesora Jaroslava Švejdu	282
Joukalová Z. Prevence jako nejsilnější zbraň v boji proti onkologickým onemocněním	284

CONTENTS

Reviews	
Tichý Mj., Tichý M., Brychtová S. New diagnostic, prognostic and therapeutic aspects of primary cutaneous lymphomas	245
Křížová H., Wald M., Barkmanová J. Lymphoscintigraphy in patients with non-extremity lymphedema following axilla dissection and radiotherapy	252
Original publications	
Švébišová H., Cwiertka K., Černá M., Kocher M., Neoral Č., Havlík R., Heřman M. Chemoembolization of liver metastases (other than of colorectal carcinoma)	255
Dudová S., Horák R., Kovářová L., Horváth R., Hájek R., Michálek J. Identification of individual autologous clones of myeloma- reactive T lymphocytes	260
Fridrichová M., Veselá M., Loučka M., Vítek P. Retrospective analysis of locally advanced rectal carcinoma treatment at the Institute of Radiation Oncology in the last six years	265
Balcárková P., Hrstková H., Elbl L., Nováková Z., Závodná E., Honzíkova N., Fišer B. Blood pressure and left ventricle function in patients treated with anthracyclines	270
Melter J., Pazdrová G., Janků F., Kleibl Z., Novotný J., Petruželka L. The analysis of NBS-1 gene mutation [657del(5)] in exon 6 in the population of 472 sporadic breast cancer patients in the Czech Republic	274
Communications	
Jurga L., Malý M. Treatment of hormone independent prostate carcinoma	277
Report	
Horváth T. Change in oncological lung surgery: lymphadenectomy and adjuvant treatment	279
Information	
Remembering Professor Jaroslav Švejda	282
Joukalová Z.	284

NOVÉ DIAGNOSTICKÉ, PROGNOSTICKÉ A TERAPEUTICKÉ ASPEKTY PRIMÁRNÍCH KOŽNÍCH LYMFOMŮ

NEW DIAGNOSTIC, PROGNOSTIC AND THERAPEUTIC ASPECTS OF PRIMARY CUTANEOUS LYMPHOMAS

TICHÝ Mj.¹, TICHÝ M.², BRYCHTOVÁ S.²

¹KLINIKA CHOROB KOŽNÍCH A POHLAVNÍCH LF UP A FN OLOMOUC

² ÚSTAV PATOLOGIE LF UP A FN OLOMOUC

Souhrn

Primární kožní lymfomy představují heterogenní skupinu lymfomů z T a B buněk, které se na rozdíl od identických uzlinových protějšků vyznačují zpravidla výrazně lepší prognózou a z toho důvodu vyžadují i aplikaci rozdílných, většinou méně agresivních terapeutických postupů. Diagnostické, prognostické a terapeutické aspekty primárních lymfomů kůže dnes nejlépe definuje WHO-EORTC klasifikace. I tento klasifikační systém se stejně jako předchozí bude dále vyvíjet na základě dynamického rozvoje metod molekulární genetiky a výzkumu nových genových alterací a exprese proteinů, což výsledně umožní další zdokonalení terapeutických schémat pro jednotlivé subtypy kožních lymfomů.

Klíčová slova: Primární kožní lymfomy - kožní T-lymfomy - kožní B-lymfomy - WHO- EORTC klasifikace

Summary

Primary cutaneous lymphomas (CL) represent a heterogeneous group of T-cell and B-cell lymphomas with mostly different clinical behavior and considerably better prognosis than their nodal lymphoma counterparts. Accordingly, different, usually less aggressive methods of treatment are recommended for CL. Diagnostic, prognostic and therapeutic aspects of primary cutaneous lymphomas are best defined in the WHO-EORTC classification. We can await another development of this classification scheme following dynamic improvement of molecular genetics methods and investigation of novel genetic alterations and protein expression. This should result in more refined therapeutic schemes for individual subtypes of CL.

Key words: Primary cutaneous lymphomas - Cutaneous T-cell lymphomas (CTCL) - Cutaneous B-cell lymphomas (CBCL) - WHO-EORTC classification

Úvod

Jako primární kožní lymfomy jsou definovány všechny T a B lymfomy, které se v době diagnózy manifestují pouze v kůži (1). Kožní lymfomy (CL - Cutaneous Lymphomas) jsou po maligních lymfomech gastrointestinálního traktu druhým nejčastějším místem výskytu extranodálních non-Hodgkinských lymfomů. Jejich roční incidence je uváděna 1: 100 000.

Klasifikace maligních lymfomů prošly mnohaletým vývojem (2). Přibližně v posledním desetiletí se soustředila pozornost na vypracování samostatné klasifikace pro primární lymfomy kůže. Důvodem pro tyto aktivity bylo zjištění, že CL mají zcela odlišné biologické vlastnosti a prognózu než jejich morfologicky identické uzlinové protějšky. Menší agresivita CL tedy vyžadovala i vypracování odlišných, méně razantních terapeutických schémat.

Výsledkem intenzivního výzkumu CL bylo vypracování EORTC klasifikace (European Organization for Research and Treatment of Cancer), která do jisté míry splňovala požadovaná kritéria (3). Současně s EORTC klasifikací však bylo až

doposud pro CL používáno i WHO (World Health Organization) klasifikační schéma (4). I když mezi oběma klasifikačními systémy byla shoda v pohledu na většinu typů kožních lymfomů z T buněk, kontraverzní pohledy na některé typy kožních lymfomů z B buněk vedly k mnoha nejasnostem.

Během let 2003 a 2004 v Lyonu a Curychu na jednáních pracovní skupiny pro CL byl mezi zastánci obou klasifikačních schémat nalezen konsenzus, jehož výsledkem se stala aktualizovaná klasifikace primárních kožních lymfomů, tzv. WHO-EORTC klasifikace (**Tab. 1**).

Primární kožní lymfomy z T buněk (CTCL- Cutaneous T-cell Lymphomas)

Mycosis fungoides (MF)

Jedná se o nejčastější formu CTCL, tvořící více než 50% všech primárních lymfomů kůže. MF je obvykle epidermotropní lymfom, postihující nejčastěji pacienty ve věku 50-60 let v přibližně stejném poměru pohlaví, vzácně je pozorován u dětí a dospívajících.

Termínem MF by měl být označován pouze klasický tzv. „Alibert-Bazinův“ typ onemocnění, vyznačující se pozvolným průběhem s postupným přechodem iniciálních ekzematoidních projevů do infiltrovaných až tumorózních lézí. Při izolovaném výskytu tumorózních lézí bez předchozích vývojových stádií je diagnóza MF vysoce nepravděpodobná a je nutno uvažovat o jiné variantě CTCL.

Tab.1 WHO-EORTC klasifikace primárních lymfomů kůže (Blood)

<i>Kožní lymfomy z T buněk (CTCL - cutaneous T-cell lymphoma)</i>	
<i>a NK buněk (natural killer)</i>	
Mycosis fungoides	
Subtypy mycosis fungoides	
	Folikulotropní mycosis fungoides
	Pagetoidní retikulóza
	Granulomatous slack skin
Sézaryho syndrom	
Leukémie/lymfom dospělých z T buněk	
Primární kožní CD 30+ lymfoproliferativní onemocnění	
	Primární kožní anaplastický velkobuněčný lymfom
	Lymfomatoidní papulóza
Podkožní „panniculitis-like“ T buněčný lymfom	
Extranodální NK/T buněčný lymfom, nazální typ	
Primární kožní periferní T buněčný lymfom, nespecifikovaný	
	Primární kožní agresivní epidermotropní T buněčný CD8+ lymfom (provizorní)
	Kožní gamma/delta T buněčný lymfom (provizorní)
	Primární kožní pleomorfní CD4+ lymfom z malých a středně velkých T buněk
	(provizorní)
<i>Kožní lymfomy z B buněk (CBCL - cutaneous B-cell lymphoma)</i>	
Primární kožní B lymfom z buněk marginální zóny	
Primární kožní lymfom z buněk folikulárních center	
Primární kožní difúzní velkobuněčný B lymfom, varianta na dolních končetinách	
Primární kožní difúzní velkobuněčný B lymfom, ostatní	
	Intravaskulární velkobuněčný B lymfom
<i>Prekurzorové hematologické neoplazma</i>	
Blastický lymfom z NK buněk CD4+/CD56+ (hematodermic neoplasm)	

Histopatologický obraz je v iniciálních stádiích onemocnění necharakteristický a obvykle imituje různé zánětlivé dermatózy lichenoidního a psoriaziformního typu. S progresí lymfomu do infiltrativního stadia se stává příznačným hustý pruhovitý výrazně epidermotropní lymfoidní infiltrát s převahou malých cerebriformních buněk. Za charakteristický rys je považována tvorba intraepidermálních shluků nádorových T lymfocytů, tzv. Pautrierových mikroabscesů. Tento znak je však zachycen pouze v menší části případů (5). V tumorózním stadiu se stává infiltrát difúzním, ztrácí se epidermotropismus a v infiltrátu přibývá velkých buněk s prominujícím jádrem. Může transformovat do CD 30- nebo CD 30+ difúzního velkobuněčného lymfomu, což předznamenává špatnou prognózu (6).

Imunofenotyp nádorových elementů je nejčastěji CD 3+, CD 4+, CD 45 RO+, CD 8- . Vzácně je pozorován fenotyp CD 4-, CD 8+, prognosticky se tyto případy neliší (7). Expresí cytotoxických proteinů (T-cell intracellular antigen-1 /TIA-1/, granzym B) nádorovými CD 4+ lymfocyty je detekována asi u 10% pacientů s MF, mnohem častější je však u případů s blastickou transformací.

Ve většině případů MF je detekována klonalita T buněčného

receptoru (TCR), stejně jako řada chromozomálních abnormalit. Mezi nejčastější patří delece 10q a alterace tumor supresorových genů p15, p16 a p53. Specifická chromozomální translokace asociovaná s MF však nebyla identifikována (5).

Prognóza onemocnění závisí na jeho stadiu a rozsahu. 10-leté přežití u pacientů s limitovaným postižením (do 10% kožního povrchu) u iniciálních a infiltrativních stádií se pohybuje okolo 97%, u generalizovaného postižení (více než 10% kožního povrchu) ve stejném stadiu je průměrné 10-leté přežití 83%. V tumorózním stadiu se 10-leté přežití pohybuje okolo 42% a u extrakutánní disseminace s uzlinovým postižením okolo 20% (8). Agresivní průběh onemocnění je patrný zejména při transformaci MF do velkobuněčného T lymfomu.

K tradičním metodám léčby patří místní aplikace kortikosteroidů, retinoidů nebo chlormustinu (BCNU), dále fototerapie, fotochemoterapie PUVA a radioterapie. U pokročilých stádií onemocnění je preferována chemoterapie. Stále častěji se v léčbě MF uplatňuje aplikace tzv. biologik (interferon alfa, interleukin - 12), tradičních (acitretin) i nových retinoidů (bexaroten) a na receptory cílených cytotoxických fúzních proteinů (např. DAB 389 IL-2; denileukin diftitox) (9).

Variety a subtypy MF

Kromě klasického Alibertova-Bazinova typu MF je popsána řada dalších klinických a histologických variant tohoto onemocnění (např. bulózní nebo hyperpigmentovaná forma), které se však od klasické neliší co se týče biologického chování a prognózy a tudíž nejsou vyčleněny jako samostatné jednotky.

Výrazné odlišnosti jsou pozorovány pouze u folikulotropní MF, pagetoidní retikulózy a „granulomatous slack skin“, které budou v následujícím textu stručně charakterizovány.

Folikulotropní MF

Tato varianta MF předilekčně postihuje kstici a šiji ve formě úporně svědících folikulárně vázaných papulí a nodulů. Ne u všech případů je přítomna mucinózní degenerace vlasových folikulů, proto WHO-EORTC klasifikace upřednostňuje termín folikulotropní MF před tradičním názvem MF s folikulární mucinózou.

Histologický obraz je charakterizován přítomností folikulotropních (pozn. folikulotropní místo epidermotropní) infiltrátů tvořených malými a středně velkými hyperchromními buňkami s cerebriformními jádry, variabilní je příměs velkých buněk. Mucinózní degenerace vlasových folikulů je přítomna ve většině případů.

Imunofenotyp nádorových buněk je obdobný jako u klasické MF, častá je přítomnost blastických CD30+ elementů.

Prognóza onemocnění s 5-letým přežitím 70-80% je podobná jako u tumorózního stadia MF (10).

Vzhledem k perifolikulární lokalizaci a hlubšímu uložení nádorového infiltrátu je onemocnění poměrně rezistentní k méně agresivním metodám léčby. Upřednostňována je radioterapie, alternativně lze použít PUVA terapii v kombinaci s celkově podávanými retinoidy nebo interferonem alfa (10).

Pagetoidní retikulóza

Jedná se o variantu MF charakterizovanou přítomností solitárních plošných infiltrátů psoriaziformního vzhledu s intraepidermální proliferací nádorových T lymfocytů. Termín pagetoidní retikulóza by měl být rezervován pouze pro lokalizovaný typ (Woringer-Kolopp). Disseminovaný typ (Ketron-Goodman) je nutno klasifikovat jako jiný CTCL, nejčastěji agresivní epidermotropní CD8 + CTCL, kožní gamma/delta T buněčný lymfom nebo jako tumorózní stadium MF (1).

Mikroskopický obraz se shluky četných nádorových lymfocytů v hyperplastické epidermis připomíná obraz Pagetovy choroby. Imunofenotyp je stejný jako u klasické MF.

Prognóza pagetoidní retikulózy je výborná, extrakutánní disseminace nebyla popsána.

V léčbě se uplatňuje chirurgická excize a radioterapie.

Granulomatous slack skin

Jde o extrémně vzácný subtyp CTCL, klinicky charakterizovaný ložisky vzhledu cutis laxa ve flexurálních lokalizacích. Asi u 1/3 pacientů je popisována asociace s Hodgkinovou chorobou nebo klasickou MF (11).

V histologickém obraze dominují granulomatózní infiltráty v korii tvořené atypickými T lymfocyty a makrofágy s příměsí mnohояderných obrovských buněk a ložiskový rozpad elastických vláken.

Prognóza je vesměs příznivá. Přes omezené zkušenosti s léčbou se jeví jako účinná metoda radioterapie a chirurgická excize.

Sézaryho syndrom (SS)

SS je vzácná forma CTCL, prezentující se v klinickém obraze erythrodermií s deskvamací a lichenifikací a subjektivně intenzivním pruritem. Mezi další časté symptomy patří lymfadenopatie, palmoplantární hyperkeratóza, alopecie a onychodystrofie.

K odlišení benigních zánětlivých erythrodermií byla vypracována Mezinárodní společností pro kožní lymfomy (ISCL) tzv. minimální kritéria nemoci (12). Patří mezi ně absolutní počet atypických lymfocytů (Sézaryho buněk) v minimálním počtu 1000/mm³, imunofenotypické odchylky (např. poměr CD4/CD8 větší než 10) a zejména průkaz klonality T buněk v periferní krvi pomocí cytogenetických metod.

Histologický obraz SS je podobný jako u MF, někdy chybí epidermotropismus. V lymfatických uzlinách a v kostní dřeni bývá difúzní infiltrace nádorovými buňkami.

Imunofenotyp nádorových buněk je obvykle CD 3+, CD4+, CD8-. Klonalita TCR je důležitým diagnostickým kritériem SS. Často jsou detekovány různé chromozomální abnormality a většinou jsou identické s MF, což podporuje představu o společné patogenezi obou onemocnění. Chromozomální translokace specifická pro SS nalezena nebyla (13).

Prognóza SS je špatná, 5-leté přežití je asi 24%.

V terapii onemocnění se uplatňuje především extrakorporální fotochemoterapie (fotoférezá) izolovaně nebo v kombinaci s dalšími metodami (např. interferon alfa). Další léčebnou metodou je aplikace nízkodávkované chemoterapie (chlorambucil, metotrexát). Poměrně dobrou terapeutickou odezvu má aplikace bexarotenu a alemtumuzabu (monoklonální protilátka anti CD52), zatím však pouze v rámci studií (14, 15). Mezi adjuvantní léčebné postupy patří aplikace kortikoidních extern a fotochemoterapie PUVA.

Leukémie/lymfom dospělých z T buněk (ATLL - adult T-cell leukemia/lymphoma)

ATLL je onemocnění etiologicky asociované s virem HTLV-1 (Human T-cell leukemia virus 1). Kožní léze jsou obvykle sekundárním projevem generalizovaného onemocnění. Jsou však popsány případy tzv. „smouldering“ (doutnající) varianty, charakterizované pouze přítomností kožních symptomů s velmi pozvolnou progresí.

ATLL se vyskytuje endemicky v oblastech s vysokou prevalencí HTLV-1 viru v populaci, jako jsou jižní oblasti Japonska, Jižní Amerika, Karibské ostrovy a centrální Afrika. Choroba se rozvíjí u 1-5% séropozitivní populace po více než dvou dekádách persistence viru v organizmu. U většiny pacientů se akutní ATLL manifestuje leukémií, lymfadenopatií, organomegalií a hyperkalcémií. Přibližně 50% pacientů má kožní příznaky ve formě papul, nodulů a tumorů. Kožní symptomy u doutnající varianty jsou velmi podobné MF.

Histologický obraz kožních projevů ATLL může být téměř neodlišitelný od MF. Nádorové T lymfocyty se vyznačují pozitivní expresí CD3, CD4 a CD25. CD8 je negativní.

Klonalita TCR specifická pro HTLV-1 je přítomna ve všech případech a je důležitým znakem v odlišení chronické nebo doutnající varianty ATLL od klasické MF nebo SS (16).

Prognóza akutní formy onemocnění je špatná, přežití se pohybuje od několika týdnů do 1 roku. Doutnající varianta má pro-

trahovanější průběh a delší přežití, je však možný přechod do agresivní formy ATLL (16).

Systémová chemoterapie je nezbytná u většiny případů, u doutnající formy pouze s postižením kůže lze aplikovat léčebné metody platné pro MF (17).

Primární kožní CD30+ lymfoproliferativní onemocnění

Skupina těchto onemocnění představuje druhý nejčastější typ kožních T buněčných lymfomů, tvoří asi 30% všech CTCL (1, 2, 3). Řadí se sem primární kožní anaplastický velkobuněčný lymfom (C-ALCL), lymfomatoidní papulóza (LyP) a hraniční stavy.

Všeobecně je zastáván názor, že C-ALCL a LyP tvoří spektrum chorob, u kterých pouze histologická kritéria nestačí k jejich vzájemnému odlišení. Pro stanovení definitivní diagnózy a volbu léčebného postupu je nezbytná znalost klinického obrazu a průběhu onemocnění.

Jako hraniční stavy jsou vymezeny případy, kdy se klinickohistopatologické rysy překrývají natolik, že není možné jednoznačně zařazení onemocnění k C-ALCL nebo k LyP.

Primární kožní anaplastický velkobuněčný lymfom (C-ALCL)

C-ALCL se vyskytuje převážně v dospělosti, 2 až 3 krát častěji u mužů. Klinicky se projevuje tvorbou solitárních, často ulcerujících papulí, nodulů a tumorů. V předchodbě není anamnéza LyP, MF nebo jiného typu CTCL. Vícečetné léze jsou přítomny asi u 20% pacientů. Spontánní regrese onemocnění je možná. Extrakutánní disseminace je popisována asi u 10% případů, přednostně do regionálních lymfatických uzlin.

Histologický obraz tvoří nodulární nebo difúzní infiltrát složeny cytomorfologicky z velkých anaplastických buněk s okrouhlými nebo nepravidelnými jádry a s promínujícími nukleoly. V 20-25% případů mají nádorové buňky pleomorfni nebo imunoblastický vzhled. Reaktivní pozadí tvořené malými lymfocyty, neutrofilními a eozinofilními leukocyty je výrazné zejména u lézí ulcerovaných.

Diagnostickým imunofenotypickým znakem je exprese CD30 antigenu většinou nádorových buněk (více než 75%) při variabilním úbytku exprimovaných pan T markerů. Na rozdíl od analogických nodulárních lymfomů, nádorové buňky C-ALCL exprimují kožní lymfocytární antigen (CLA), naopak nejsou exprimovány epiteliální membránový antigen (EMA) a kináza anaplastického lymfomu (ALK). Expresí ALK, jako důsledek chromozomální translokace (2;5) (p23;q35) a jejích variant, je charakteristická pro systémový ALCL (18).

Prognóza onemocnění je zpravidla příznivá, 10-leté přežití se pohybuje okolo 90%. Výskyt mnohočetných lézí nebo extrakutánní šíření choroby prognózu nezhoršuje, stejně tak nejsou pozorovány rozdíly v prognóze mezi jednotlivými morfologickými variantami C-ALCL (19).

Terapie solitárních ložisek spočívá v chirurgické excizi nebo radioterapii. U případů s mnohočetnými lézemi je preferována radioterapie nebo aplikace metotrexátu v nízkých dávkách, u případů s prokázanou extrakutánní disseminací je indikována polychemoterapie (19).

Lymfomatoidní papulóza (LyP)

LyP je chronické onemocnění typické střídáním období exacerbací a spontánních remisí. Během 3-12 týdnů dochází spontánně k úplné regresi klinických projevů choroby a po určité době se proces opakuje. Kolem 20% případů LyP derivuje z jiného typu kožního lymfomu, nebo v něj přechází (MF, C-ALCL, m. Hodgkin). Typickým klinickým rysem je tvorba centrálně nekrotických papulí až nodulů, především na trupu a končetinách.

Histologický obraz LyP je velmi variabilní, rozlišovány jsou 3 subtypy onemocnění:

Typ A - vyznačuje se přítomností velkých atypických, někdy vícejaderných CD30+ buněk, které tvoří malé shluky nebo jsou roztroušeny ve smíšeném zánětlivém infiltrátu.

Typ B - je nejméně častou variantou (méně než 10% případů), která je charakterizována pruhovitým epidermotropním infiltrátem složeným z malých a středně velkých atypických lymfocytů s cerebriformními jádry stejně jako u MF.

Typ C - histologický obraz je tvořen hustým infiltrátem z velkých atypických CD30+ buněk a je v podstatě shodný s obrazem C-ALCL.

Imunofenotyp nádorových buněk typu A a C je stejný jako u C-ALCL, nádorový infiltrát typu B exprimuje pan T markery, CD3 a CD4, zatímco CD30 je negativní.

Klonalita TCR je přítomná u 60-70% případů LyP, translokace (2; 5) (p23;q35) detekována není (18).

Prognóza LyP je výborná, 5-leté přežití je prakticky 100% (19). Terapie LyP závisí na průběhu onemocnění. U mírných forem s minimem kožních lézí není léčba teoreticky nutná, u rozsáhlejšího postižení se s dobrým efektem uplatňuje nízkodávkovaný metotrexát, retinoidy - zvláště bexaroten, PUVA terapie nebo lokální chemoterapie. Po vysazení léčby dochází k relapsu choroby (19).

Podkožní „panniculitis-like“ T buněčný lymfom (SPTL)

SPTL je onemocnění postihující děti i dospělé ve stejném poměru pohlaví. Klinický obraz je charakterizován tvorbou solitárních nebo vícečetných podkožních nodulů, které se typicky vyskytují na dolních končetinách a pouze vzácně mohou generalizovat. Extrakutánní disseminace stejně jako rozvoj hemofagocytárního syndromu se objevují zřídka.

Histologicky nacházíme pod intaktní epidermis a dermis nádorový infiltrát v podkoží, který napodobuje obraz panikulitidy. Infiltrát je tvořen malými, středně velkými a někdy i velkými pleomorfními T lymfocyty s hyperchromními jádry a hojnou příměsí makrofágů. Nekrózy, karyorrhexe a cytofagocytóza jsou častým doprovodným rysem.

Pro SPTL je typický alfa/beta+, CD3+, CD4-, CD8+ fenotyp (20). Případy exprimující fenotyp gamma/delta+, CD4-, CD8-, CD56+, které se vyznačují agresivním chováním a velmi špatnou prognózou, WHO-EORTC klasifikace vyčleňuje jako zvláštní typ lymfomu (1).

Na rozdíl od předchozích referencí, které popisovaly rychlý a fatální průběh SPTL, nedávné studie poukazují na většinou protražovaný klinický průběh s lokálními recidivami, ale pouze vzácně s extrakutánní progresí choroby. Průměrně 5-leté přežití je uváděno okolo 80% (20).

V terapii SPTL se podle nedávných studií jeví jako velmi účinné systémově podávané kortikosteroidy, efektivní je rovněž chemoterapie (doxorubicin) a radioterapie (20, 21).

Extranodální NK/T buněčný lymfom, nazální typ

Jde o lymfom asociovaný konstantně s EBV (Epstein-Barr virus) infekcí. Kůže je druhým nejčastěji postiženým orgánem hned po oblasti nazofaryngu a nosní dutiny a její postižení může být primární nebo sekundární. V obou případech se tento lymfom vyznačuje srovnatelně agresivním chováním s aplikací stejných terapeutických postupů, a proto WHO-EORTC klasifikace upřednostňuje v názvu uvedené sjednocující označení tohoto onemocnění před někdy užívaným názvem „primární kožní NK/T buněčný lymfom, nazální typ“.

Onemocnění nejčastěji postihuje dospělé muže v oblasti Asie, Střední Ameriky a Jižní Afriky. Projevuje se tvorbou mnohočetných, často ulcerujících plošných lézí a hrbolů na trupu a končetinách, u nazálního typu lymfomu destruktivními tumorózními lézemi v centrálních partiích obličeje.

Přítomny mohou být systémové příznaky v podobě horečky, celkové slabosti, váhového úbytku nebo rozvoje hemofagocytárního syndromu. Choroba má blízký vztah k leukémii z NK buněk.

Histologicky se tento typ lymfomu vyznačuje přítomností hustého nádorového infiltrátu v korigu a podkoží s variabilním epidermotropismem. Cytologicky se jedná o polymorfní infiltrát složený z malých, velkých a převážně středně velkých buněk

s nepravidelnými jádry a světlou cytoplazmou, který má výrazně angiocentrický a angiodestruktivní charakter. Doprovodný smíšený zánětlivý infiltrát je velmi intenzivní.

Nádorové buňky exprimují CD2, CD56, cytoplazmatický CD3E(eta) a cytotoxické proteiny (TIA-1, granzym B, perforin). Povrchový CD3 je negativní. U vzácných CD56- případů je k verifikaci diagnózy nutná detekce EBV in situ hybridizací a pozitivní exprese cytotoxických proteinů (22).

Prognóza nazálního NK/T buněčného lymfomu je nepříznivá, průměrné přežití je méně než 1 rok. Nejvýznamnějším prediktivním faktorem je přítomnost extrakutánního postižení v době diagnózy, jež významně zkracuje dobu přežití (23).

Primární léčebnou metodou je systémová chemoterapie. Variantou onemocnění je tzv. „*Hydroa vacciniforme-like CTCL*“. Jedná se o EBV+, CD8+ T lymfom, postihující děti prakticky výlučně v oblastech Latinské Ameriky a Asie. Klinický obraz se velmi podobá hydroa vacciniformia, prognóza je špatná (24).

Primární kožní periferní T buněčný lymfom, nespecifikovaný

WHO klasifikace do této kategorie zahrnuje všechny typy T buněčných lymfomů, které není možno přesněji zařadit k některému subtypu lymfomu z T buněk. Na základě nedávných studií byly v této skupině vyčleněny a blíže definovány zatím jako provizorní jednotky *primární kožní agresivní epidermotropní cytotoxický T buněčný CD8+ lymfom*, *kožní gamma/delta T buněčný lymfom* a *primární kožní lymfom z malých a středně velkých CD4+ T buněk*. Všechny ostatní případy, které nesplňují kritéria ani jedné z uvedených provizorních jednotek, jsou klasifikovány jako *primární kožní periferní T buněčný lymfom nespecifikovaný*.

Primární kožní agresivní epidermotropní cytotoxický T buněčný CD8+ lymfom

(provizorní jednotka)

Onemocnění se manifestuje lokalizovaným, častěji však erupтивním výsevem centrálně nekrotických papulí a nodulů. Progrese lymfomu do vnitřních orgánů je běžná.

V histologickém obraze dominuje epidermotropní infiltrát z malých a středně velkých atypických CD8+ lymfocytů s příležitou angioinvasivitou. V diferenciální diagnóze je nutno odlišit ostatní CTCL exprimující CD8, tedy část případů MF, pagetoidní retikulózy, LyP a C-ALCL. Odlišení je možné zejména na základě rozdílného klinického obrazu a průběhu jednotlivých onemocnění. Epidermotropní CD8+ cytotoxický lymfom se chová velmi agresivně (25). Průměrné přežití se pohybuje okolo 32 měsíců.

Imunofenotyp nádorových buněk je betaF1+, CD3+, CD4-, CD8+, CD45 RO-, granzym B+, perforin +, TIA-1 +. EBV je negativní.

V léčbě se uplatňuje doxorubicin v kombinaci s dalšími cytostatiky.

Kožní gamma/delta T buněčný lymfom (CGD-TCL; provizorní jednotka)

Klinický obraz CGD-TCL připomíná výsevem ulceronekrotických papulí a nodulů na trupu a končetinách předchozí jednotku. Vzácná je progrese do uzlin a do kožní dřevě, naopak časté je postižení sliznic, které může být prvotní. Rozlišení primárního a sekundárního kožního postižení není s ohledem na identicky špatnou prognózu účelné stejně jako u extranodálního NK/T buněčného lymfomu. Průměrné přežití se pohybuje okolo 15 měsíců. Onemocnění může být provázeno hemofagocytárním syndromem (1, 26).

Histologicky je přítomen epidermotropní dermální a podkožní infiltrát tvořený klonální proliferací malých a středně velkých gamma/delta pozitivních T lymfocytů. Tyto případy byly dříve klasifikovány jako SPTL s gamma/delta fenotypem. Frekventním rysem je invaze do cév, přítomnost nekrotických a apoptotických buněk.

Imunofenotyp nádorových buněk je gamma/delta +, betaF1-, CD3+, CD2+, CD5-, CD56+. Naprostá většina CGD-TCL je CD4 a CD8 negativních, naopak intenzivní je exprese cytotoxických proteinů. EBV je negativní (26).

Chemoterapie je nezbytná u všech případů, výsledky léčby jsou neuspokojivé.

Primární kožní pleomorfní CD4+ lymfom z malých a středně velkých T buněk

(provizorní jednotka).

Klinicky se tento typ CTCL manifestuje tvorbou solitárních tuberů v obličeji, na krku a horních partiích trupu. Výskyt mnohočetných lézí je méně obvyklý.

Pro histologický obraz je charakteristický hustý, difúzní nebo nodulární infiltrát v dermis s variabilně vyjádřeným epidermotropismem. Cytomorfologicky převažují malé a středně velké pleomorfní T lymfocyty nad relativně malou příměsí buněk velkých. Pro odlišení MF je nezbytná absence pro toto onemocnění typických klinických příznaků (3).

Imunofenotyp nádorových buněk je CD3+, CD4+, CD8-, CD30- s variabilní ztrátou exprese pan T markerů. Cytotoxické proteiny exprimovány nejsou (27). Kromě klonality TCR nejsou jiné cytogenetické abnormality detekovány.

Prognóza je velmi dobrá zejména u případů se solitárními lézemi, 5-leté přežití je 60-80% (1, 27).

Optimální léčebná metoda není zatím standardizována. U solitárních lézí je účinná chirurgická excize a radioterapie, u rozsáhlejšího postižení s vícečetnými lézemi je pozorován dobrý efekt cyklofosfamidu a interferonu alfa (1).

Primární kožní periferní T buněčný lymfom, nespecifikovaný

Do této kategorie spadají všechny CTCL, které nelze zařadit do některé skupiny výše definovaných provizorních jednotek. Postižení jsou obvykle dospělí v podobě solitárních nebo častěji generalizovaných nodulů v kterékoliv lokalizaci.

Histologický obraz je tvořen nodulárními nebo difúzními infiltráty středně velkých a velkých pleomorfních T lymfocytů. Velké nádorové buňky mají nejméně 30% zastoupení (28). Epidermotropismus je nevýrazný nebo chybí úplně.

Nádorové buňky ve většině případů exprimují aberantní CD4 fenotyp s variabilní ztrátou pan T markerů. CD30 je negativní, vzácná je koexprese CD56 (29).

Prognóza je špatná s 5-letým přežitím méně než ve 20% případů. Léčba spočívá v chemoterapii (29).

Prekurzorové hematologické neoplazma

Blastický lymfom z NK buněk CD4+/CD56+ (hematodermic neoplasm)

Ve WHO klasifikaci je toto onemocnění definováno jako agresivní lymfom s vysokou incidencí kožního postižení a rizikem leukemizace (4). Oproti původním předpokladům nedávné studie ukázaly, že onemocnění nederivuje z NK prekurzorových buněk, ale z plazmacytoidního dendritického prekurzoru (30). V kůži se choroba obvykle manifestuje ve formě solitárních nebo vícečetných nodulů. Více než polovina pacientů má v době diagnózy současné postižení uzlin a kostní dřeně, u ostatních nemocných se v dalším průběhu záhy rozvíjí. Onemocnění je třeba odlišit od myelomonocytární leukémie kůže (20).

Histologicky je přítomen infiltrát bez epidermotropismu, který tvoří převážně středně velké T buňky připomínající lymfoblasty nebo imunoblasty (30). Mitotická aktivita je vysoká. Obvyklý imunofenotyp nádorových buněk je CD4+, CD56+, CD8-, CD7+/-, CD2-/-, CD45 RA+, cytotoxické proteiny ani povrchový či cytoplazmatický CD3 exprimovány nejsou. Pozitivní exprese CD123 a TCL1 je v souladu s předpokládanou histogenezí onemocnění.

Jedná se o chorobu s agresivním průběhem a špatnou prognózou, průměrné přežití je 14 měsíců. Léčba spočívá v chemoterapii v režimech obvyklých pro akutní leukémie (23).

Primární kožní lymfomy z B buněk (CBCL-Cutaneous B-cell Lymphomas)

Primární kožní lymfom z B buněk marginální zóny (PCMZL)

Do skupiny PCMZL se řadí případy dříve označované jako *primární kožní imunocytom*, dále případy *kožní folikulární lymfoidní hyperplázie s monotypickými plazmocytami* a rovněž případy velmi vzácného *primárního kožního plazmacytomu*. PCMZL je považován za součást širokého spektra extranodálních lymfomů z B buněk marginální zóny často postihujících sliznice, tzv. *MALT (mucosa-associated lymphoid tissue) lymfomů* (1). Klinicky se PCMZL zpravidla projevuje tvorbou vícečetných, zpravidla neulcerujících papulí, plaků a nodulů, predilekčně na trupu a končetinách, zvláště na pažích. U malého počtu „evropských“ případů je popisována asociace s infekcí *Borrelia burgdorferi*.

Histologický obraz tvoří nodulární nebo difúzní cytologicky polymorfní infiltráty, složené z malých lymfocytů, centrocytoidních a lymfoplazmacytoidních buněk, plazmocytů a s variabilní příměsí buněk centroblastického nebo imunoblastického vzhledu. Charakteristické jsou folikuly s reaktivními centry a s nápadně rozšířenou marginální zónou, ve které převažují monocytoidní B buňky s nepravidelnými jádry a obšírnou světlou cytoplazmou. V případech s výskytem hojných monotypických plazmocytů a lymfoplazmacytoidních buněk bývají přítomné intracytoplazmatické a intranukleární PAS pozitivní inkluze (31).

Pro imunofenotyp PCMZL je typická exprese pan B markerů (CD20, CD79a) a bcl-2 proteinu. Plazmocytami exprimují CD138, CD79a a monotypický cytoplazmatický Ig (cIg) (31). Reaktivní centra folikulů jsou CD10+, bcl-6+, bcl-2-.

V poslední době byly detekovány některé genetické odchylky. Prokazována je klonalita těžkého řetězce imunoglobulinu (IgH). U části případů PCMZL je přítomna t(14;18)(q32;q21) postihující IGH gen na chromozómu 14 a MLT gen na chromozómu 18 a dále t(3;14)(p14.1;q32) postihující IGH a FOXP1 geny. Ostatní translokace typické pro gastrické MALT lymfomy prokázány nebyly (32).

Prognóza PCMZL je vynikající, 5-leté přežití je 100%. U malého počtu případů byla popsána transformace do difúzního velkobuněčného B lymfomu (31).

V terapii se uplatňuje chirurgická excize solitárních lézí. Radioterapie, systémově podávaný chlorambucil, intralezionálně nebo podkožně aplikovaný interferon alfa a v poslední době i intralezionální aplikace monoklonální protilátky anti CD20 (rituximab) jsou metody rezervované pro pacienty s rozsáhlejšími postiženími (33). U nemocných s častými lokálními recidivami je doporučována topická nebo intralezionální aplikace kortikosteroidů. V případech asociované infekce *Borrelia burgdorferi* je primární léčba antibiotiky (34).

Primární kožní lymfom z buněk folikulárního centra (PCFCL)

Poměrně charakteristickým klinickým rysem PCFCL je tvorba pozvolna rostoucích papul a hrbolů predilekčně lokalizovaných ve křtici, na čele nebo na trupu, velmi vzácně jsou postiženy dolní končetiny. Typický je výskyt solitárních ložisek, vícečetné léze se objevují pouze u malého počtu nemocných. Extrakutánní diseminace je i u neléčených pacientů vzácná. Histologický obraz je variabilní v závislosti na stádiu excidované léze a na její lokalizaci. V nádorovém infiltrátu, který má nodulární nebo difúzní charakter s charakteristickou hraniční zónou (Grenz zone - intaktní proužek papilárního koría), dominují velké centrocyty s variabilní příměsí centroblastů. Typická folikulární struktura je patrná pouze u iniciálních lézí a s progresí onemocnění se postupně stírá (35).

Pro imunofenotyp nádorových buněk je charakteristická exprese pan B markerů CD20, CD79a. Exprese monotypického povrchového Ig (sIg) je variabilní. Pozitivní exprese CD10 je při-

tomna pouze u lézí s folikulární strukturou (36). MUM-1/IRF4 je negativní. Konstatně je ve všech případech exprimován bcl-6 protein, zatímco bcl-2 protein je negativní na rozdíl od identických nodálních FCCL (37). Pozitivní exprese bcl-2 proteinu a přítomnost translokace t(14;18) popsaná v poslední době u některých případech PCFCL není jednoznačně objasněna, rozhodně však tyto změny zvyšují podezření na sekundární postižení kůže v rámci systémového lymfomu (38).

Konstatně je detekována klonalita lehkých a těžkých řetězců imunoglobulinů. Chromozomální translokace t(14;18), charakteristická pro nodální FCCL a část systémových difúzních velkobuněčných B lymfomů, není u PCFCL většinou přítomna (35).

Prognóza PCFCL je bez ohledu na variabilitu histologického obrazu a rozsah klinického postižení výborná, 5-leté přežití se pohybuje kolem 95%. Silná exprese bcl-2 přítomná u některých případech PCFCL signalizuje horší prognózu (39).

Radioterapie se s dobrým efektem uplatňuje u primárního postižení i u lokálních recidiv, které se objevují asi u 20% nemocných. Dobrý efekt stejně jako u PCMZL má rituximab, chybí však údaje od většího počtu pacientů. Terapie antracyklinem v kombinaci s dalšími cytostatiky je rezervována pro pacienty s rozsáhlým kožním nebo extrakutánním postižením (37).

Primární kožní difúzní velkobuněčný B lymfom (PCLBCL) dolních končetin („leg type“)

Jde o CBCL postihující především starší jedince nad 70 let věku, častěji ženy. Klinicky se onemocnění projevuje tvorbou červenolividných nodulů na dolních končetinách, velmi vzácně i na trupu nebo na hlavě (40). Extrakutánní diseminace je poměrně častá a je spojena s horší prognózou.

Pro histologický obraz jsou typické difúzní infiltráty expandující do podkoží, v nichž prevaluje monotónní populace buněk vzhledu centroblastů a imunoblastů. Mitotická aktivita je vysoká (40).

Nádorové buňky exprimují pan B markery CD20 a CD79a, monotypický sIg a (nebo) cIg. V kontrastu s PCFCL je markantní silná exprese bcl-2 proteinu, a to i v lokalizacích mimo dolní končetiny (41). Většina případů se vyznačuje pozitivní expresí bcl-6 proteinu a MUM-1/IRF4 proteinu, CD10 je vždy negativní (41, 42).

Translokace t(14;18) není navzdory silné expresi bcl-2 proteinu detekována. Mezi časté abnormality patří chromozomální nestabilita 18q a 7p, ztráta 6q a podle posledních studií i translokace myc, bcl-6 a IgH genů (43).

Průměrné 5-leté přežití se pohybuje okolo 55%. Prognózu zhoršuje výskyt mnohočetných lézí. Mírnější průběh mají PCLBCL s lézemi mimo dolní končetiny (40).

Radioterapie je rezervována pouze pro malý počet případů se solitárními lézemi, většinou je nezbytná chemoterapie antracyklinem v kombinaci s dalšími cytostatiky (40). Nadějně se jeví stejně jako u dalších CBCL rituximab, v indikaci PCLBCL však zatím chybí rozsáhlejší zkušenosti (44).

Primární kožní difúzní velkobuněčný B lymfom (PCLBCL), ostatní

Do této kategorie jsou zahrnuty různé morfologické varianty PCLBCL, které nepatří do skupiny PCFCL ani PCLBCL dolních končetin.

Plazmoblastický lymfom prakticky výhradně provází HIV infekci nebo jiné imunodeficitní stavy (45).

Primární kožní „T-cell/histiocyte-rich“ B lymfom se klinicky a prognosticky velmi podobá PCFCL a PCMZL. Mikroskopický obraz tvoří roztroušené velké B lymfocyty v bohaté doprovodné populaci malých T lymfocytů a histiocytů (46). *Intravaskulární velkobuněčný B lymfom* převážně postihuje CNS, plíce a kůži. U většiny pacientů se jedná o diseminované onemocnění, vyskytují se však i případy s izolovaným postižením kůže. Kožní léze se tvoří zejména na dolních končetinách a na trupu a mají charakter lividních indurovaných plaků, často s přítomností viditelných teleangiektazií. V histologickém obraze dominuje intravaskulární a perivaskulární proliferace velkých B lymfocytů (47). Prognóza diseminovaného onemocnění je špatná, 3leté přežití je asi 22%. Lepší prognózu mají pacienti s izolovaným kožním postižením, kde se 3-leté přežití pohybuje okolo 56%. V léčbě se uplatňuje chemoterapie (47).

Závěr

Vypracování WHO-EORTC klasifikačního schématu primárních lymfomů kůže sjednocuje a upřesňuje některé aspekty výchozích WHO a EORTC klasifikací a je jednoznačným přínosem z pohledu dané problematiky.

Podrobná analýza skupiny primárních kožních lymfomů z B buněk umožňuje detailní rozlišení jednotek indolentních a agresivních, což z pohledu klinika znamená možnost dalšího zdokonalení terapeutických postupů. Další výzkum v oblasti CBCL se v současnosti zaměřuje zejména na sledování prognostického a diagnostického významu bcl-2 a Mum-1/IRF4 proteinů.

Klasifikace některých skupin primárních kožních lymfomů z T buněk je stále poměrně složitá i přes značný pokrok v definování jejich vlastností. Pro stanovení správné diagnózy je nutno věnovat náležitou pozornost správné korelaci klinických, histologických, imunohistochemických a molekulárně genetických aspektů. I přes další pokrok v diagnostice zůstává i v klasifikaci WHO-EORTC kategorie jednotek provizorně řazených. Jde zejména o skupinu primárních kožních periferních T buněčných lymfomů, ve které jsou sice přesněji vyčleněny definované subtypy, často však dochází k překrývání jejich některých charakteristik a bude proto nutné dalším výzkumem řadu těchto nejjasností vyřešit. Příkladem mohou být GD-TCL a primární kožní agresivní CD8+ CTCL.

Tyto a některé další vzácné subtypy CTCL, stejně jako pokročilá stadia MF a SS, se vyznačují velmi agresivním chováním a špatnou prognózou. Předětem dalších studií je v těchto případech aplikace nových terapeutických schémat včetně alogenní transplantace kostní dřeně.

Vzhledem k dynamickému rozvoji molekulárně biologických metod lze očekávat další zdokonalování a upřesňování v současné době neaktuálnějšího klasifikačního systému primárních lymfomů kůže a tím i další zlepšování perspektivy nemocných. Relativně nízká incidence této skupiny chorob a složitost problematiky předurčuje soustředění pacientů do specializovaných center zaměřených na diagnostiku a léčbu s nezbytnou úzkou spoluprací dermatologa, hematologa a histopatologa.

Literatura

1. Willemze R, Jaffe ES, Burg G, et al. WHO-EORTC classification for cutaneous lymphomas. *Blood*. 2005;105:3768-3785
2. Tichý Mj, Tichý M. Primární lymfomy kůže - aktuální pohled. *Čes-slov Derm*. 2000;75, č.6, s. 312-318

3. Willemze R, Kerl H, Sterry W, et al. EORTC classification for primary cutaneous lymphomas: a proposal from the Cutaneous Lymphoma Study Group of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC). *Blood*. 1997; 90:354-371
4. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW (Eds). *World Health Organization Classification of Tumors: Pathology and Genetics of Tumours of*

- Hematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon, France: IARC Press;2001
5. Smoller BR, Santucci M, Wood GS, Whittaker SJ. Histopathology and genetics of cutaneous T-cell lymphoma. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2003;17:1277-1311
 6. Diamandidou E, Colome-Grimmer M, Farad L, Duvic M, Kurzrock R. Transformation of mycosis fungoides/Sézary syndrome: clinical characteristics and prognosis. *Blood*. 1998;92:1150-1159
 7. Whittam LR, Calonje E, Orchard G, Fraser-Andrews EA, Woolford A, Russell-Jones R. CD8-positive juvenile onset mycosis fungoides: an immunohistochemical and genotypic analysis of six cases. *Br J Dermatol*. 2000;143:1199-1204
 8. van Doorn R, van Haselen CW, van Voorst PC, et al. Mycosis fungoides: disease evolution and prognosis of 309 Dutch patients. *Arch Dermatol*. 2000;136:504-510
 9. Whittaker SJ, Marsden JR, Spittle M, Russell-Jones R. Joint British Association of Dermatologists and UK Cutaneous Lymphoma Group guidelines for the management of primary cutaneous T-cell lymphomas. *Br J Dermatol*. 2003;149:1095-1107
 10. van Doorn R, Scheffer E, Willemze R. Follicular mycosis fungoides: a distinct disease entity with or without associated follicular mucinosis. *Arch Dermatol*. 2001;138:191-198
 11. Clarijs M, Poot F, Laka A, Pirard C, Bourlond A. Granulomatous slack skin: treatment with extensive surgery and review of the literature. *Dermatology*. 2003;206:393-397
 12. Vonderheid EC, Bernengo MG, Burg G, et al. Update on erythrodermic cutaneous T-cell lymphoma: report of the International Society for Cutaneous Lymphomas. *J Am Acad Dermatol*. 2002;46:95-106
 13. Mao X, Lillington D, Scarisbrick JJ, et al. Molecular cytogenetic analysis of cutaneous T-cell lymphomas: identification of common genetic alterations in Sezary syndrome and mycosis fungoides. *Br J Dermatol*. 2002;147:464-475
 14. Duvic M, Cather JC. Emerging new therapies for cutaneous T-cell lymphoma. *Dermatology Clinics*. 2000;18:147-156
 15. Lundin J, Hagberg H, Repp R, et al. Phase II study of alemtumuzab (anti-CD52 monoclonal antibody, CAMPATH-1H) in patients with advanced mycosis fungoides. *Blood*. 2003;101:4267-4272
 16. Oshima K, Suzumiya J, Sato K, et al. Nodal T-cell lymphoma in n HTLV-I-endemic area: proviral HTLV-I DNA, histological classification and clinical evaluation. *Br J Haematol*. 1998;101:703-711
 17. Yamada Y, Tomonaga M. The current status of therapy for adult T-cell leukemia-lymphoma in Japan. *Leuk Lymphoma*. 2003;44:611-618
 18. De Couteau JF, Butmarc JR, Kinney MC, Kadin ME. The t(2;5) chromosomal translocation is not a common feature of primary cutaneous CD30+ lymphoproliferative disorders: comparison with anaplastic large cell lymphoma of nodal origin. *Blood*. 1996;87:3437-3441
 19. Bekkenk M, Geelen FAMJ, van Voorst Vader PC, et al. Primary and secondary CD30-positive lymphoproliferative disorders: long term follow-up data of 219 patients and guidelines for diagnosis and treatment: a report from the Dutch Cutaneous Lymphoma Group. *Blood*. 2000;95:3653-3661
 20. Massone C, Chott A, Metzger D, et al. Subcutaneous, blastic natural killer (NK), NK/T-cell and other cytotoxic lymphomas of the skin: a morphologic, immunophenotypic and molecular study of 50 patients. *Am J Surg Pathol*. 2004;28:719-735
 21. Hoque SR, Child FJ, Whittaker SJ, et al. Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma: a clinicopathological, immunophenotypic and molecular analysis of six patients. *Br J Dermatol*. 2003;148: 516-525
 22. Jaffe ES, Krenacs L, Raffeld M. Classification of cytotoxic T-cell and natural killer cell lymphomas. *Semin Hematol*. 2003;40:175-184
 23. Bekkenk MW, Jansen PM, Meijer CJLM, Willemze R. CD56+ hematological neoplasms presenting in the skin: a retrospective analysis of 23 new cases and 130 cases from the literature. *Ann Oncol*. 2004;15: 1097-1108
 24. Chen HH, Hsiao CH, Chiu HC. Hydroa vacciniforme-like primary cutaneous CD8-positive T-cell lymphoma. *Br J Dermatol*. 2002;147: 587-591
 25. Berti E, Tomasini D, Vermeer MH, Meijer CJLM, Alessi E, Willemze R. Primary cutaneous CD8-positive epidermotropic cytotoxic T-cell lymphoma: a distinct clinicopathologic entity with an aggressive clinical behaviour. *Am J Pathol*. 1999;155: 483-492
 26. Toro JR, Liewehr DJ, Pabby N, et al. Gamma-delta-T-cell phenotype is associated with significantly decreased survival in cutaneous T-cell lymphoma. *Blood*. 2003;101:3407-3412
 27. von den Driesch P, Coors EA. Localized cutaneous small to medium-sized pleomorphic T-cell lymphoma: a report of 3 cases for years. *J Am Acad Dermatol*. 2002;46:531-535
 28. Beljaards RC, Meijer CJLM, van der Putte SCJ, et al. Primary cutaneous T-cell lymphomas: clinicopathologic features and prognostic parameters of 35 cases other than mycosis fungoides and CD30-positive large cell lymphoma. *J Pathol*. 1994;172:53-60
 29. Bekkenk MW, Vermeer MH, Jansen PM, et al. Peripheral T-cell lymphoma unspecified presenting in the skin: analysis of prognostic factors in a group of 82 patients. *Blood*. 2003;102:2213-2219
 30. Jacob MC, Chaperot C, Mossuz P, et al. CD4+ CD56+ lineage negative malignancies: a new entity developed from malignant early plasmacytoid dendritic cells. *Haematologica*. 2003;88:941-955
 31. Li C, Inagaki H, Kuo TT, Huo S, Okabe M, Eimoto T. Primary cutaneous marginal zone B-cell lymphoma: a molecular and clinicopathologic study of 24 Asian cases. *Am J Surg Pathol*. 2003;27:1061-1069
 32. Streubel B, Lamprecht A, Dierlamm J, et al. t(14;18)(q32; q21) involving IGH and MALT1 is a frequent chromosomal aberration in MALT lymphoma. *Blood*. 2003;101:2335-2339
 33. Soda R, Constanza A, Cantonetti M, Orlandi A, Bianchi L, Chimenti S. Systemic therapy of primary cutaneous B-cell lymphoma, marginal zone type, with rituximab, a chimeric anti-CD20 monoclonal antibody. *Acta Derm Venereol*. 2001;81:207-208
 34. Zenahlik P, Pink-Fuches R, Kapp KS, Kerl H, Cerroni L. Therapy of primary cutaneous B-cell lymphomas. *Hautarzt*. 2000;51:19-24
 35. Goodlad JR, Krajewski AS, Batstone PJ, et al. Primary cutaneous follicular lymphoma: a clinicopathologic and molecular study of 16 cases in support of a distinct entity. *Am J Surg Pathol*. 2002;26:733-741
 36. Hoefnagel JJ, Vermeer MH, Janssen PM, Fleuren GJ, Meijer CJLM, Willemze R. Bcl-2, Bcl-6 and CD10 expression in cutaneous B-cell lymphoma: further support for a follicle centre cell origin and differential diagnostic significance. *Br J Dermatol*. 2003;149:1183-1191
 37. Cerroni L, Arzberger E, Pütz B, et al. Primary cutaneous follicular centre cell lymphoma with follicular growth pattern. *Blood*. 2000;95: 3922-3928
 38. Mirza I, Macpherson S, Paproski S, et al. Primary cutaneous follicular lymphoma: an assessment of clinical, histopathologic, immunophenotypic, and molecular features. *J Clin Oncol*. 2002;20:647-655
 39. Grange F, Petrella T, Beylot-Barry M, et al. Bcl-2 protein expression is the strongest independent prognostic factor of survival in primary cutaneous large B-cell lymphomas. *Blood*. 2004;103:3662-3668
 40. Grange F, Bekkenk MW, Wechsler J, et al. Prognostic factors in primary cutaneous large B-cell lymphomas: a European multicenter study. *J Clin Oncol*. 2001;19:3602-3610
 41. Goodlad JR, Krajewski AS, Batstone PJ, et al. Primary cutaneous diffuse large B-cell lymphoma: prognostic significance and clinicopathologic subtypes. *Am J Surg Pathol*. 2003;27:1538-1545
 42. Paulli M, Viglio A, Vivenza D, et al. Primary cutaneous large B-cell lymphoma of the leg: histogenetic analysis of a controversial clinicopathologic entity. *Hum Pathol*. 2002;33:937-943
 43. Hallermann C, Kaune K, Siebert R, et al. Cytogenetic aberration patterns differ in subtypes of primary cutaneous B-cell lymphomas. *J Invest Dermatol*. 2004;122:1495-1502
 44. Brogan BL, Zic JA, Kinney MC, Hu JY, Hamilton KS, Greer JP. Large B-cell lymphoma of the leg: clinical and pathologic characteristics in a North American series. *J Am Acad Dermatol*. 2003;49:223-228
 45. Colomo L, Loong F, Rives S, et al. Diffuse large B-cell lymphomas with plasmablastic differentiation represent a heterogeneous group of disease entities. *Am J Surg Pathol*. 2004;28:736-747
 46. Li S, Griffin CA, Mann RB, Borowitz MJ. Primary cutaneous T-cell rich B-cell lymphoma: clinically distinct from its nodal counterpart? *Mod Pathol*. 2001;14:10-13
 47. Ferreri AJM, Campo E, Seymour JF, et al. Intravascular lymphoma: clinical presentation, natural history, management and prognostic factors in a series of 38 cases with special emphasis on the „cutaneous variant“. *Br J Haematol*. 2004;127:173-183

Došlo: 19. 1. 2006
Prijato: 18. 4. 2006

LYMFOSCINTIGRAFIE U PACIENTEK S NEKONČETINOVÝM LYMFEDÉMEM PO DISEKCI AXILY A RADIOTERAPII

LYMPHOSCINTIGRAPHY IN PATIENTS WITH NON-EXTREMITY LYMPHEDEMA FOLLOWING AXILLA DISSECTION AND RADIOTHERAPY

KŘÍŽOVÁ H.¹, WALD M.², BARKMANOVÁ J.³

¹ÚSTAV NUKLEÁRNÍ MEDICÍNY 1. LF UK A VFN, PRAHA

²CHIRURGICKÁ KLINIKA 2. LF UK A FN V MOTOLE, PRAHA

³ONKOLOGICKÁ KLINIKA 1. LF UK A VFN, PRAHA

Souhrn

Poměrně častou komplikací komplexní terapie terapie karcinomu prsu je lymfedém homolaterální horní končetiny, k jehož rozvoji dochází až u 30% pacientek. Velice málo informací se však dosud objevuje v literatuře o nekončetinovém lymfedému. V rozvinuté formě se projevuje bolestí a /nebo otokem operovaného prsu nebo měkkých tkání různých oblastí hrudníku nebo výjimečně i epigastria. Latentní forma nekončetinového lymfedému bývá často lékaři nerozpoznána a tedy není ani správně léčena. Základem správné diagnózy je detailní anamnéza a pečlivé klinické vyšetření. Autoři se v práci zaměřili na zhodnocení přínosu lymfoscintigrafického vyšetření u pacientek se suspektním nekončetinovým lymfedémem. Kromě zobrazení lymfedému prsu umožňuje lymfoscintigrafie prokázat alternativní cestu lymfatické drenáže do jiných než homolaterálních axilárních uzlin. Tato informace může být důležitá i pro lymfoterapeuta, kterému ukáže cestu pro provádění efektivní manuální lymfodrenáže.

Klíčová slova: nekončetinový lymfedém - karcinom prsu - lymfoscintigrafie

Abstract

The upper limb lymphedema is a quite frequent complication in breast carcinoma patients after axillary dissection and/or radiotherapy. Its incidence is approximately 30%. However, few informations have been published about non-extremity lymphedema. Advanced non-extremity lymphedema is characterized by pain and/or edema of the breast or soft tissue in various regions of the chest (rarely also of the epigastrium). Very often the latent form of the non-extremity lymphedema remains undetected and, therefore, is not treated well. Detailed patient history and thorough clinical examination are basic presumptions of a correct diagnosis. Authors of this article have focused on the evaluation of the benefit of lymphoscintigraphy in patients with suspect non-extremity lymphedema. Besides breast lymphedema imaging, the lymphoscintigraphy enables to depict alternative lymphatic routes which drain to other than homolateral axillary nodes. This information can be important for the physical therapist in attempt of an effective manual lymph drainage.

Key words: non-extremity lymphedema - breast cancer- lymphoscintigraphy

Úvod

Poměrně častou komplikací komplexní terapie terapie karcinomu prsu je lymfedém homolaterální horní končetiny. K jeho rozvoji dochází dle různých autorů u 6-30% pacientek (1). Může se objevit velice časně, tedy již v průběhu léčby, ale i s odstupem mnoha let po jejím ukončení; více než 10% lymfedémů se objevuje až 3 roky po chirurgickém výkonu resp. radioterapii. Etiologie lymfedému není dosud plně objasněna. Na jeho rozvoji se podílí přerušení lymfatických cest v průběhu operace, radiačně indukovaná fibrotizace tkáně nebo infekce. Dalšími rizikovými faktory pro rozvoj lymfedému jsou pokročilejší stádium karcinomu, vyšší věk a obezita (2). **Obr.1a** Velice málo informací se v literatuře objevuje o nekončetinovém lymfedému. Rozvinutý lymfedém je charakteri-

zován tuhým otokem měkkých tkání v různých částech hrudníku nebo oblasti epigastria, který vede až k asymetrii hrudníku či prsou a může být i kosmetickým problémem. Projevem latentního lymfedému může být pouze bolest nebo tlak různé intenzity, které se často objevují ještě před rozvojem otoku. Lokalizace místa bolesti či pocitu určitého dyskomfortu mohou být problematické a mohou být i vzdálené od operačního pole. Tyto obtíže se do značné míry shodují s potížemi typickými pro postmastektomický syndrom, takže lymfedém hrudní stěny je často chybně diagnostikován nebo není diagnostikován vůbec (3,4). Cílem naší práce bylo ověřit, zda lymfoscintigrafické vyšetření může u pacientek se suspektním nekončetinovým lymfedémem přispět k posouzení lymfatické drenáže.



Obr. 1a: Lymfedém břišní stěny u pacientky po pravostranné mastektomii s axilární disekcí.

Soubor nemocných a metoda

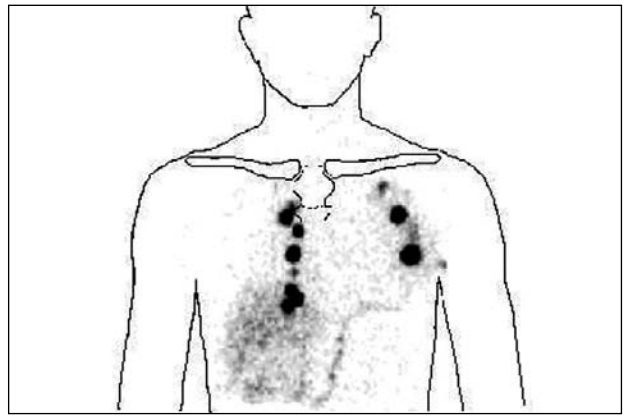
V různém časovém odstupu po komplexní léčbě karcinomu prsu bylo vyšetřeno 42 pacientek ve věku 41-81 let (průměr 59 let), u kterých bylo na podkladě anamnézy nebo klinického vyšetření vysloveno podezření na nekončetinový lymfedém. Všechny podstoupily chirurgický výkon, na který navazovala podle stádia onemocnění chemoterapie a/nebo radioterapie a/nebo hormonální terapie. Rozsah výkonu na prsu byl dán velikostí primárního nádorového ložiska (totální nebo parciální mastektomie), vždy doplněný disekcí axily I. a II. etáže. U 10/42 pacientek bylo s odstupem nejméně půl roku provedeno kontrolní lymfoscintigrafické vyšetření. 2x20 MBq ^{99m}Tc -S-koloidu (preparát Lymphoscint®) nebo ^{99m}Tc -koloidu lidského albuminu (preparát Nanoalbumon) o objemu 0,1-0,2 ml bylo subkutánně aplikováno do dolní části hrudní stěny, cca 3 cm nad úroveň pupku. Aplikace byla provedena podle lokalizace obtíží do medioklavikulární, přední, střední nebo zadní axilární čáry. Statické snímky hrudníku v přední a příslušné boční projekci a snímek třísel byly provedeny za 3 hodiny po aplikaci radiofarmaka na gamakameře Sophy DXT nebo DST-XLI vybavené kolimátorem LEHR. Snímky byly nahrávány v matici 128x128 po dobu 3-5 minut, peak 140 keV, W 20%. Místa aplikace byla stíněna destičkou z olova. Na doplňujících snímcích bylo pomocí radioaktivního markeru vyznačeno jugulum, prsní kost, prsa, klíční kosti a ramena, umožňující přesnější interpretaci nálezu.

Výsledky

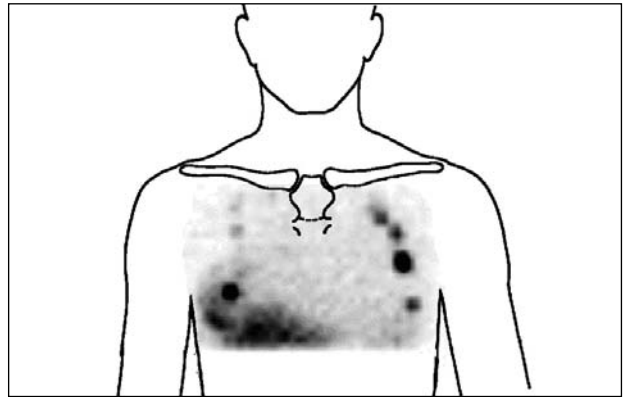
U 11/42 pacientek nebyl prokázán transport radiofarmaka z místa aplikace. U 31/42 pacientek byla zobrazena drenáž do ipsilaterálních parasternálních uzlin, kontralaterálních axilárních uzlin, vzácněji do horních axilárních nebo nadklíčkových ipsilaterálních uzlin nebo do uzlin tříselných, často v různých kombinacích. U 11/42 pacientek se zobrazil lymfedém operovaného prsu. Jeho projevem je difúzní nebo nehomogenní městnání radiofarmaka v podkoží prsu. Po léčbě byla u 10 pacientek provedena kontrolní lymfoscintigrafie, která u 7 pacientek prokázala zlepšení nálezu (zobrazení většího počtu lymfatických uzlin, drenáž většího množství radiofarmaka do uzlin nebo drenáž do další lymfatické spádové oblasti). **Obr.1b, 2,3a**

Diskuse

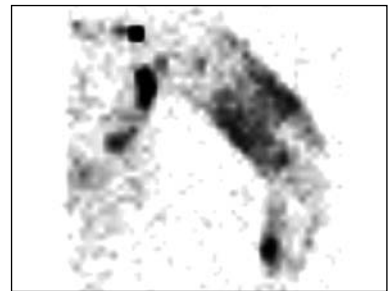
V souboru více než 400 pacientek po komplexní terapii karcinomu prsu jsme mimokončetinový lymfedém diagnostikovali u 9,5 % nemocných. K rozvoji symptomatologie dochází v různém časovém odstupu od operace a/nebo radioterapie. Nekončetinový lymfedém se může vyskytovat samostatně



Obr 1b: Lymfoscintigrafie u pacientky 1a, provedena po aplikaci radiofarmaka do medioklavikulární a přední axilární čáry vpravo. Zobrazuje se drenáž do parasternálních uzlin vpravo a do kontralaterálních axilárních uzlin. Fyziologická akumulace v jaterním parenchymu.



Obr. 2: Pacientka po pravostranné parciální mastektomii s axilární disekcí. Lymfoscintigrafie provedena po aplikaci radiofarmaka do medioklavikulární a přední axilární čáry vpravo. Zobrazuje se lehký lymfedém pravého prsu. Větší množství radiofarmaka je drénováno do kontralaterálních axilárních uzlin, malé množství do homolaterálních axilárních uzlin.



Obr.3: Pacientka po levostranné ablaci s následnou radioterapií a chemoterapií. Po radioterapii opakovaně punkce séromu v jizvě (4-15 ml). Lymfoscintigrafie levé horní končetiny zobrazuje nehomogenní městnání radiofarmaka v podkoží celé končetiny s maximem na paži (obraz lymfedému) s drenáží části radiofarmaka z končetiny do laterální části hrudní stěny pod axilou, která byla příčinou séromu.

nebo spolu s lymfedémem homolaterální horní končetiny. Projevuje se bolestí a/nebo otokem operovaného prsu, měkkých tkání laterální části hrudní stěny, oblasti axily, lopatky, nadklíčku nebo výjimečně i epigastria. Dalším příznakem počínajícího lymfedému může být snížená citlivost, píchání a pálení, kůže v místě lymfedému může být teplejší a sušší. V některých případech tyto příznaky nápadně připomínají symptomatologii typickou pro latentní stádium lymfedému na končetině, bolest je však obvykle výraznější než u končetino-

vého lymfedému. Základními předpoklady pro stanovení správné diagnózy jsou detailní anamnéza a důkladné klinické vyšetření, které doplňujeme lymfoscintigrafií hrudní stěny. Lymfoscintigrafie je jednoduchá, neinvazivní metoda s nízkou radiační zátěží. Radiofarmakum koloidní povahy se po intersticiální aplikaci selektivně vstřebává do přilehlých lymfatických kapilár a následně je transportováno mízním řečištěm do regionálních lymfatických uzlin, v nichž může být částečně fagocytováno buňkami retikuloendotelového systému nebo je pouze pasivně zadrženo v sinusoidech. Část radiofarmaka se s lymfou dostává do venosního řečiště a je akumulována v retikuloendoteliálních buňkách jater a sleziny. Projevem lymfedému prsu nebo hrudní stěny je difuzní městnání radiofarmaka v podkoží postižené oblasti. Pokud je v důsledku chirurgické disekce nebo radioterapie lymfatická drenáž do axily přerušena, může se při lymfoscintigrafii zobrazit alternativní drenáž do uzlin jiné oblasti, pokud k jejímu vytvoření přes lymfatické anastomózy došlo. Alternativní drenáž směřuje nejčastěji do ipsilaterálních

parasternálních uzlin nebo do kontralaterálních axilárních uzlin, vzácněji do homolaterálních nadklíčkových uzlin nebo uzlin vysoko v axile a ojediněle i do homolaterálních inguinálních uzlin. Informace o alternativní cestě lymfatické drenáže může být důležitá i pro lymfoterapeuta, kterému ukáže cestu pro provádění efektivní manuální lymfodrenáže.

Opatrnosti je třeba při hodnocení chybějícího zobrazení homolaterálních axilárních uzlin, které nelze považovat za projev lymfedému. Jak prokázal ve své práci Bourgeois na souboru 756 žen (5), nebyly axilární uzliny zobrazeny u 34% populace, a to častěji na levé (37%) než na pravé straně (31%). Absence lymfatické drenáže do axilárních uzlin byla častěji zaznamenána u žen ve věku nad 50 let (38%) ve srovnání s ženami mladšími (28%).

Na možnost rozvoje nekončetinového lymfedému je třeba myslet nejen u pacientek po terapii karcinomu mammy, ale i po diagnostické axilární disekci nebo exstirpaci akcesorní mléčné žlázy v axile.

Literatura

1. Petrek J.A., Heelan M.C.: Incidence of breast carcinoma-related lymphedema. *Cancer*. 1998, 15, 83 (12 Suppl American):2776-81.
2. Kocak Z, Overgaard J. Risk factors of arm lymphedema in breast cancer patients. *Acta Oncol* 2000, 39: 389-392.
3. Wald M., Eliska O., Hoch J., Krđzova H.: Thoracic - and Abdominal Wall Lymphedema following Surgery of the Breast and Axilla. *Progress in Lymphology XVIII-2, Lymphology* 35 (Suppl 2), 2002/3: 1-472.
4. Wald M., Eliska O., Krizova H.: Non-extremity lymphedema following axilla dissection and radiotherapy and its relationship to the postmastectomy syndrome. *Progress in Lymphology XIX Lymphology* 37 (Suppl.), 2004: 1-717.
5. Bourgeois P.: Effects of age and lateralization on lymphoscintigraphic interpretation. *Nucl Med Commun*. 2002, 23 (3):257-60.

Došlo: 22. 2. 2006
Přijato: 27. 3. 2006

TRANSKATETROVÁ CHEMOEMBOLIZACE V LÉČBĚ METASTATICKÉHO POSTIŽENÍ JATER ZHOUBNÝM NÁDOREM (KROMĚ METASTÁZ KOLOREKTÁLNÍHO KARCINOMU).

CHEMOEMBOLISATION OF LIVER MESTASES (OTHER THAN OF COLORECTAL CARCINOMA)

ŠVĚBIŠOVÁ H.¹, CWIERTKA K.¹, ČERNÁ M.², KOCHER M.², NEORAL Č.³, HAVLÍK R.³, HEŘMAN M.²

¹ONKOLOGICKÁ KLINIKA FN OLOMOUC,

²RADIOLOGICKÁ KLINIKA FN OLOMOUC,

³I. CHIRURGICKÁ KLINIKA FN OLOMOUC,

Souhrn

Cíl. Chemoembolizace je jednou z možností paliativní léčby inoperabilního hepatocelulárního karcinomu a metastatického postižení jater. Zjištění metastatického postižení jater jiným nádorovým onemocněním než metastázami kolorektálního karcinomu, karcinomu prsu či testikulárního nádoru znamená pro nemocného téměř vždy infaustní prognózu. Cílem práce je zhodnocení efektu a nežádoucích účinků transkatetrové chemoembolizace. **Materiál a metodika:** V období od června 1999 do září 2005 bylo chemoembolizací léčeno celkem 7 nemocných s metastatickým postižením jater (kromě metastáz kolorektálního karcinomu). V tomto souboru byly 4 ženy a 3 muži ve věku 59-68 roků, medián 60 let. Dvě pacientky měly histologicky ověřené metastázy karcinomu žaludku, tři pacienti primárně inoperabilní karcinom žlučníku s metastázami v játrech a dva pacienti metastázy adenokarcinomu - neznámé primární ložisko. Selektivně, respektive superselektivně byla při vlastní chemoembolizaci aplikována suspenze olejové kontrastní látky Lipiodolu® (8-15ml) a cytostatika doxorubicinu v dávce 50 mg. U některých pacientů byly na závěr embolizovány tepny zásobující tumor Gelasponem R. Celkem bylo provedeno 16 chemoembolizací. **Výsledky:** Medián doby do progresse byl 4 měsíce (2-27 měsíců), medián celkového přežití byl 8 měsíců (2-29,4 měsíce). U jedné pacientky s metastázami karcinomu žaludku do jater došlo ke stabilizaci nemoci na dobu delší než dva roky. Čtyři ze sedmi nemocných měli před zahájením léčby subjektivní potíže, u všech těchto pacientů došlo k vymizení potíží po chemoembolizaci. Ústup potíží po transkatetrové chemoembolizaci nebyl následován poklesem nádorových markerů a delší stabilizací nemoci. Ve skupině sedmi pacientů u čtyřech došlo k poklesu nádorových markerů o více než 50% a u těchto nemocných byla sledována delší stabilizace nemoci (4-27 měsíců). Při hodnocení léčebného efektu podle CT nedošlo u žádného pacienta ke zmenšení lézí o více jak 50%. Zjistili jsme vztah mezi stupněm sycení nádorové léze Lipiodolem a léčebnou odpovědí: U čtyřech ze sedmi pacientů, u kterých došlo k výraznému sycení nádorových ložisek a současně poklesu nádorových markerů o více než 50%, byla sledováno signifikantně delší stabilizace nemoci (4, 9, 11 a 27 měsíců) než u zbylých tří nemocných (3,2,2 měsíce). U dvou nemocných se objevil postchemoembolizační syndrom, který nevedl k prodloužení hospitalizace. Chemoembolizace byla u všech pacientů jedinou léčebnou modalitou. **Závěr:** Chemoembolizace může mít svou roli v paliativní léčbě jaterních metastáz. Tato metoda může být spojena s měřitelnou léčebnou odpovědí u vybraných pacientů. Náš soubor pacientů je velmi malý, ale v literatuře jsme našli podobný hodnotitelný soubor. Z TACE mohou profitovat nemocní, u kterých vznikly metastázy v játrech za dlouhou dobu po operaci primárního tumoru. Prediktivním faktorem pro odpověď na TACE by mohla být míra sycení nádorových ložisek Lipiodolem® a pokles nádorových markerů.

Klíčová slova: metastázy v játrech - chemoembolizace - paliativní léčba

Summary

Objective: We evaluated the effectiveness of transcatheter arterial chemoembolisation in patients with unresectable liver metastases. **Materials and methods:** Between June 1999 and September 2005 chemoembolisation was performed in seven patients with no colorectal cancer metastases, 3 men and 4 women, average age 60 (range 59-68 years). Two patients had histologically confirmed metastases of adenocarcinoma of the stomach, three had metastases of unresectable gallbladder adenocarcinoma and two had metastases adenocarcinoma of unknown primary. Chemoembolisation was performed selectively or superselectively with a suspension of Lipiodol® (8-15ml) and doxorubicine® 50 mg. Chemoembolisation was followed by gelatin sponge embolisation in selected patients from this group. The total number of chemoembolisations was 16 in 7 patients. **Results:** Median time to progression was 4 (2-27) months, median overall survival was 8 (2-29,4) months. No progression for more than 2 years has been observed in one patient with stomach cancer metastases. There was complete relief of symptoms in four symptomatic patients. There was a decrease a tumour marker serum concentration, to more than a half of initial concentration in 4 patients, which was associated with prolonged survival. These 4 patients showed high

saturation of Lipiodol® in metastatic lesions on CT scans, there was no progression of disease observed for 4, 9, 11 and 27 months. Postchemoembolisation syndrome occurred in 2 patients and did not require prolonged hospital stay. All patients were treated with chemoembolisation only. **Conclusions:** Chemoembolisation is feasible and effective palliative treatment of liver metastases in patients who are not indicated for liver resection or systemic chemotherapy. Chemoembolisation was more effective in patients who developed liver metastases long time after resection of the primary tumor. Predictive factors of response to treatment with TACE are Lipiodol® uptake in the metastases and decrease of tumour marker concentrations.

Key words: Liver metastases - chemoembolisation - palliative treatment

Úvod

Metastázy v játrech patří k velmi často řešeným problémům u pacientů s nádorovým onemocněním. Kromě nádorů zažívacího traktu do jater metastazují nádory plic, prsu, sarkomy měkkých tkání. Solitární metastáza v játrech je typická pro nádory ledvin a melanoblastom.

V naší práci se snažíme zhodnocením léčebných výsledků našeho souboru pacientů odpovědět na několik otázek. První je bezpečnost tohoto výkonu a jeho nežádoucí vedlejší účinky označované souhrnně jako postchemoembolický syndrom - PES. Dále nás zajímalo, zda dojde k tak výraznému zmenšení nádorového postižení, že by sekvenčně mohlo dojít k radikálnímu chirurgickému řešení tohoto nádorového postižení. Zajímalo nás také, jaký typ nádorového postižení a v závislosti na jakých faktorech bude mít profit z této léčebné modalit. Otázkou diskutovanou v odborné literatuře a zajímající i nás je možnost opakování transkatetrové chemoembolizace (TACE) a vhodnost její kombinace s jinými léčebnými postupy.

Základní léčebnou modalitou u primárního i sekundárního postižení jater je chirurgický výkon, který může mít za určitých podmínek kurativní charakter - například transplantace jater. I parciální chirurgický výkon na játrech může být optimální léčebnou metodou pro většinu primárních a sekundárních nádorů jater, který může vést k výraznému prodloužení života nebo k vyléčení nemocného. Přes zvyšování agresivity chirurgických postupů je ale jen malé procento jaterních lézí vhodných k resekcí (1) Další léčebné možnosti řešení primárního a sekundárního postižení jater chirurgem jsou excize, enukleace, segmentektomie, lobektomie nádoru. Při izolovaném postižení jater synchronní či metachronní solitární metastázou by měla být vždy závažná chirurgická intervence. K paliativním výkonům se řadí perkutánní alkoholizace ložiska, kryodestrukce, radiofrekvenční ablace, laserová koagulace, radio-terapie, chemoterapie regionální, a systémová, hormonální léčba a imunoterapie. Při volbě léčby se řídíme charakteristikami tumoru a stavem zbylého jaterního parenchymu, to znamená TNM klasifikací a Child - Pughovou klasifikací.

Metastatické postižení jater patří (jak již bylo uvedeno) k velmi často řešeným problémům v onkologii. Jaterní metastázy jsou přítomné u 20 % nově diagnostikovaných pacientů s kolorektálním karcinomem (CRC) a v polovině těchto případů jsou játra jediným místem metastatického postižení. Přibližně u 60% nemocných, kteří zemřou na CRC, se během jejich nemoci objeví metastázy v játrech (2,3,4). Metastázy jiného primárního nádorového onemocnění do jater chirurgicky neřešitelné mohou znamenat u některých diagnóz (karcinom prsu, testikulární karcinom) indikaci k systémové cytostatické terapii. Metastázy ostatních zhoubných nádorů (například karcinom plic, sarkomy měkkých tkání) chirurgicky neřešitelné jsou většinou známkou infaustní prognózy nemocného. V našem souboru sedmi nemocných s metastázami do jater jiného nádoru než CRC a nebo metastázami nádoru neznámého primárního ložiska hodnotíme léčebné výsledky po TACE těchto metastáz.

Materiál a metody

V období od června 1999 do září 2005 bylo na našem pracovišti léčeno transkatetrovou chemoembolizací celkem 31 nemocných. U dvanácti nemocných šlo o primárně inoperabilní hepatocelulární karcinom, u dalších 12 nemocných byly diagnostikovány metastázy CRC a u sedmi nemocných metastázy jiného primárního nádoru než CRC a metastázy nádoru neznámého primárního ložiska.

V souboru sedmi nemocných byli 4 ženy a 3 muži ve věku 59-68 roků (medián 60 let) - tab.1 U všech pacientů byl nález na játrech ověřen histologicky - u všech byl diagnostikován adenokarcinom. U nikoho z nich nebyl před léčbou chemoembolizací proveden chirurgický výkon, nálezy byly u všech lokálně inoperabilní. Pravý lalok jaterní byl postižen u pěti nemocných, dva nemocní měli postiženy oba jaterní laloky - každý s jednou metastázou (tab.1). U dvou pacientů šlo o metastázu adenokarcinomu žaludku, u třech nemocných byl diagnostikován primárně inoperabilní karcinom žlučníku s metastatickým postižením jater a u dvou pacientů metastázy adenokarcinomu, jehož primární ložisko nebylo zjištěno. Celkem bylo provedeno 16 TACE, u 3 nemocných 1x, u 2 nemocných 2x, u 1 nemocné 4x a u 1 nemocného 5x (tab.2). U žádného pacienta nebyla léčba kombinována s jinou léčebnou modalitou.

Tabulka č. 1.: Základní charakteristika souboru

	Věk	Počet pacientů	%
50-60		4	57,1
>60		3	42,8
	Pohlaví		
Muži		3	42,8
Ženy		4	57,1
	Rozsah postižení jater		
Pravý lalok		5	71,4
Oba laloky solitární léze		2	28,5

Při hodnocení funkčního stavu jater splňovali všichni pacienti kritéria pro hodnocení Child A. Při hodnocení performance statusu měli tři pacienti PS 0, tři pacienti PS 1 a dva pacienti PS 2.

Tabulka č.2.: Počet TACE u pacientů s metastázami v játrech jiného primárního tumoru než CRC a incidence postchemoembolického syndromu (PES)

TACE	Počet pacientů	%	PES	Počet pacientů	%
1 x	3	42,8	Ano	2	28,5
2 x	2	28,5	Ne	5	71,4
4 x	1	8,3			
5 x	1	8,3			

K chemoembolizaci byli indikováni nemocní s maligním procesem v játrech, který nebylo možno řešit radikálně chirurgicky. Pacienti byli hospitalizováni na onkologické klinice

FNO, průměrná délka hospitalizace byla tři dny. Vlastní výkon byl prováděn na oddělení angiografie a intervenční radiologie radiologické kliniky FNO. Pacient měl před každou TACE základní vyšetření (anamnéza, klinické vyšetření, krevní obraz a diferenciál, biochemie krevního séra, Quick, INR, EKG) a CT jater. Před výkonem bylo pacientovi podáno antihistaminikum bisulepin formou krátké intravenózní infuze jako prevence alergické reakce při výkonu. Po uložení nemocného na vyšetřovací stůl byla provedena nejdříve lokální anestezie oblasti pravého třísla 10 ml 1% MesocainuR. Poté cestou arteria femoralis vpravo byl zaveden vodič katetru do odstupu truncus coeliacus či horní mezenterické arterie a následně byly katetrizovány hepatické arterie a jednotlivé lobární či segmentární větve zásobující tumorózní tkáň. Před aplikací suspenze byla vždy prováděna angiografie, která ozřejmila anatomickou strukturu přírodních cév do tumoru a jejich anomálie (u nemocných, kteří absolvovali TACE poprvé). U nemocných, kteří již TACE absolvovali, ukázala angiografie aktuální velikost nádorového ložiska a hlavně jeho vaskularizaci. Tato informace byla extrémně důležitá pro rozvahu, jak velký objem suspenze bude nutné aplikovat. Po angiografii byla provedena selektivní, respektive superselektivní aplikace suspenze. Dávka aplikovaného cytostatika (doxorubicinu) byla jednotná u všech nemocných, a to 50 mg. Cytostatikum ve formě suché substance se před vlastní aplikací ředilo vodou pro injekce tak aby celkový objem a tomu odpovídající koncentrace roztoku odpovídala velikosti nádorového ložiska a míře jeho prokrvení. Objem vody pro injekce byl v rozmezí 5-10 ml. Takto vzniklý roztok byl smíchán s olejovou kontrastní látkou (LipiodolemR) a tato suspenze byla aplikována pod skiagrafickou kontrolou cestou katetru přímo do nádoru. Množství LipiodoluR se řídilo velikostí a vaskularizací ložiska v játrech a bylo 5-20 ml. Na závěr se u čtyřech pacientů, u kterých nebyl tok v tepnách dostatečně obleněn, provedla embolizace přírodních tepen želatinovou hmotou (GelasponR). Celý výkon probíhal pod skiagrafickou kontrolou metodou digitální subtrakční angiografie (DSA). Pacient byl po výkonu 24 hodin observován. Následující den po TACE bylo provedeno kontrolní CT vyšetření jater bez podání kontrastní látky ke zjištění rozložení LipiodoluR v játrech. Pokud byl pacient bez potíží, byl po CT vyšetření propuštěn domů. Kontrolní CT vyšetření jater s podáním kontrastní látky bylo provedeno většinou za 1-1,5 měsíce po výkonu a podle aktuálního nálezu se určoval další postup. V našem souboru jsme se zaměřili na hodnocení ovlivnění jednotlivých symptomů postižení jater zhoubným novotvarem, léčebnou odpověď dle CT vyšetření jater a nádorových markerů, komplikace léčby a dále dobu do selhání léčby a celkové přežití od stanovení sekundárního postižení jater. Ovlivnění symptomologie (celková slabost, nechutenství, bolesti pod pravým obloukem žeberním, teploty, hubnutí) bylo hodnoceno s odstupem 4-5 týdnů po předchozí TACE s použitím následující čtyřbodové stupnice:

- 0 - vymizení symptomu
- 1 - výrazné zmírnění symptomu
- 2 - nezměněná intenzita symptomu
- 3 - zhoršení symptomu

Data byla získávána formou dotazu během každé návštěvy a byla zaznamenána do zdravotní dokumentace.

Při hodnocení odpovědi nádoru na léčbu dle CT vyšetření jsme použili následující čtyřbodovou stupnici podle WHO:

- 0 - vymizení nádorových změn
- 1 - zmenšení nádoru
- 2 - beze změny
- 3 - progresse

Výsledky

Medián doby do progresse onemocnění byl 4 (2-27 měsíců). U jedné pacientky s metastázami karcinomu žaludku došlo ke stabilizaci nemoci na dobu delší než dva roky. Medián celkového přežití byl 8 (2-29,4 měsíce) - tabulka 4. U dvou nemoc-

ných se objevil PES (tab.2). Před zahájením léčby měli potíže celkem 4 pacienti ze sedmi. Jeden pacient si stěžoval na celkovou slabost, tři pacienti si stěžovali na nechutenství a 2 si stěžovali na teploty nad 38°C. Jeden symptom se objevil u 2 pacientů, dva symptomy současně měli 2 pacienti.

U pacienta, který si stěžoval na celkovou slabost, došlo k úplnému vymizení symptomu.

U všech tří pacientů, kteří si stěžovali na nechutenství, došlo k úplnému vymizení symptomu. U obou pacientů, kteří si stěžovali na teploty vyšší než 38°C došlo k úplnému vymizení symptomu. Výsledky jsou přehledně uvedeny v tabulce 3.

Tabulka č. 3: Pacienti s metastatickým postižením jater jiným primárním nádorem než CRC - ovlivnění symptomů

	počet	CR	PR	RR	Beze změn	Zhoršení
Slabost	1	1	0	1/1	0	0
Nechutenství	3	3	0	3/3	0	0
Teploty	2	2	0	2/2	0	0

Nežádoucí vedlejší účinky transkatetrové chemoembolizace jsou popisovány jako postchemoembolický syndrom (PES). Tento syndrom zahrnuje bolesti pod pravým obloukem žeberním, nevolnost, zvracení, meteorismus, diarrehu, zvýšení krevního tlaku, subfebrilie až teploty, elevaci jaterních testů. PES se v našem souboru pacientů vyskytl u 2 ze 7 pacientů (tab.4). K ústupu potíží došlo do 24 hodin po výkonu.

U žádného pacienta nebyl PES důvodem k přerušení či ukončení léčby. Zjistili jsme, že pokud se u nemocného objevil po první TACE postchemoembolický syndrom, potom každou další TACE zvládal pacient s mírnějšími potížemi, nebo vůbec žádnými. Podíl na tomto faktu bude mít pravděpodobně skutečnost, že pokud se u nemocného objevil PES po první TACE, potom byl pacient preventivně medikován tak, aby známé potíže v souvislosti s TACE nevznikly. Tato skutečnost spolu s faktem, že žádný z našich pacientů neměl závažné nebo fatální komplikace z této paliativní léčebné metody by mohla přispívat k tvrzení, že TACE je bezpečná léčebná metoda.

Tabulka č. 4: Léčebné výsledky u všech sedmi nemocných léčených pro metastázy v játrech jiného primárního nádoru než CRC

Pacient (diagnóza)	PS	Počet TACE	PES	Nádorové markery	Stabilizace nemoci	Celkové přežití
Neznámé prim. ložisko	1	2	1x	Pokles o >50%	4 měsíce	8 měsíců
Meta karcinomu žaludku	0	4	0	Pokles o >50%	27 měsíců	29,4 měsíce
Meta karcinomu žaludku	0	1	0	Pokles o <50%	3 měsíce	4,1 měsíce
Karcinom žlučníku	2	1	0	Beze změny	2 měsíce	3 měsíce
Karcinom žlučníku	1	5	2x	Pokles o >50%	9 měsíců	10,1 měsíce
Karcinom žlučníku	1	2	0	Beze změny	2 měsíce	3 měsíce
Neznámé prim. ložisko	0	1	0	Pokles o >50%	11 měsíců	12 měsíců

Hodnocení efektu léčby pomocí CT.

U všech pacientů bylo po každé TACE zhotoveno za 4-6 týdnů kontrolní CT vyšetření jater s podáním kontrastní látky. U žádného z nemocných nedošlo k tak výraznému zmenšení nádorového ložiska, aby se efekt léčby dal hodnotit jako partiální odpověď. Léčebnou odpověď ve smyslu poklesu nádorových markerů a zmírnění nebo úplného vymizení potíží jsme zaznamenali u nemocných, u kterých došlo po TACE k výraznému sycení nádorové tkáně LipiodolemR a výraznému ohraničení nádorového ložiska. Takovouto korelaci mezi léčebnou odpovědí a nálezem na CT, jak je popsáno, jsme zaznamenali u 4 pacientů.

Hodnocení efektu léčby dle hodnoty nádorových markerů.

U nemocných s metastázami v játrech původu jiného než CRC byl pohyb nádorových markerů (CEA, TPA, CYFRA 21-1) sledovatelný a signifikantní pro léčebnou odpověď nebo rezistenci k léčbě. V této skupině 7 pacientů došlo u 4 nemocných k poklesu nádorových markerů o více než 50%. U těchto čtyřech nemocných byl pokles nádorových markerů spojen s delší stabilizací nemoci, než u nemocných bez tohoto znaku.

Léčebné výsledky jsou shrnuty v tabulce 4. Pacient s nově diagnostikovaným karcinomem žlučníku nebo žaludku s metastázami do jater může průměrně přežít bez léčby 2-6 měsíců. Dva ze čtyř nemocných s touto diagnózou uvedených v tabulce 4 profitovali z TACE, a to významně - přežití 29,4 měsíce u metastáz karcinomu žaludku a 10,1 měsíce u karcinomu žlučníku. Oba dva pacienti s metastázami adenokarcinomu neznámého primárního ložiska z této léčby měli benefit - celkové přežití bylo 8 a 12 měsíců, přičemž u obou pacientů došlo k poklesu nádorových markerů o více než 50% již po první TACE. U zbylých dvou pacientů léčba neměla větší efekt, pravděpodobně i díky horšímu PS u obou nemocných. Indikace k TACE u jednoho pacienta s jaterními metastázami karcinomu žlučníku a PS 2 (tab.4) byla hraniční. U tohoto nemocného vedla jedna TACE ke stabilizaci onemocnění na 2 měsíce, celkově přežíval 3 měsíce. Věk nemocných neměl na indikaci k TACE žádný vliv.

Diskuse

V této práci jsme se snažili vyhodnotit naše zkušenosti s transkatetrovou chemoembolizací u sekundárního nádorového postižení jater kromě metastáz kolorektálního karcinomu.

U třech nemocných s karcinomem žlučníku nebyla indikována systémová cytostatická léčba vzhledem k očekávané primární rezistenci tohoto typu onemocnění k cytostatické léčbě a u jednoho z nich navíc i z důvodu horšího PS. Ostatní pacienti cytostatickou léčbu odmítli. Všichni nemocní byli plně informováni o svém zdravotním stavu, byli informováni o léčebném výkonu (TACE) a všichni podepsali informovaný souhlas.

Nejvíce literárních zdrojů se týká TACE u primárně inoperabilního či recidivujícího hepatocelulárního karcinomu jako jediné léčebné metody (10,12,13, 14,15,17,18). Léčebný efekt doxorubicinu podaného do jaterních lézí na základě in vitro a in vivo analýzy popisuje Kruskal (9). Podání jiného cytostatika, respektive kombinace cytostatik, cestou TACE (13) a aplikace epinefrinu před podáním doxorubicinu při TACE (19) jsou dalšími modifikacemi tohoto výkonu. Tyto léčebné postupy vedou podle autorů (13,19) ke zlepšení léčebné odpovědi, nikoli však ke statisticky prokazatelnému prodloužení celkového přežití u nemocných s HCC. Oproti tomu Kamada (20) na souboru 134 pacientů s primárně inoperabilním HCC prokázal zlepšení přežití ve skupině nemocných, u kterých byla při TACE použita cisplatina (tří- a pětileté přežití 41% - 19%) oproti nemocným, kterým byl podán při TACE doxorubicin (tří- a pětileté přežití 18% - 0%). Kamada (20) také sledoval delší přežití u nemocných, u kterých nádorová ložiska dobře akumulovala Lipiodol R. Statisticky signifikantně delší přežívání je popisováno u nemocných s HCC, u kterých je TACE kombinována s jinými léčebnými modalitami (5,6,7). TACE může být indikována v rámci neoadjuvantní terapie před transplantací jater (5). Dále je popisováno její použití před kryoterapií u nemocných s HCC v cirhoze (6). Autoři (6) popisují na souboru 15 nemocných s HCC v cirhoze snížení rizika krvácení po kryoterapii, pokud kryoterapii předcházela TACE. Naopak TACE může zvýšit riziko jaterního selhání u takto léčených nemocných se zhoršenou funkcí jater (Child B). Allgaier (7) ve své práci hodnotí léčebné výsledky u 132 nemocných s primárně inoperabilním HCC. Autor prokázal statisticky signifikantně delší dobu přežívání u nemocných léčených kombinací TACE + perkutánní alkoholizací (PEI) ve srovnání se skupinami léčenými jen TACE, jen PEI a nebo jen nejlepší

podpůrnou péčí. Yamada (11) na souboru 120 nemocných s primárně inoperabilním HCC popisuje vztah mezi léčebnou odpovědí a stupněm sycení nádorové tkáně Lipiodolem R. Pacienti, u kterých došlo k výraznému sycení nádorového ložiska, měli statisticky delší dobu přežití než nemocní bez tohoto znaku. Tuto skutečnost jsme sledovali i u naší skupiny sedmi nemocných.

Méně často se TACE užívá dle literárních zdrojů u jaterních metastáz kolorektálního karcinomu (1). Tellez (14) hodnotí efekt TACE u nemocných s jaterními metastázami CRC, u kterých selhala jedna nebo více linií předchozí systémové léčby cytostatiky. Třicet nemocných mělo 1 až 3 TACE, při které byl aplikován doxorubicin, mitomycin C a cisplatina. Přesto, že u více než 63 % nemocných došlo ke zmenšení nádorových ložisek a také zvýšenému sycení lézí, léčebná odpověď byla přechodná a medián přežití pro všechny pacienty byl 8,6 měsíce od první TACE. Autor hodnotí tuto metodu jako bezpečnou, s minimem nežádoucích vedlejších účinků, nicméně málo efektivní u této skupiny nemocných. Závěrem udává, že ke zlepšení léčebného efektu by mohlo přispět zvýšení počtu TACE u jednoho pacienta. Proye (21) hodnotí úlohu TACE u metastáz neuroendokrinních nádorů pankreatu do jater. Podle autora TACE nepřispívá ke zlepšení přežívání nemocných, může však významně zmírnit klinickou manifestaci potíží, které jsou obtížně ovlivnitelné medikamentózně, a které souvisí s nekontrolovatelnou produkcí hormonů nádorovými buňkami.

Při hodnocení našich výsledků nás překvapilo relativně dlouhé přežití u jedné nemocné s metastázami adenokarcinomu žaludku v játrech. Významný efekt TACE na celkové přežití můžeme vysvětlit tím, že metastázy adenokarcinomu žaludku v játrech byly diagnostikovány náhodně za 18 měsíců po primární operaci žaludku, která byla považována za radikální. Rougier (22) na 544 pacientech s metastázami CRC popsal faktory, které mohou nezávisle ovlivňovat přežití nemocných. Kromě jiných k těmto faktorům patří odstranění primárního tumoru, performance status a hladina sérové alkalické fosfatázy. Výše uvedená pacientka byla po radikální operaci primárního tumoru, měla PS 0 a fyziologickou hladinu alkalické fosfatázy. Ne očekávaně dlouhé přežití u pacienta s karcinomem žlučníku a metastázami v játrech by se dalo vysvětlit poklesem nádorových markerů po celkové pěti TACE, a tedy málo očekávaným efektem této léčebné modality. Stabilizace nemoci trvala u tohoto nemocného celých 9 měsíců, z nichž při průměrné délce hospitalizace tři dny a PS 1 strávil pacient v nemocnici celkem 15 dnů, dokud nedošlo k rychlé lokální progresi nemoci a úmrtí na jaterní selhání.

Pokud hodnotíme bezpečnost TACE jako paliativní léčebné metody, můžeme říct, že TACE samotná může být bezpečnou léčebnou metodou. V souboru našich sedmi nemocných jsme pozorovali pouze u dvou nemocných postchemoembolizační syndrom. (tab.2), který nevedl k prodloužení hospitalizace a neměl fatální následky. Ani opakování TACE nezvyšovalo jeho incidence, spíše naopak u obou nemocných s PES jsme pozorovali při opakování tohoto výkonu lepší toleranci výkonu. Tento fakt by se mohl zdůvodnit lepší pre- a postmedikací známých potíží při opakování TACE. U žádného pacienta v našem souboru nedošlo k úmrtí do 30 dnů po výkonu.

Leung (23) hodnotí PES u 29 nemocných s primárně inoperabilním HCC po celkem 70 TACE. Závěrem této práce je, že opakování TACE je spojeno se snížením rizika PES a zkrácením doby hospitalizace nemocných. Naopak embolizace arterie zásobující žlučník a výše podané dávky cytostatika jsou spojeny se statisticky signifikantně vyšší pravděpodobností vzniku PES a prodloužení hospitalizace. Harris (20) hodnotí soubor 21 nemocných s HCC, u kterých bylo provedeno celkem 36 TACE. U 11 z 21 nemocných bylo nutné prodloužení hospitalizace pro komplikace související s chemoembolizací. U jednoho nemocného bylo popsáno reverzibilní akutní renální selhání pro nefrotoxický efekt cisplatinu a současnou dehy-

drataci při protrahované nevolnosti. U jednoho nemocného byly popsány bolesti břicha a následně diagnostikována žaludeční ulcerace jako následek chemomebolizace levé arteria gastrica. Toxicita v tomto souboru nemocných byla pravděpodobně způsobena množstvím aplikovaného cytostatika (50 mg cisplatina, 50 mg epirubicin, 10 mg mitomycin C), což koreluje se závěrem Leunga (23).

Clavien (6) na souboru 15 nemocných s HCC v cirhoze hodnotí bezpečnost kryoterapie a následně TACE. Celkem 14 z 15 nemocných mělo jednu nebo více TACE před kryoterapií.

Pacient, který neměl TACE, musel být reoperován pro krvácení po kryoterapii. Závěrem této práce je, že kryoterapie po předchozí TACE je efektivní a dobře tolerovanou léčbou u vybraných nemocných s HCC v cirhoze, kteří nejsou indikováni k chirurgickému výkonu.

Patel (1) hodnotí na souboru 27 nemocných s metastázami CRC v játrech bezpečnost TACE. U těchto nemocných byla TACE kombinována se sekvenční systémovou léčbou cytostatiky. U dvou nemocných vznikl absces v játrech, který byl řešen perkutánní drenáží a jeden nemocný musel podstoupit cholecystektomii pro infarkt žlučníku. Nebylo popisováno žádné úmrtí v souvislosti s léčbou.

Cílem TACE zůstává ovlivnění symptomů spojených s nádorovým postižením jater. Navození dlouhodobé remise by tato léčebná metoda měla v případě, že po zmenšení nádorového ložiska pomocí TACE bylo možné provést radikální chirurgický výkon. V našem souboru tento efekt nebylo možné sledovat u žádného pacienta.

Závěr

V naší práci jsme se snažili zjistit, zda může být TACE jater efektivní u tak infaustní diagnózy, jako jsou metastázy v játrech jiného původu než CRC, karcinomu prsu a testikulárních nádorů. Profitovat z této léčebné modalitby by mohli vybraní nemocní s PS 0-2, bez přítomnosti primárního nádoru a funkčním stavem jater Child A-B, kteří nemohou nebo nechtějí být léčeni systémovou cytostatickou léčbou a nejsou indikováni k chirurgickému výkonu. U takovýchto nemocných by transkatetrová chemoembolizace mohla vést ke zmírnění subjektivních potíží, zlepšení kvality života nebo i k prodloužení přežití. Jde o metodu bezpečnou, vyžadující krátkodobou hospitalizaci.

Přes ekonomickou náročnost TACE zejména na poli intervenční radiologie by měla být tato léčebná modalita u vybraných pacientů s metastatickým postižením jater zvažována.

Literatura

1. Patel NH, Jindal RM.: The Role of Chemoembolisation in the Treatment of Colorectal Hepatic Metastases. *Hepato-gastroenterology* 2001;48:448
2. Hughes K., Scheele J., Subarbaker PH: Surgery for colorectal cancer metastatic to liver. *Surg Clin North Am* 1989;69:339
3. Doci R., Gennari L., Gignami P. et al.: One hundred patients with hepatic metastases from colorectal cancer treated by resection: Analysis of prognostic determinants. *Br J Surg* 1991;78:797-801
4. Élias D., Lasser P., Rougier P. et al.: Another failure in the attempt of definition of the indications to the resection of liver metastases of colorectal origin. *J Chir (Paris)* 1992;129:59
5. Harnois DM., Steers J., Andrews JC. et al.: Preoperative hepatic artery chemoembolisation followed by orthotopic liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Liver Transpl Surg* 1999;5:192-9
6. Clavien PA., Kang KJ., Selzner N., Morse MA. et al.: Cryosurgery After Chemoembolisation for Hepatocellular Carcinoma in Patients With Cirrhosis. *J Gastrointest Surg* 2002;6:95-101
7. Allgaier HP., Deibert P., Olschewski M.: Survival benefit of patients with inoperable hepatocellular carcinoma treated by a combination of transarterial chemoembolisation and percutaneous ethanol injection - a single center analysis including 132 patients. *Int J Cancer* 1998;79:601-605
8. The Liver cancer Study Group of Japan: Primary liver cancer in Japan. *Cancer* 1984;54:1747-55
9. Kruskal J., Hlatky L., Hahnfeldt P. et al.: In vivo and in vitro analysis of the effectiveness of doxorubicin combined with temporary arterial occlusion in liver tumours. *J Vasc Interv Radiol* 1993;4:741-747
10. Takayasu K., Wakao F., Moryama N. et al.: Response of early-stage hepatocellular carcinoma and borderline lesions to therapeutic arterial embolisation. *AJR* 1993;160:301-306
11. Yamada R., Nakatsuka H., Nakamura K. et al.: Hepatic artery embolisation in 120 patients with non-resectable HCC. *Radiology* 1983;148:397-401
12. Sullivan KL.: Hepatic artery Chemoembolisation. *Semin Oncol* 2002;29(2):147-148
13. Solomon B., Soulen MC., Baum RA., Haskal ZL. et al.: Chemoembolisation of hepatocellular carcinoma with cisplatin, doxorubicin, mitomycin-C, Ethiodol and polyvinil alcohol: Prospective evaluation of response and survival in a U.S. population. *J Vasc Interv Radiol* 1999;10:793-798
14. Tellez C., Benson AB., Lyster MT., et al.: Phase II trial of chemoembolization for the treatment of metastatic colorectal carcinoma to the liver and review of the literature. *Cancer* 1998;82:1250-1259
15. Trevisani F., Notarisi S., Rossi C., Bernardi M.: Randomized Control Trials on Chemoembolization for Hepatocellular Carcinoma. *J Clin Gastroenterol* 2001;32(5):383-389
16. Lo Ch., Ngan H., Tso W., et al.: Randomized Controlled trial of Transarterial Lipiodol Chemoembolization for Unresectable Hepatocellular Carcinoma. *Hepatology* 2002; 35:1164-1171
17. Huang Y, Chiang J, et al.: Risk of Hepatic Failure After Transcatheter Arterial Chemoembolization for Hepatocellular Carcinoma: Predictive Value of the Monoethylglycinexylidide Test. *AJG* 2002;97:1223-1227
18. Kamada K, Nakanishi. et al.: Long-term Prognosis of Patients Undergoing Transcatheter Arterial Chemoembolization for Unresectable Hepatocellular Carcinoma: Comparison of Cisplatin Lipiodol Suspension and Doxorubicin Hydrochloride Emulsion. *J V Int Radiol* 2001;12:847-854
19. Clouse ME, Stokes KR, Kruska JB et al.: Chemoembolisation for hepatocellular carcinoma: Epinephrine followed by a doxorubicin - ethiodized oil embolisation and gelatine sponge powder. *J V Int Radiol* 1993;4(6):717-25
20. Harris M, Gibbs P, Cebon J et al.: Hepatocellular carcinoma and chemoembolisation. *Internal Medicine Journal* 2001;31:517-522
21. Proye C.: Natural History of Liver Metastases of Gastroenteropancreatic Neuroendocrine Tumors: Place for Chemoembolization. *World J.Surg.* 2001;25:685-88
22. Rougier P, Milan C, Lazorthes F et al: Prospective study of prognostic factors in patients with unresected hepatic metastases from colorectal cancer. *Br J Surg* 1995;82:1397-4000
23. Leung DA, Goin JE, Sikles BA et al: Determinants of Postembolization Syndrome after Hepatic Chemoembolization. *J Vasc Interv Radiol* 2001;12:321-326

Došlo: 20. 2. 2006
Přijato: 30. 3. 2006

IDENTIFIKACE INDIVIDUÁLNÍCH AUTOLOGNÍCH KLONŮ MYELOM-REAKTIVNÍCH T LYMFOCYTŮ

IDENTIFICATION OF INDIVIDUAL AUTOLOGOUS CLONES OF MYELOMA-REACTIVE T LYMPHOCYTES

DUDOVÁ S.¹, HORÁK R.¹, KOVÁŘOVÁ L.¹, HORVÁTH R.², HÁJEK R.^{1,3,5}, MICHÁLEK J.^{1,4,5}

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

² GENEX CZ, LABORATOŘ MOLEKULÁRNÍ DIAGNOSTIKY, BRNO

³ INTERNÍ HEMATOONKOLOGICKÁ KLINIKA, FN BRNO

⁴ 1. DĚTSKÁ INTERNÍ KLINIKA, FN BRNO

⁵ UNIVERZITNÍ ONKOLOGICKÉ CENTRUM MASARYKOVY UNIVERZITY, BRNO

Souhrn

Východiska: Mnohočetný myelom (MM) je hematoonkologické onemocnění způsobené maligní transformací B-lymfocytů, jejich klonální proliferací a akumulací terminálních vývojových stadií - plazmocytů (myelomových buněk). Za optimální léčebný postup je v současné době považována vysokodávkovaná chemoterapie s autologní transplantací štěpu kostní dřeně, který může navodit kompletní léčebnou odpověď, prodloužit významně přežití, avšak relapsu onemocnění nezabrání. **Typ studie a soubor:** Na základě preklinických i klinických pozorování je zřejmé, že významnou úlohu při prodloužení remise myelomu po autologní transplantaci hrají myelom-reaktivní T lymfocyty. Proto se jako nadějně jeví využití myelom-reaktivních T lymfocytů jako adoptivní buněčné imunoterapie při autologní transplantaci štěpu kostní dřeně. Analýza TCR repertoáru T lymfocytů poskytuje informaci o spektru rozeznávaných antigenů.

Metody a výsledky: Po naložení dendritických buněk (DB) apoptickými tělisky nádorových buněk mohou být identifikovány a expandovány potenciální cytotoxické myelom-specifické T lymfocyty. Z aktivovaných lymfocytů byla po izolaci mRNA provedena ukotvující reverzní transkripce modifikovanou verzí SMART metody. Po klonování PCR produktu do plazmidového vektoru a transformaci bakterií byly zjišťovány jedinečné sekvence jednotlivých klonotypů. Byla prokázána oligoklonalita TCRB receptoru u myelom-specifických *in vitro* expandovaných T lymfocytů, v jednom případě se jednalo o monoklonální populaci nádorově specifických T lymfocytů. Tato zjištění svědčí o existenci myelom-specifických antigenů, které stimulují pouze určité autologní T lymfocyty. **Závěry:** Charakterizace T lymfocytárního receptoru (TCR) myelom-specifických klonů představuje novou metodu imunologického sledování účinnosti protinádorové léčby.

Klíčová slova: mnohočetný myelom, imunoterapie, T buněčný receptor, hypervariabilní oblast, klonotyp

Summary

Backgrounds: Multiple myeloma (MM) is a hematologic disease caused by malignant transformation of B-lymphocytes, their clonal proliferation and accumulation of terminal stages - plasmocytes (myeloma cells). Recently, high-dose chemotherapy with autologous hematopoietic transplantation has been considered standard treatment for patients with advanced stages of multiple myeloma. Such treatment delays relapse but it is not curative and almost all patients ultimately develop recurrent disease. **Design and Subjects:** Based on preclinical and clinical it is evident that myeloma-reactive T lymphocytes play an important role in extending time of remission after autologous transplantation. Myeloma-reactive T lymphocytes have been shown to be a promising approach in adoptive cellular immunotherapy aside autologous transplantation of bone marrow graft. Analysis of their TCR repertoire gives information on the spectrum of recognized antigens.

Methods and Results: Dendritic cells loaded with apoptotic bodies from myeloma cells have been used to stimulate autologous T lymphocytes. Activated myeloma-specific T cells were identified and expanded. After mRNA isolation the anchored reverse transcription using a modified version of the SMART method was done. PCR product was cloned into plasmid vector, transformed in bacterial cells and individual clonotypes were sequenced. Oligoclonality of the TCR receptor was demonstrated in myeloma specific *in vitro* expanded T lymphocytes, in one case a monoclonal population of tumor specific T cells was found. These findings support the of myeloma specific antigens stimulating only certain autologous T lymphocytes. **Conclusions:** Structural characterization of the TCR receptor of myeloma specific clones represents a promising method for immunologic monitoring of cancer treatment.

Key words: multiple myeloma, immunotherapy, T cell receptor, hypervariable region, clonotype

Úvod

Imunitní systém může být aktivován specifickými nádorovými antigeny. U MM bylo identifikováno několik antigenických molekul, jako například idiotypický protein (Id) (2), MUC-1 (3), mutanti *ras* onkogenní protein (4) nebo další antigeny spojené s nádorem (5, 6). Byly popsány různé formy nádorových antigenů - DNA, RNA, peptidy, proteiny či celé nádorové buňky. Silný imunogenní potenciál byl popsán u dendritických buněk (DB) naložených apoptickými tělísky nádorových buněk. Takto připravené dendritické buňky představují slibný přístup v imunoterapii hematologických onemocnění (7, 8). Touto metodou mohou být identifikovány a expandovány potenciální cytotoxické myelom-specifické T lymfocyty (9). Sledování T buněčného receptoru (TCR) poukazuje na jejich roli v imunitní odpovědi a umožňuje monitorování jednotlivých klonů in vivo. Jednotlivé T-buněčné klony mohou být charakterizovány pomocí rozdílů ve variabilní oblasti 3 určující komplementaritu (CDR3) beta řetězce (10, 11). Jedinečnost hypervariabilní části TCR CDR3 oblasti odpovědné za rozeznání komplexů peptid-MHC je dána inzercí nebo delecí náhodných (N) nukleotidů ve spojení V β -D β a D β -J β segmentů. Funkční analýza interakcí mezi TCR a komplexy peptid/MHC podporuje představu, že sekvence a délka CDR3 oblasti jsou dva základní činitele v rozpoznání peptidů prezentovaných MHC molekulami (12).

V posledních letech se zájem zaměřuje na charakterizaci TCRV α a TCR β řetězců, jak u T lymfocytů zdravých dárců, tak i za různých patologických podmínek zahrnujících autoimunitní, nádorové a infekční onemocnění nebo při sledování stavu pacienta po allogenní transplantaci (13-17). Analýza TCR repertoáru T lymfocytární odpovědi poskytuje informaci o spektru rozeznávaných antigenů. Ukazuje, zda lymfocytární odpověď je vyvolána jen několika imunodominantními antigeny nebo širokou paletou nádorových antigenů. Specifičnost vazby peptidu je dána variantami ve struktuře TCR molekuly. V případě imunitní odpovědi proti danému nádorovému antigenu zprostředkované T lymfocyty s omezenou sadou TCRV genů se objevuje možnost monitorování imunoterapeutického účinku či expanze nádorově specifických T lymfocytů. Komplementaritu určující oblast 3 (CDR3) a řetězce T lymfocytárního receptoru je jedinečná a může být použita jako marker jednotlivých klonů T lymfocytů (18- 22). Další využití molekulární analýzy přeskupení TCR genu představuje diagnostika patologických proliferací T buněk nebo sledování MRD u lymfoproliferativních onemocnění (23, 24).

2. Materiál a metody

2.1. Příprava dendritických buněk

Mononukleární buňky periferní krve byly izolovány metodou gradientové centrifugace (Histopaque 1077, Sigma-Aldrich, Praha, Česká republika) od pacientů s MM po podepsání informovaného souhlasu. Buňky byly kultivovány v 6ti-jamkových destičkách v médiu X-VIVO 10 (BioWhittaker, Walkersville, MD, USA) s 10% tepelně inaktivovaným lidským AB sérem (Sigma-Aldrich, Praha, Česká republika), 80 U/ml DNAsy (Boehringer Mannheim, Německo) a 2 mM L-glutaminem (Sigma-Aldrich, Praha, Česká republika) v atmosféře 5% CO₂ and 4.5% O₂. Po 2 hodinách byla neadherentní frakce odstraněna a adherentní podíl bohatý na prekurzory DB byl kultivován v médiu X-VIVO 10 (BioWhittaker, Walkersville, MD, USA) s přidáním 100 ng/ml IL-4 (Sigma-Aldrich, Praha, Česká republika), 800 U/ml GM-CSF (Schering Plough, New Jersey, USA) po dobu 6 dnů při 37 °C. Maturace byla dosažena přidáním 40 ng/ml TNF- α (Bender Medsystems Diagnostics, Vídeň, Rakousko) 6. den. Médium bylo měněno 2x týdně (25, 26). Neadherentní frakce bohatá na T-lymfocyty byla zamrazena a uchovávána při -80°C.

2.2. Příprava antigenu a naložení DB

Jako antigen byly použity nádorové buňky izolované od pacientů s MM. Myelomové buňky byly získány z kostní dřevě imunomagnetickou separací pomocí monoklonální protilátky anti-CD138 s použitím přístroje *Vario MACS* (Miltenyi Biotec). Pro získání apoptotických tělísek byly nádorové buňky ozářeny dávkou 60 Gy a ponechány 24 hod v PBS při 37°C. 7. den kultivace byly nezralé DB naloženy antigenem v poměru 1:1.

2.3. Stimulace a izolace aktivovaných T-lymfocytů

8. den kultivace DB byly T lymfocyty rozmrazeny a kultivovány v X-VIVO 15 s 10% lidským AB-sérem (Sigma-Aldrich, Praha, Česká republika), 50 mg/l gentamycinu, 2 mM L-glutaminu, 25 mM HEPES pufru (BioWhittaker, Walkersville, MD, USA), a 10 IU/ml IL-2 (Proleukin, Chiron, Amsterdam, Holandsko) při 37 °C. 9. den kultivace byly naložené DB smíchány s T-lymfocyty v poměru 2:1 (T lymfocyt:DB). 7.den po stimulaci byly T lymfocyty restimulovány rozmraženými naloženými DB v poměru 2:1. Antigenem aktivované T-lymfocyty produkující IFN- γ byly izolovány pomocí Secretion Assay Cell Enrichment And Detection Kit (MACS Reagents, Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Německo) (27). Separace IFN- γ frakce byla provedena dvakrát po zvýšení čistoty.

2.4. Průtoková cytometrie

Aktivované T-lymfocyty byly inkubovány 20 minut s monoklonálními protilátkami anti-CD4-FITC, anti-CD8-FITC, anti-CD3-PC7 (Immunotech, Marseille, France) a anti-IFN- γ -PE (Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Německo). Po promytí ledovým PBS byly buňky fixovány v 1% paraformaldehydu (Sigma-Aldrich, Praha, Česká republika). Buňky byly analyzovány průtokovou cytometrií pomocí přístroje CytomicsTM FC 500 (Beckman Coulter, Miami, Florida, USA). Jako negativní kontrola byly použity nestimulované T lymfocyty.

2.5. Testy cytotoxicity

Expandované T lymfocyty (efektorové buňky) byly barveny 1 μ M CFSE a inkubovány 7 minut při 37°C, poté bylo přidáno FCS pro zastavení reakce (28). T lymfocyty značené CFSE byly kultivovány s buňkami myelomové linie ARH77 (terčovými buňkami) ve smíšené in vitro kultuře v X-VIVO 15 mediu s tepelně inaktivovaným 10% lidským AB sérem při 37°C v atmosféře 5% CO₂ s IL-2 v množství 10 IU/ml media, a to v poměrech (efektorové:terčové buňky) 2:1 a 10:1 po dobu 24 hodin. Jako kontrola byly použity IFN-g pozitivní T lymfocyty bez kultivace s nádorovými buňkami. Pro odlišení pozdně apoptotických a nekrotických buněk byly buňky inkubovány s 0,005% 7-aminoaktinomycinu D 20 minut nebo 1 μ g/ml propidium iodidu s inkubací 5-10 minut při 4-8°C.

2.6. Identifikace TCRB CDR3 sekvencí

Pro stanovení sekvence receptoru T-buněčných klonů byl proveden již dříve popsáný klonotypový esej (29). Ve stručnosti: aktivované myelom specifické T lymfocyty byly použity pro extrakci mRNA pomocí kitu Oligotex direct mRNA Mini Kit (Qiagen, Valencia, CA, USA). Ukotvující reverzní transkriptase a PCR byla provedena podle modifikované verze SMART metody s využitím SMARTTM Race cDNA Amplification Kit (Clontech, Mountain View, CA, USA). Pro získání PCR produktů CDR3 oblasti od 5' konce do začátku TCRBC oblasti byl použit TCRBC 3' primer konstantní oblasti TCRB a ukotvující primer tak, aby byla zachycena studovaná oblast TCRB CDR3. Amplifikovaný produkt byl ligován do pGemT Easy vektoru (Promega, Madison, WI, USA) a použit pro transformaci bakterií *E. coli*. 50 vybraných kolonií bylo amplifikováno pomocí PCR s příslušnými primery a použito pro přímé sekvenování. Klony byly definovány přítomností minimálně dvou identických sekvencí TCRB CDR3.

3. Výsledky

Do studie bylo zahrnuto 10 pacientů s MM stadia I-III ve věku 49-67 let (tab. 1). Pacienti byli léčeni 4 cykly standardní léčby VAD (vinkristin, adriamycin, dexamethason), v indikovaných případech byla provedena autologní transplantace kostní dřevě (pacient 1 a 7). Nádorové buňky byly izolovány imunomagnetickou separací z kostní dřevě. Apoptotická tělíska byla připravena jejich ozářením dávkou 60 Gy. DB byly naloženy apoptotickými tělisky v poměru 1:1, použity pro stimulaci T lymfocytů v poměru 20:1 a po týdnu restimulovány v poměru 2:1. 24 hod po restimulaci byla provedena identifikace protinádorových myelom-specifických T lymfocytů na průtokovém cytometru. Restimulované aktivované myelom-specifické T lymfocyty byly magneticky separovány na přístroji *Vario MACS* pomocí protilátky anti-CD3 a anti-IFN- γ . Došlo k obnovení aktivovaných T buněk v pozitivní frakci z 1,3-6,6% (průměr 3,8 %) na 42,0-81,0% (průměr 63,7%) pro CD3⁺ (tab.1). Expanze myelom-specifických T lymfocytů pacientů probíhala v rozmezí 0,9 - 6 měsíců s mediánem 1,5 měsíce.

Tabulka č. 1: Pacienti s MM

Pacienti s mnohočetným myelomem					
Pacient číslo	Pohlaví	Věk	Stadium diagnózy	Separace CD3 ⁺ IFN γ ^r TL	
				před mag. separací	po mag. separaci
1	M	64	MM/II	1.3	42
2	M	49	MM/II	3.8	66
3	Ž	56	MM/I	6.2	81
4	M	67	MM/III	2.8	77
5	Ž	60	MM/II	2.2	68
6	Ž	52	MM/III	3.5	75
7	Ž	55	MM/III	2.1	59
8	M	64	MM/II	5.4	74
9	M	62	MM/III	4.1	42
10	M	57	MM/II	6.6	53

Tabulka zachycuje soubor deseti pacientů s MM, jejich pohlaví, věk a stadium onemocnění. Poslední dva sloupce uvádějí hodnoty získané před a po magnetické separaci TL připravených stimulací DB naložených apoptotickými tělisky pomocí protilátek anti-CD3⁺ a anti-IFN- γ TL.

Tabulka č. 2: Test cytotoxicity a klonalita TCRB receptoru

Test cytotoxicity a klonalita TCRB receptoru			
Pacient číslo	Cytotoxicita CFSE/PI 24h v %		TCRB klonalita
	2:1	10:1	
1	10	25,5	oligoklonální
2	25	59,0	oligoklonální
3	44	60,5	N
4	21	58,5	oligoklonální
5	28	50,0	oligoklonální
6	19	38,5	oligoklonální
7	13	40,0	monoklonální
8	18	43,0	N
9	27	58,0	oligoklonální
10	24	38,0	oligoklonální
negativní kontrola	2	1,6	

Specifita aktivovaných TL byla stanovena pomocí průtokového cytometru a CFSE cytotoxickým testem. Naměřené hodnoty po 24 hod kultivaci TL (efektorové buňky) s autologními myelomovými buňkami pacientů (terčové buňky) udávají procenta usmrcených nádorových buněk aktivovanými TL. Měřeny byly 2 poměry efektorových buněk ku terčovým 2:1 a 10:1. Jako kontrola byly použity IFN- γ pozitivní T lymfocyty bez kultivace s nádorovými buňkami. Klonalita TCRB udává výsledky zjištěné analýzou sekvence TCR receptoru (N=nezdařená izolace klonů).

Aktivované T lymfocyty získané stimulací T buněk zdravých dárců autologními myelomovými buňkami byly použity pro testy cytotoxicity. U deseti pacientů byly použity kultivační pomě-

ry (T lymfocyt:myelomová buňka) 2:1 a 10:1, které byly hodnoceny po 24 hodinách kultivace. Procenta cytotoxických buněk schopných usmrcovat terčové buňky pro poměr (T lymfocyt:myelomová buňka) 2:1 byla u jednotlivých pacientů 10,0 - 44,0% (průměr 22,9%) a pro poměr 10:1 26,0 - 61,0% (průměr 47,1%). Výsledky testů cytotoxicity jsou shrnuty v Tab. 2. Jako negativní kontrola byl sledován cytotoxický potenciál IFN- γ pozitivních T lymfocytů kultivovaných bez přítomnosti nádorových buněk. Pro poměr (T lymfocyt:myelomová buňka) 2:1 byla zjištěna průměrná cytotoxicita 2,0%, při poměru 10:1 po 24 hodinách inkubace 1,6%.

Molekulární identifikace aktivovaných potenciálně myelom-specifických CD4⁺ a CD8⁺ klonů T lymfocytů byla provedena pomocí analýzy variabilní oblasti beta TCR genu. U 8 z 10 sledovaných pacientů s MM byla stanovena sekvence TCRV, D a J oblastí (tab. 2). U pacientů číslo 3 a 8 nebyla amplifikace dostatečná. Aminokyselinové sekvence byly popsány podle nomenklatury IMGT (mezinárodní databáze ImmunoGenetics,). Odpovědi myelom specifických klonů T lymfocytů byly převážně oligoklonální. Pacienti 2 a 6 vykazovali čtyři dominantní klonotypy s různou četností exprese, u pacientů č. 1, 9 a 10 byly nalezeny 3 dominantní klonotypy a 2 klonotypy u pacientů č. 4 a 5 (tab. 3). Nejčastěji zastoupený klonotyp byl nalezen u pacienta č. 5 ve frekvenci 26 záchytů z 49 sledovaných klonů, druhý nejčastější byl objeven u pacienta č. 1 s četností 21 výskytů z 55 sledování. U pacienta č. 9 byl potvrzen dominantní klon s největší zachycenou četností 14 klonů ze 47. Pacient č. 7 vykazoval monoklonální odpověď s nejčastějším klonem ve frekvenci 14 klonů ze 46 analyzovaných. Nejčastěji se vyskytující aminokyselinová sekvence TCRBJ oblastí byla TCRBJ2-1, která byla nalezena u 22 sledovaných dominantních klonotypů (tab.4). Podobně u TCRBV regionu bylo zjištěno, že nejčastější klonotypy obsahovaly sekvence ze skupiny V7 s četností 8 klonotypů z 22 zjištěných.

Tabulka č.4: Seznam TCRBV a TCRBJ genů lymfocytárního receptoru

Značení klonu	Číslo TRBJ oblasti	Číslo skupiny TRBV oblasti
1-1	J2-1	V7
1-2	J2-1	V7
1-3	J1-1	V7
2-1	J1-2	V12
2-2	J2-2	V5
2-3	J2-1	V4
2-4	J2-3	V7
3	nedostatečná amplifikace	
4-1	J1-5	V7
4-2	J2-1	V5
5-1	J2-1	V20
5-2	J1-5	V16
6-1	J2-2	V28
6-2	J2-1	V7
6-3	J2-7	V27
6-4	J1-3	V5
7-1	J1-1	V7
8	nedostatečná amplifikace	
9-1	J2-2	V5
9-2	J2-3	V10
9-3	J2-7	V5
10-1	J1-2	V9,13
10-2	J2-1	V12
10-3	J2-2	V7

Seznam TCRBV a TCRBJ genů lymfocytárního receptoru u myelom-specifických TL pacientů s MM. Údaje v tabulce jsou hodnoceny podle nomenklatury IMGT.

4. Diskuze

Analýza TCR repertoáru T lymfocytární odpovědi vůči nádorové tkáni podává informaci o spektru rozeznávaných antige-

Tabulka č.3: Aminokyselinové sekvence a frekvence TCRBVDJ oblasti

Pacient	Označení klonu	Frekvence klonu	TRBV oblast	TRBD oblast	TRBJ oblast
1	1-1	21/55	QEDSAVYLCASSL	RGEGA	EQFFGPGTRTLTVL
	1-2	3/55	QRDSAMYRCASS	TRDRGVD	EQFFGPGTRTLTVL
	1-3	3/55	QGDSAMYLCASS	SFL	EAFFGQGRTRLTVV
2	2-1	15/54	PRDSAVYFCAS	RER	GYTFGSGTRLTVV
	2-2	13/54	LGDSALYLCASSL	ASD	TGELFFGEGSRLTVL
	2-3	7/54	PEDSALYLCASSQ	DWASGGN	NEQFFGPGTRTLTVL
	2-4	3/54	RGDSAVYLCASS	TGTGG	STDTQYFGPGTRTLTVL
3	3	nedostatečná amplifikace			
4	4-1	13/44	QRDSAMYRCASS	QA	NQPQHFGDGRLSIL
	4-2	3/44	LGDSALYLCASSL	GGRG	SYNEQFFGPGTRTLTVL
5	5-1	26/49	PEDSSFYICAR	GTSGGYS	SYNEQFFGPGTRTLTVL
	5-2	4/49	LEDSAVYFCAS	RQA	NQPQHFGDGRLSIL
6	6-1	7/54	TNQTSMYLCAS	WGQGA	TGELFFGEGSRLTVL
	6-2	4/54	RGDSAVYLCASS	TGTSG	SYNEQFFGPGTRTLTVL
	6-3	3/54	PNQTSLYFCASS	DRGF	SYEQYFGPGTRLTVT
	6-4	3/54	LGDSALYLCASSL	GRL	SGNTIYFEGSWLTVV
7	7-1	14/46	QGDSAMYLCASS	RG	EAFFGQGRTRLTVV
8	8	nedostatečná amplifikace			
9	9-1	14/47	LGDSALYLCASS	ADPFGGTY	TGELFFGEGSRLTVL
	9-2	13/47	SSQTSVYFCAIS	ASGL	STDTQYFGPGTRTLTVL
	9-3	9/47	LGDSALYLCASS	GDRG	YEQYFGPGTRLTVT
10	10-1	8/51	GDSALYFCASS	GR	NYGYTFGSGTRLTVV
	10-2	6/51	PRDSAVYFCASSL	ALAG	NEQFFGPGTRTLTVL
	10-3	3/51	RGDSAVYLCASSL	RSITNA	GELFFGEGSRLTVL

Aminokyselinové sekvence a frekvence TCRBVDJ oblastí nejčastěji zastoupených klonů u jednotlivých pacientů s MM. Po extrakci mRNA a reverzní transkripci byla cDNA amplifikovaná polymerázovou řetězovou reakcí s primery korespondujícími s ukotvujícím 5' primerem a sekvencí konstantní oblasti T lymfocytárního receptoru beta. Následně byla provedena ligace produktu PCR do plasmidu a transformace bakterií. Dvacet bakteriálních kolonií bylo použito pro přímé sekvencování TCRBVDJ regionu.

nů. V této studii se podařilo *in vitro* identifikovat dominantní myelom-specifické klonu autologních T lymfocytů u pacientů s MM stadia I-III. Jako zdroj DB a T lymfocytů sloužila periferní krev pacientů s MM, myelomové buňky byly izolovány z kostní dřene pacientů. Bylo prokázáno, že dendritické buňky naložené apoptotickými tělísky myelomových buněk jsou schopné vyvolat T lymfocytární odpověď v autologních podmínkách. Po stimulaci T lymfocytů dochází k jejich aktivaci a je možné je separovat pomocí produkce IFN- γ v magnetickém poli. Nádorově specifické T lymfocyty lze expandovat *in vitro* a dále je využít v klinické praxi. Specifita expandovaných T buněk byla sledována cytotoxickým testem vůči populaci myelomových buněk linie ARH77. Příprava protinádorové vakcíny pro pacienty maligními onemocněními byla již dříve popsána u různých maligních onemocnění (30, 31).

Analýzou sekvence byla prokázána oligoklonalita TCRB receptoru u myelom-specifických *in vitro* expandovaných T lymfocytů, v jednom případě se jednalo o monoklonální populaci nádorově specifických T lymfocytů. Tato zjištění svědčí o existenci myelom-specifických antigenů, které stimulují pouze určité autologní T lymfocyty. Pozorované výsledky byly v souladu s dřívějšími pozorováními, ve kterých byly zjištěny jak monoklonální, tak i polyklonální odpovědi na vakcinaci nádorovými antigeny. Monoklonální cytotoxická odpověď byla popsána u pacientů s melanomem po částečné rejekci metastáz po podání vakcíny tumor specifického peptidu MAGE-3 (32). Při sledování smíšené lymfocytární kultury s vnášeným peptidem byly pozorovány naopak polyklonální CTL odpovědi (33).

Frekvence jednotlivých TCRBVDJ sekvencí mezi bakteriálními klony jsou přímo úměrné frekvenci těchto sekvencí v původní populaci selekovaných T lymfocytů, protože jsou použity stejné primery pro RT-PCR a sekvencování všech TCRB mRNA. Podobné či dokonce shodné sekvence V, D a J oblastí naznačují přítomnost několika málo imunodominantních klonů, které mohou být sdíleny i mezi jednotlivými

pacienty. (20, 22). Stejný klon autologních nádorově specifických CD8⁺ TIL se může hromadit u jednoho pacienta v odlišných metastázách z důvodu migrace a shromažďování cytotoxických protinádorových klonů tumor infiltrujících lymfocytů v různých nádorových lézích (34).

Souvislost mezi frekvencí klonotypů a stadiem onemocnění jednotlivých pacientů nebyla pozorována. I když Raitakari ve své studii uvádí menší četnost expanzí T-lymfocytů u pacientů s MM I stadii, další autoři naopak zmiňují přítomnost expandovaných klonů přednostně u pacientů s méně vyvinutými nádory (14, 35).

Sekvence receptoru myelom specifických T lymfocytů prokázala častější výskyt určitých aminokyselinových sekvencí V a J oblastí, naopak sekvence D oblastí byla různorodá. Tato skutečnost byla popsána i jinými skupinami ve světové literatuře, kdy TCR analýza CTL klonů rozeznávajících identické nádorové peptidové antigeny prokázala častější použití určitých VB subgenů (36, 37), přičemž D subgeny vykazovaly pouze několik nebo žádnou sekvenci homologii (38). Rozdílnost v použití D genových segmentů odráží odlišnou specifitu TCR receptoru a způsob rozeznání antigenu, kdy pouze některé rezidua peptidu jsou nezbytná pro rozeznání cytotoxickými lymfocyty (38, 39). Nicméně závěry studií nejsou jednotné. U pacientů s velkou granulární leukémií (LGL) byly ve většině případů počty TCRBV rodin omezené (40-42), i když několik studií prokázalo náhodnou expresi specifických TCRBV and TCRBJ genů (41, 43, 44).

Klonotypy odvozené od jednotlivých pacientů mohou být použity pro následné *in vivo* monitorování nejvíce dominantních klonů. Již dříve byly u imunodominantních klonů sekvence CDR3 oblasti použity pro přípravu klonotypově specifických primerů (20). Protože každý T lymfocyt obsahuje jeden produktivně přeskupený TCRBVDJ lokus s určitou sekvencí, počet detekovaných kopií genu přímo odpovídá počtu klonů přítomných ve vzorku a může sloužit ke kvantitativnímu sle-

dování průběhu onemocnění a k monitorování individuálních nádorově-specifických T lymfocytů v klinických studiích využívajících adoptivní buněčné imunoterapie (18, 19). Postup identifikace a charakterizace myelom-specifických klonů tak

představuje novou metodu imunologického sledování účinnosti protinádorové léčby.

Práce byla podporována grantem IGA MZČR IA/8709-5.

Literatura

1. Barlogie B., Shaughnessy J., Trikot G. a kol. Treatment of multiple myeloma. *Blood*. 2004; 1: 20-32
2. Idiotype protein-pulsed dendritic cell vaccination in multiple myeloma. 1999 Oct 8;83 (2): 215-22
3. Noto H., Takahashi T., Makiguchi Y. a kol. 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
4. Corradini P., Ladetto M., Voena C. a kol. Mutational activation of N- and K-ras oncogenes in plasma cell dyscrasias. *Blood*. 1993; 15:2708-2713
5. Chiriva-Internati M., Wang Z., Salati E. a kol. Sperm protein 17 (Sp17) is a suitable target for immunotherapy of multiple myeloma. *Blood*. 2002; 100(3):961-5
6. Olds L. J., Chen Y. T. New paths in human cancer serology. 1998. *J Exp Med*. 187:1163-1167
7. Goddard R. V., Prentice A. G., Copplestone J. A. a kol. Generation in vitro of B-cell chronic lymphocytic leukaemia-proliferative and specific HLA class-II-restricted cytotoxic T-cell responses using autologous dendritic cells pulsed with tumour cell lysate. 2001. 126(1):16-28
8. Kokhaei P., Choudhury A., Mahdian R. a kol. Apoptotic tumor cells are superior to tumor cell lysate, and tumor cell RNA in induction of autologous T cell response in B-CLL. 2004. 18(11):1810-5
9. Hayashi T., Hideshima T., Akiyama M. a kol. Ex vivo induction of multiple myeloma-specific cytotoxic T lymphocytes. 2003. 102(4):1435-42
10. Davis M. M., Bjorkman P. J. T-cell antigen receptor genes and T-cell recognition. *Nature*. 1988. 334(6181):395-402
11. Chothia C., Boswell D. R., Lesk A. M. The outline structure of the T-cell alpha beta receptor. *EMBO J*. 1988. 7(12):3745-55
12. Jorgensen J. L., Esser U., Fazekas de St Groth B. a kol. Mapping T-cell receptor-peptide contacts by variant peptide immunization of single-chain transgenics. *Nature*. 1992. 355(6357): 224-30
13. Gorochoff G., Debre P., Leblond V. a kol. Oligoclonal expansion of CD8+ CD57+ T cells with restricted T-cell receptor beta chain variability after bone marrow transplantation. *Blood*. 1994. 83(2):587-95
14. Halapi E., Werner A., Wahlstrom J. a kol. T cell repertoire in patients with multiple myeloma and monoclonal gammopathy of undetermined significance: clonal CD8+ T cell expansions are found preferentially in patients with a low tumor burden. *Eur J Immunol*. 1997. 27(9): 2245-52
15. Holbrook M. R., Tighe P. J., Powell R. J. Restrictions of T cell receptor beta chain repertoire in the peripheral blood of patients with systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis*. 1996. 55(9): 627-316
16. Posnett D. N., Sinha R., Kabak S. a kol. Clonal populations of T cells in normal elderly humans: the T cell equivalent to „benign monoclonal gammopathy“. *J Exp Med*. 1994. 179(2): 609-18
17. Zhong W., Reinherz E. L. In vivo selection of a TCR Vbeta repertoire directed against an immunodominant influenza virus CTL epitope. *Int Immunol*. 2004. 16(11): 1549-59
18. Michálek J., Collins R. H., Hill B. J. a kol. Identification and monitoring of graft-versus-host specific T-cell clone in stem cell transplantation. *Lancet*. 2003. 361(9364): 1183-5 a)
19. Michálek J., Collins R. H., Durrani H. P. a kol. Definitive separation of graft-versus-leukemia- and graft-versus-host-specific CD4+ T cells by virtue of their receptor α loci sequences. 2003. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 100(3): 1180-1184 b)
20. O'Keefe C. L., Plasilova M., Wlodarski M. a kol. Molecular analysis of TCR clonotypes in LGL: a clonal model for polyclonal responses. *J Immunol*. 2004. 172(3): 1960-9
21. Plasilova M., Risitano A., Maciejewski J. P. Application of the molecular analysis of the T cell receptor repertoire in the study of immune-mediated hematologic disease. *Hematol. J*. 2003. 8:173
22. Wlodarski M. W., O'Keefe C., Howe E. C. a kol. Pathologic clonal cytotoxic T-cell responses: nonrandom nature of the T-cell-receptor restriction in large granular lymphocyte leukemia. *Blood*. 2005. 106(8): 2769-80
23. Bruggemann M., van der Velden V. H., Raff T. a kol. Rearranged T-cell receptor beta genes represent powerful targets for quantification of minimal residual disease in childhood and adult T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*. 2004. 18(4):709-19
24. van Dongen J. J., Langerak A. W., Bruggemann M. a kol. Design and standardization of PCR primers and protocols for detection of clonal immunoglobulin and T-cell receptor gene recombinations in suspect lymphoproliferations: report of the BIOMED-2 Concerted Action BMH4-CT98-3936. *Leukemia*. 2003. 17(12):2257-317
25. 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
26. Očadlíková D., Kovářová L., Vidláková P. a kol. Identifikace myelom-specifických T-lymfocytů na základě produkce interferonu gama. Edukační sborník XXVIII. Brněnské onkologické dny. 2004. 53: 113-116
27. Brosterhus H., Brings S., Leyendeckers H. a kol. Enrichment and detection of live antigen-specific CD4(+) and CD8(+) T cells based on cytokine secretion. *Eur J Immunol*. 1999. 29:4053-4059
28. Zahradvá L., Očadlíková D., Kovářová L. a kol. Zavedení a optimalizace neradioaktivního testu cytotoxicity pro imunoterapeutické studie u nádorových onemocnění. XXIX. Brněnské onkologické dny. 2005. 189: 299-302
29. Douek D. C., Betts M. R., Brenchley J. M. a kol. A Novel Approach to the analysis of specificity, clonality, and frequency of HIV-specific T cell responses reveals a potential mechanism for control of viral escape. *The Journal of Immunology*. 2002. 168: 3099-3104
30. Chakraborty N. G., Sporn J. R., Tortora A. F. a kol. Immunization with a tumor-cell-lysate-loaded autologous-antigen-presenting cell-based vaccine in melanoma. *Cancer Immunol Immunother*. 1998. 47:58-64
31. Höltl L., Zelle-Rieser C., Sander H. a kol. Immunotherapy of Metastatic Renal Cell Carcinoma with Tumor Lysate-pulsed Autologous Dendritic Cells. *Clinical Cancer Research*. 2002. 8: 3369-3376
32. Coulie P. G., Karanikas V., Colau D. a kol. A monoclonal cytolytic T-lymphocyte response observed in a melanoma patient vaccinated with a tumor-specific antigenic peptide encoded by gene MAGE-3. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001. 98(18): 10290-5
33. Godelaine D., Carrasco J., Lucas S. a kol. Polyclonal CTL responses observed in melanoma patients vaccinated with dendritic cells pulsed with a MAGE-3.A1 peptide. *J Immunol*. 2003. 171(9): 4893-7
34. Hishii M., Andrews D., Boyle L. A. a kol. In vivo accumulation of the same anti-melanoma T cell clone in two different metastatic sites. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997. 94(4): 1378-83
35. Raitakari M., Brown RD, Sze D. et al. T-cell expansions in patients with multiple myeloma have a phenotype of cytotoxic T cells. *Br J Haematol*. 2000; 110:203-209
36. Peoples G. E., Davey M. P., Goedegebuure P. S. a kol. T cell receptor V beta 2 and V beta 6 mediate tumor-specific cytotoxicity by tumor-infiltrating lymphocytes in ovarian cancer. *J Immunol*. 1993. 151(10): 5472-80
37. Sensi M., Traversari C., Radrizzani M. a kol. Cytotoxic T-lymphocyte clones from different patients display limited T-cell-receptor variable-region gene usage in HLA-A2-restricted recognition of the melanoma antigen Melan-A/MART-1. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995. 92(12): 5674-8
38. Romero P., Pannetier C., Herman J. a kol. Multiple specificities in the repertoire of a melanoma patient's cytolytic T lymphocytes directed against tumor antigen MAGE-1.A1. *J Exp Med*. 1995. 182(4): 1019-28
39. Hsu B. L., Donermeyer D. L., Allen P. M. TCR recognition of the Hb(64-76)/I-EK determinant: single conservative amino acid changes in the complementarity-determining region 3 dramatically alter antigen fine specificity. *J Immunol*. 1996. 157(6): 2291-8
40. Bowman S. J., Bhavnani M., Geddes G. C. a kol. Large granular lymphocyte expansions in patients with Felty's syndrome: analysis using anti-T cell receptor V beta-specific monoclonal antibodies. *Clin Exp Immunol*. 1995. 101: 18-24
41. Kaneko T., Mizoguchi H., Oshimi K. Expression of T-cell receptor VB8 regions in granular lymphocyte-proliferative disorders. *Blood*. 1993. 81: 3482-3483
42. Kasten-Sportes C., Zahnoen S., Steis R. G. a kol. T-cell receptor gene rearrangement in T-cell large granular leukocyte leukemia: preferential V but diverse J usage in one of five patients. *Blood*. 1994. 83: 767-775
43. Davey M. P., Starkebaum G., Loughran T. P. Jr. CD3+ leukemic granular lymphocytes utilize diverse T-cell receptor V beta genes. *Blood*. 1995. 85: 146-150
44. Zambello R., Trentin L., Facco M. a kol. Analysis of the T cell receptor in the lymphoproliferative disease of granular lymphocytes: superantigen activation of clonal CD3+ granular lymphocytes. *Cancer Res*. 1995. 55: 6140-6145

Došlo: 22. 2. 2006
Přijato: 27. 3. 2006

RETROSPEKTIVNÍ ANALÝZA TERAPIE LOKÁLNĚ POKROČILÝCH CA REKTA V ÚRO V POSLEDNÍCH 6 LETECH.

RETROSPECTIVE ANALYSIS OF LOCALLY ADVANCED RECTAL CARCINOMA TREATMENT AT THE INSTITUTE OF RADIATION ONCOLOGY IN THE LAST SIX YEARS

FRIDRICHOVÁ M.¹, VESELÁ M.¹, LOUČKA M.², VÍTEK P.¹

¹ÚSTAV RADIAČNÍ ONKOLOGIE FN BULOVKA, PRAHA

²ÚSTAV MATEMATIKY VŠCHT PRAHA

Roční analytické studie v onkologii (RASO ČOS)

Souhrn

Zpracovali jsme soubor 487 pacientů léčených v Ústavu radiační onkologie Fakultní nemocnice na Bulovce v letech 1998- 2003, pro pokročilý karcinom recta a rectosigmoidea neoadjuvantní chemoradioterapií nebo radio-terapií, hodnotili jsme délku přežití v závislosti na způsobu léčby, vliv následné adjuvantní terapie na délku přežití, dosažený downstaging, možnost provést sfinkter zachovávající operace, procento lokálních recidiv a dosažené léčebné výsledky.

Klíčová slova: pokročilý karcinom recta, předoperační chemoradioterapie, adjuvantní terapie, délka přežití

Summary

Concomitant radiochemotherapy or preoperative radiotherapy have been proved to improve the outcome of locally advanced rectal cancer. In this group of 487 patients treated at the Institute of Radiation Oncology, Faculty Hospital Bulovka during 1998-2003 we evaluated the chance of sphincter sparing surgery, downstaging, the change of overall survival in regard to adjuvant therapy, and percentage of recurrences. The primary end point was overall survival.

Key words: advanced rectal cancer, concomitant radiochemotherapy, preoperative radiotherapy, sphincter sparing surgery, adjuvant therapy, overall survival.

Úvod

Kolorektální karcinom je onemocnění rozšířené ve vyvinutých zemích světa. Roční přírůstek nových pacientů ve světě je kolem 400 tisíc a ve stejném období podlehe tomu onemocnění okolo 250 tisíc nemocných. Asi 1/3 nádorů má primární lokalizaci v oblasti recta a přechodu v sigmoideum

Česká republika je v mezinárodním srovnání jednou ze zemí s nejvyšší incidencí kolorektálního karcinomu. V roce 2002 bylo hlášeno 8022 případů, což je 12,4% z celkového počtu zhoubných nádorů a ca in situ v ČR v daném roce. Diagnózy C 18-21 zaujímají první místa v incidenci, ale i v mortalitě. /15,6% zemřelých na ZN mělo diagnózu ca kolorekta/.

Prognóza onemocnění je ovlivňována věkem, pohlavím, délkou trvání symptomů, obstrukcí střeva, lokalizací tumoru, potřebou transfuze v době diagnózy a rozsahem chirurgického výkonu. Další faktory jsou dány charakteristikou nádoru - přítomností lymf- a angioinvasí, ploidity, diferenciací tumoru, předoperační hladinou CEA. Velmi významným faktorem

je pozitivita lymfatických uzlin resekátu střeva. Významný faktor pro dlouhodobé přežití je stádium onemocnění v době diagnózy, postižení lymfatických uzlin, prorůstání tumoru mimo střevní stěnu, postižení okolních orgánů a výskyt vzdálených metastáz..

Protože 60-70% pacientů s kolorektálním karcinomem je v době diagnózy ve stádiu II-III, t.j T3-T4, je u těchto nemocných s předoperačně pokročilým onemocněním - suspekci na uzlinové postižení nebo na infiltraci okolních orgánů, indikovaná předoperační chemoradioterapie, následovaná chirurgickým výkonem a následnou adjuvantní chemoterapií. Americké studie preferují pooperační radioterapii a chemoterapii, evropské země dávají přednost předoperační chemoradioterapii s následným chirurgickým výkonem se snahou o výkon zachovávající sfinkter a snížení morbiditu, která souvisí s komplexní pooperační terapií.

Radioterapie jako součást komplexní léčby snižuje množství lokálních recidiv, ale neprodlužuje celkové přežití.

Prodloužení OS chemoterapií na bázi 5-FU bylo prokázáno NSABP trialy R-01, R-02./ J NCI 2000/. NSABP R-02 řešil

otázku nezbytnosti pooperační radioterapie pánve u stádia II karcinomu rekta se závěrem, že pacienti pT3N0 s dobře diferencovaným tumorem, nepřesahujícím stěnu střešní o více než 2mm, bez lymfatické invaze nebo angioinvaze mají stejný benefit z adjuvantní radio a chemoterapie a není rozdíl mezi režimy s levamisolem nebo 5-FU jako bolus. (Proti našim pacientům se liší počtem resekovaných lymfatických uzlin - v trialech jich udávali minimálně 13.)

Následovaly další studie, které zkoumaly rozdílný účinek kontinuálně podávaného 5-FU versus 5-FU jako bolus 1. a 5. týden pooperační radioterapie. Poslední studie, která v současné době porovnává účinek obou režimů, Intergroup 0144, měla předběžné výsledky hodnotící tříleté přežití na ASCO 2003.

V rameni hodnotícím efekt kontinuálního FU prokazovala delší OS a DFS, se snížením toxicity. Rozdíl v celkovém účinku není statisticky významný, ale pro doporučení kontinuální infuze mluví snížení hematologické toxicity, takže předběžné doporučení pro pooperační adjuvantní terapii pacientů stádia II a III karcinomu rekta je 5-FU v kontinuální infuzi nebo bolus během radioterapie 45-54 Gy a 4 cykly adjuvantní chemoterapie 5-FU s leukovorinem.

V rámci evropských trialů Swedish Rectal Cancer trial zahrnuje 1110 pacientů s klinicky resekabilním ca rekta T1-T3. Hodnotí samotný chirurgický výkon versus předoperační radioterapii hypofrakcionálním schématem - 25Gy podaných v 5 frakcích. Pětileté přežití je prodlouženo v rameni s radioterapií o 10%, počet lokálních recidiv snížen - 11% versus 27%. V rameni s radioterapií jsou projevy tkáňové toxicity: výskyt inkontinence stolice, imperativní průjmy, jako výsledek užití hypofrakcionálního schématu.

Poměrně vysoký počet lokálních recidiv v obou ramenech je dán tím, že chirurgický výkon neobsahoval standardně totální excisi mesorekta. Stejný problém byl i u Dutch Colorectal Cancer Group trial, kde nebyl prokázán benefit v rameni s radioterapií, ale standardně nebyla totální excise mesorekta a dostatek vyšetřených uzlin.

V uzavřených II. fázích studií předoperační chemoradioterapie je normofrakcionace 1,8Gy podaných v 5 dnech týdně, do celkové dávky 45-50,4 Gy s 5-FU konkomitantními chemoterapeutickými režimy. Kompletní patologická remise byla zjištěna u 20% - 26% /CHRT/ v.s 6-12% /RT/. Sfinκτη zachovávací operaci se podařilo realizovat u 60-80% pacientů i s užitím koloanální anastomozy jako alternativy k amputaci rekta.

V současné době se hodnocením chemoradioterapie zabývají 3 randomizované trialy EORTC trial 22921, French Foundation FFCD trial 9203 a Trans-Tasman RO Group trial 01.04. Data byla prezentována na ASCO 2004, 2005. U ramene s předoperační chemoradioterapií je jednoznačně vyšší procento patologického downstagingu a 10% kompletní regrese nálezu. Zvýšilo se procento akutní toxicity na 14%, ale z příliš krátkého období sledování se nedá vysoudit vliv chemoradioterapie na lokální kontrolu a délku přežití.

Německý trial CAO/ARO/AIO-94 /Sauer et all./ sledoval cca 800 pacientů s klinickým stádiem II nebo III karcinomu rekta a hodnotil předoperační chemoradioterapii versus pooperační chemoradioterapii 5-FU buď v bolusové formě nebo kontinuální infuzi. Operační řešení zahrnovalo totální mesorektální excisi a probíhalo 6 týdnů po ukončení předoperační léčby. Po operaci za měsíc běžela adjuvantní chemoterapie 5-FU 4 cykly nebo pooperační chemoradioterapie v identickém složení jako předoperační, mimo doplnění celkové dávky radioterapie boostem.

V mediánu 4 let nebyly žádné významné rozdíly v přežití. Byl výrazný downstaging v rameni předoperační chemoradioterapie, vyšší počty sfinκτη zachovávací operace a snížení počtu lokálních recidiv v rameni předoperační chemoradioterapie. Na základě německého trialu může být formulováno, že předoperační chemoradioterapie pro pacienty s pokročilým karcinomem rekta stádia II a III je standardní léčba.

Cíl práce, metodika.

V naší studii jsme zpracovali terapeutické výsledky pacientů léčených na Ústavu radiační onkologie v letech 1.1.1998-31.12.2003.

Zahrnuli jsme pacienty s pokročilým karcinomem rekta, klinicky hodnoceným stádiem T3-T4, N0-N1. Validní data se podařilo získat u 487 pacientů.

Metodika:

Statistická analýza zaměřená na délku přežití v příslušně vymezených skupinách je založena na Kaplan-Mayerově metodě konstrukce křivky přežití s využitím cenzorování.(9) Hypotézy o shodě křivek přežití byly testovány Cox-Mantelovým testem (9,10). K porovnání relativních četností v jednotlivých skupinách (vymezených například downstagingem, druhem terapie nebo klinickým stádiem), bylo použito Studentova testu. Hladina významnosti u všech testů je zvolena 95%.

Za významné, tedy k zamítnutí nulové hypotézy vedoucí, pokládáme tedy všechny testy mající p hodnotu menší než 0,05.

Charakteristika skupiny:

věk	lokalizace tumoru	histologie	CT vyšetření	EUS
35-82 let	8-14 cm	ano	ano (100 % pac.)	15 %pac.

Hodnocení uzlinového nálezu předoperačně je tedy jen orientační. Primárně generalizovaní pacienti do hodnocení zařazeni nebyli.

Hodnotili jsme symptomatologii - trvání enterorhagie, poruchy defekačního stereotypu, elevaci CEA event. jiných markerů, anemii.

Cílem studie bylo hodnotit předoperační konkomitantní chemoradioterapii 5-FU v konkurenčním podání bolusem a kontinuální infuzí nebo capecitabinu versus radioterapie samotné.

Hodnotilo se:

- 1/ procento downstagingu ve všech ramenech předoperační terapie,
- 2/ operabilita nádoru
- 3/ procento sfinκτη šetřících operací
- 4/ délka přežití v závislosti na neoadjuvantní terapii
- 5/ délka přežití bez příznaků onemocnění (DFI)
- 6/ celkové přežití (u části pacientů nemůžeme stanovit pětileté přežití)
- 7/ toxicita podané léčby
- 8/ procento recidiv v závislosti na předoperační terapii a radikálně operačního výkonu.

Downstaging byl hodnocen jako snížení stádia onemocnění nebo kompletní vymizení tumoru.

Ověření hypotézy závislosti délky přežití na stupni dosaženého downstagingu a předpokladu, že downstaging by mohl být prognostický faktor délky přežití. Pokusili jsme se vyvodit vztah mezi mírou uzlinového postižení, délkou DFI a celkového přežití.

Schéma terapie :

Chemoterapie:

A /5-FU bolus 350mg/m²/d + LV 20mg/m²/d 1.a 5.týden předoperační RT.

B/ 5-FU kontinuální infuze

C/ capecitabin 825mg/m² 2x denně 7 dnů v týdnu po dobu předoperační radioterapie.

Radioterapie:

megavoltážní terapie lineárními urychlovači 5 ev. 6 MeV, normofrakcionací 1,8- 2,0 Gy/denně 5 dnů v týdnu, ze 4 polí, do ekv. d. 42,0- 50,4 Gy. Největší část pacientů dostala dávku 44,0 Gy. Tato dávka byla velmi dobře tolerována, s minimální akutní toxicitou. Boost nebyl podán.

Hypofrakcionální schéma nebylo použito.

Chirurgická léčba:

pět spolupracujících pracovišť, operace 4.-6.týden po ukončení neoadjuvantní terapie. Hodnotili jsme typ operace, počty odebraných uzlin, komplikace léčby, pokud byly ve vztahu k předoperační terapii.

Po návratu z chirurgického pracoviště následovaly 4-6 cyklů adjuvantní CHT na bázi 5-FU.

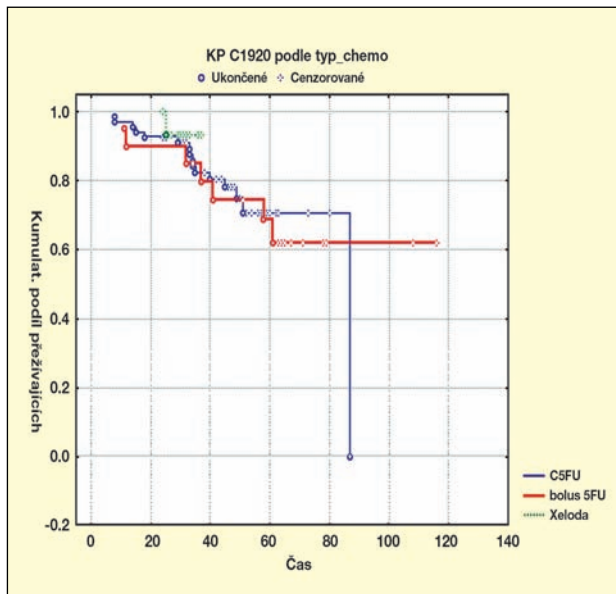
Výsledky :

ad 1,4/ Byl zhodnocen downstaging u 303 pacientů, pT0 pN0 se vyskytl pouze ve skupině s konkomitantně podávaným capecitabinem. Počet těchto pacientů byl velmi nízký, nelze statisticky vyhodnotit (16 pacientů).

Kombinací neúplnosti některých údajů v rámci vstupního vyšetření a údajů o nenalezených uzlinách nebo jejich minimálním počtu v resektátu /pNX/, bylo často obtížné přesně stanovit předoperační stádium onemocnění /hodnoceno T3NX nebo TXNX/. Následně u řady pacientů nebylo možné hodnotit downstaging, ale byli zahrnuti do křivek přežití. Nenaplněním požadavku totální mesorektální excise nebyl odběr a pooperační vyšetření dostatečného množství lymfatických uzlin i když chirurg náležitý odběr uzlin deklaroval.

Křivky přežití po neoadjuvantní chemoradioterapii s 5-FU se statisticky významně neliší (KI vs.bolus)

Obř. 1: Křivka přežití podle typu neoadjuvantní chemoterapie.



Proměnné: OS měsíce podle typu chemo (3 skupiny (FPC1920) $\chi^2 = .287957$ sv = 3 p = .86591 (málo dat u druhé a třetí skupiny)

ad 2,3/

Spolupracující chirurgická pracoviště preferovala radikální operace, sfinkter šetřící operace představují něco přes 50% výkonů.

- resekce s anastomozou end to end - sfinkter šetřící operace - 52,77%

- radikální operační řešení s amputací rekta sec.Miles v 37, 58%

- zbývajících 10 % - neoperovaní pacienti nebo lokálně inoperabilní.

Tito byli zahrnuti do hodnocení přežití.

ad 7/ Komplikace podané předoperační konkomitantní chemoterapie nebyly závažné. U obou ramen 5-FU chemoterapie i capecitabinu nebyly evidovány nežádoucí účinky gr. III -IV. Celkově lze hodnotit tuto neoadjuvantní chemoradioterapii s hematologickou toxicitou nepřekračující stupeň 2. i u jedinců ve věku nad 70 let, jako dobře tolerovanou.

ad 8/ procento recidiv v závislosti na předoperační terapii a radikalitě operačního výkonu.

Relapsy se vyskytly celkem u 24% všech léčených, z toho největší podíl tvořily vzdálené relapsy (plíce, játra) 34%, méně lokálních relapsů 26,5%, neurčené 39% (pacienti dispenzarizováni na jiném pracovišti, údaje získané dotazem).

Takže z celkového počtu pacientů :

- lokální recidivy 6,36%

- vzdálené relapsy 8,2%

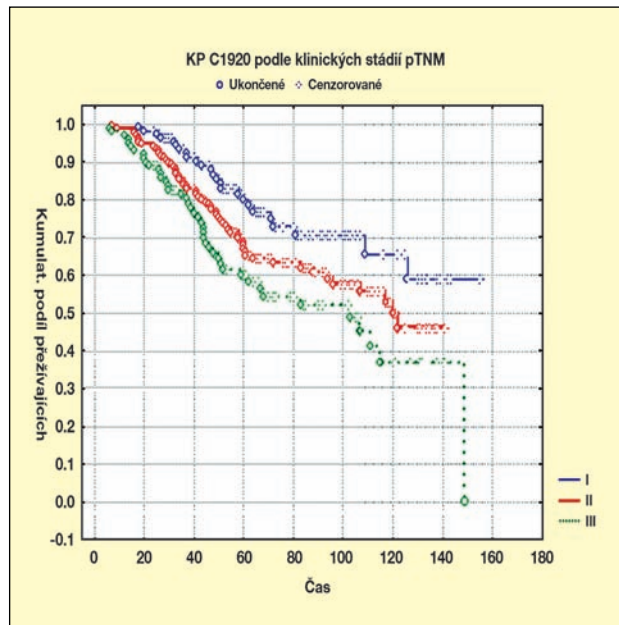
- blíže neurčených 9,4%.

Hodnocení pooperační morbiditě vyhodnocením údajů z chirurgických pracovišť a statistické zpracování nebylo možné pro nedostatek validních údajů o pooperační morbiditě a komplikacích. Podle zpráv se zdá, že je-li dodržen interval operace 4-6 týdnů po ukončení radioterapie, nejsou větší komplikace během samotného výkonu, ani v délce pooperačního hojení.

ad 6/ Pětileté přežití v našem souboru po neoadjuvantní chemoradioterapii a následně adjuvantní chemoterapii mělo 73% pacientů. Ve srovnatelném období udávají SEER 5-ti leté přežití u bílých Američanů 66,6%, statistické údaje české ročenky uvádějí 60%.

Křivky přežití prokázaly prodloužení přežití u pacientů po neoadjuvantní chemoradioterapii s pooperačním negativním nodálním statem a adjuvantní chemoterapií. U pacientů s adjuvantní radioterapií se prodloužení celkového přežití statisticky významně neprokázalo.

obř. 2: Křivka přežití celého souboru (C19,20) podle pooperačního stágingu.



Křivky přežití podle klinických stádií TNM

Proměnné: OS měsíce by pTNM2 (3 skupiny (FPC1920.sta) $\chi^2 = 12,0908$ sv = 3 p = **.00237**

Ke grafům je vždy připojen výsledek Cox-Mantelova testu, který testuje statistickou shodnost zobrazovaných křivek. Je-li p -hodnota menší než 0,05, pak je rozdílnost zobrazovaných křivek prokázána s jistotou 95 %, v opačném případě jsou křivky statisticky shodné.

Označení skupin ve vztahu k pTNM

skupina 0 = pT0N0M0

skupina I = pT1N0M0, pT2N0M0

skupina II = pT3N0M0, pT4N0M0

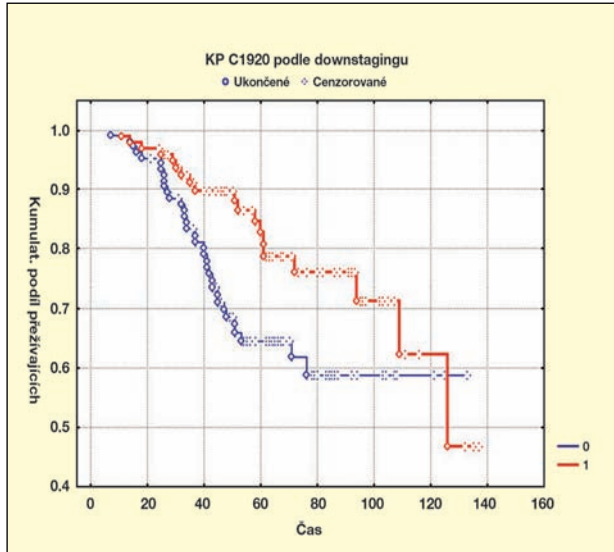
skupina III = pT*N1M0, pT*N2M0, pT*N3M0

* znamená 1-4 nebo X

Byl prokázán vztah mezi mírou uzlinového postižení a délkou přežití.

Obr. 2 objasňuje, jakým způsobem je významné uzlinové postižení a jako ovlivňuje délku přežití. (křivka 3). Statistická analýza ukázala, že se významně odlišují i křivky I a II. Závislost délky přežití na dosažení downstagingu se potvrdila pro celý soubor 487 pacientů kteří dostali neoadjuvantní terapii.

Obr. 3: Křivky přežití u pacientů (C19,20) po neoadjuvantní terapii podle dosaženého downstagingu
0- downstaging nedosažen
1- downstaging ano



Cox-Mantelův test (FPC1920.sta)
Test. statist. = -2,30129 p = ,02138

Závěr:

Užívané léčebné techniky našeho pracoviště jsou v souladu s celosvětovým trendem předoperační a pooperační terapie pokročilých karcinomů rekta.

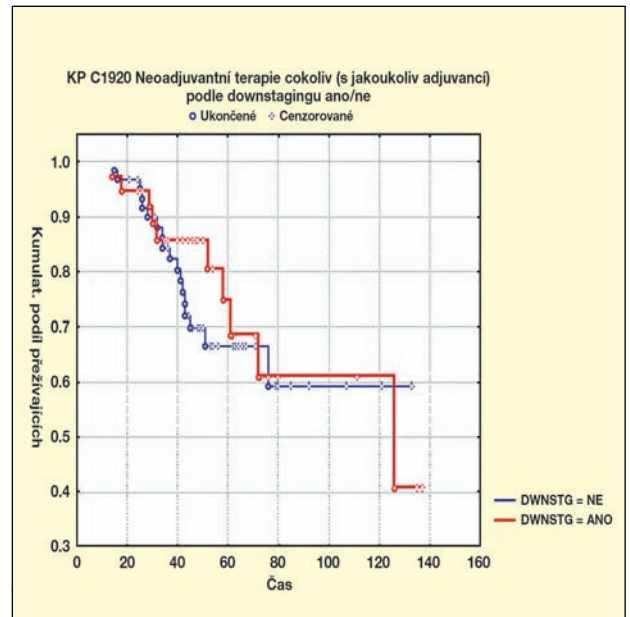
V tomto smyslu není nutno užívané techniky měnit, stojí za úvahu zařadit podání nových cytostatik, např. capecitabin, irinotecan, oxaliplatin, bevacizumab ke zvýšení procenta downstagingu a zvýšení pravděpodobnosti úspěšnosti sfinkter šetřícího výkonu.

Užití nových cytostatik na našem pracovišti závisí na očekávaných výsledcích celosvětově probíhajících studií.

U pacientů vyššího věku je nutné individuální posuzování celkového stavu, biologického věku a v případě četných komorbidit zvážit neoadjuvantní radioterapii.

Bude nutné zvýšit procento endosonografických vyšetření, které upřesňuje míru infiltrace stěny a postižení lokoregionál-

Obr. 4: Křivky přežití pacientů s neoadjuvantní terapií a následnou adjuvantní terapií podle dosaženého downstagingu



Křivka přežití u skupiny pacientů, kde bylo dosaženo downstagingu, je statisticky významně odlišná od skupiny bez dosažení downstagingu.

Délka přežití se neliší u pacientů po adjuvantní terapii u skupiny s negativním i pozitivním downstagingem.

Nebyla potvrzena hypotéza užití downstagingu jako nezávislého markeru.

ních lymfatických uzlin. Bez přesné znalosti vstupního stagingu je obtížné hodnotit downstaging.

Bude nutné zvýšit požadavky na chirurgická pracoviště k dodržování světových doporučení na rozsah operačního výkonu /TME/.

Bude nutné zvýšit požadavky na histopatolog k určování přesného počtu odebraných uzlin.

Většími nároky na preciznost vstupních dat budou hodnotitelné léčebné výsledky lépe srovnatelné s evropskými daty a následně bude i větší možnost zapojit naše centra do evropských studií.

Tato práce byla umožněna laskavou podporou České obce sokolské, která poskytla prostředky získané na Běžích Terryho Foxe pořádaných v řadě měst České republiky v roce 2004.

Organizační stránku zařadila Česká onkologická společnost ČLK JEP.

Literatura:

1. Sauer R., Becker Heinz, Hohenberger W. et al. Preoperative vs. Postoperative Chemoradioterapy or Rectal Cancer NEngl.J Med 351 : 1731-40, 2004
2. Bosset J-F., et al. Preoperative chemoradioterapy vs. peroperative radioterapy in rectal cancer pts. Eur. J Cancer 40:219-224, 2004
3. Moertel CG, Fleming TR, MacDonald JS: FU + levamisole as effective adjuvant therapz after resection of stage III colon carcinoma. Ann Int. Med 122.321-326 1995
4. Cassidy J, Scheidtauer W , McKendrick J, et al : Capecitabine vs. bolus 5FU/LV as adjuv. th for colon cancer / the X-ACT study: results of a phase III trial ASCO 2004, New Orleans LA
5. Kocáková I, Špelda S ,Kocák I et al. Předoper.chemoradioterapie s kape-

6. Watanabe T, Wu TT: Molecular predictors of survival after adjuvant CHT pro colorectal cancer N.Engl. J Med 344: 1196- 1206 2001
7. Souglakos J, Androulakis N., Mavroudis D., et all : Multicenter dose-finding study of concurrent capecitabine and radiotherapy as adjuvant treatment for operable rectal cancer. Int. J. Rad. Oncol. Biol. Phys., Vol. 56, No 5, pp. 1284-1287, 2003
8. Jun-Sang Kim, Jae-Sung Kim, Moon-June CHO et all: Preoperative chemoradiation using oral capecitabine in locally advanced rectal cancer. Int.J.Radiation Oncol Biol.Phys., Vol. 54, No 2 pp. 403-408, 2002
9. Statistica System Reference Manual. StatSoft Cz.s.r.o 2002
10. Hendel Jan: Přehled statistických metod zpracování dat. Portál 2004
11. Novotvary 2002 ČR - ÚZIS ČR 2005 materiály ASCO 2004,2005

Došlo: 28. 2. 2006
Přijato: 30. 3. 2006

KREVNÍ TLAK A FUNKCE LEVÉ KOMORY SRDEČNÍ U PACIENTŮ LÉČENÝCH ANTRACYKLINY

BLOOD PRESSURE AND LEFT VENTRICLE FUNCTION IN PATIENTS TREATED WITH ANTHRACYCLINES

BALCÁRKOVÁ P.¹, HRSTKOVÁ H.², ELBL L.³, NOVÁKOVÁ Z.⁴, ZÁVODNÁ E.⁴, HONZÍKOVÁ N.⁴, FIŠER B.⁴

¹I. INTERNÍ KARDIOANGIOLOGICKÁ KLINIKA, FN U SVATÉ ANNY, BRNO

²I. DĚTSKÁ INTERNÍ KLINIKA, FN BRNO

³I. INTERNÍ KARDIOLOGICKÁ KLINIKA, FN BRNO

⁴FYZIOLOGICKÝ ÚSTAV, LÉKAŘSKÁ FAKULTA MASARYKOVY UNIVERZITY V BRNĚ

Souhrn

Východiska: Posouzení vlivu léčby antracykliny na krevní tlak a funkci levé komory srdeční.

Soubor: 40 pacientů podstoupilo průměrně 6,5 roku od ukončení chemoterapie echokardiografické vyšetření a neinvazivní monitorování krevního tlaku. Soubor byl rozdělen na skupinu s vyšší (A, n=20) a nižší (B, n=20) ejekční frakcí. **Metody a výsledky:** Statisticky jsme hodnotili (regresní analýza, Mann-Whitneyho test) naměřené a na věk 15 let normalizované hodnoty: systolický a diastolický tlak krve, ejekční frakci, frakcionální zkrácení a citlivost baroreflexu vypočtenou pomocí spektrální analýzy. V základních antropometrických ukazatelích, v dávce antracyklinů a rentgenového záření, v zastoupení diagnóz či podání kardioprotektivní medikace se porovnávané soubory nelišily. U skupiny B jsme zjistili signifikantně nižší získané i normalizované hodnoty frakcionálního zkrácení ($p < 0,001$) a systolického tlaku krve ($p < 0,01$) vzhledem ke skupině A, rozdíly v citlivosti baroreflexu jsme nenalezli. Zjistili jsme pozitivní korelaci mezi ejekční frakcí a systolickým tlakem krve v celém souboru ($r = 0,37$; $p < 0,05$). **Závěry:** Snížení systolického tlaku krve u osob s nižší ejekční frakcí může souviset s kardiotoxickou protinádorové léčby. Je nezávislé na citlivosti baroreflexu.

Klíčová slova: Antracykliny - Kardiotoxicita - Krevní tlak - Ejekční frakce - Frakcionální zkrácení - Citlivost baroreflexu

Summary

Backgrounds: Determination of the influence of anthracycline therapy on blood pressure and left ventricle function. **Subjects:** Forty children were examined by echocardiography and by non-invasive beat-to-beat monitoring of blood pressure at 6.5 years on average after finishing a therapy with anthracyclines. The patients were divided into two subgroups: with lower (A) and higher (B) ejection fraction. **Methods and Results:** Mean values and standard deviations of the ejection fraction, fractional shortening, systolic and diastolic blood pressure, and baroreflex sensitivity determined by spectral analysis were assessed. The Mann-Whitney test was used to compare the values obtained and standardised by means of regression analysis for the age of 15 years. No significant differences in the anthropometric parameters, the cumulative dose of anthracyclines and X-ray radiation, diagnosis distribution, or use of cardioprotectants were found. In the group B we found significantly lower measured and standardised values of fractional shortening ($p < 0.001$) and systolic blood pressure ($p < 0.01$) in comparison with group A, but no differences in baroreflex sensitivity. The ejection fraction correlated positively with systolic blood pressure in the entire group ($r = 0.37$, $p < 0.05$). **Conclusions:** The decrease in systolic blood pressure could be linked with the lower ejection fraction related to the cardiotoxicity of anti-tumour therapy. It appears to be independent of baroreflex sensitivity.

Key words: Anthracyclines - Cardiotoxicity - Blood pressure - Ejection fraction - Fractional shortening - Baroreflex sensitivity

ÚVOD

Antracykliny představují jednu ze skupin protinádorových léčiv užívaných v terapii hematologických i solidních malignit. Hlavním mechanismem jejich toxicity je navození apoptózy tvorbou volných kyslíkových radikálů, narušením na železu závislých metabolických procesů (1) a též přímým půso-

bením na DNA (2). Většina normálních tkání lidského těla má nejrůznější ochranné enzymatické systémy, jako superoxid dismutásový, katalásový a další. Srdeční a nervová tkáň však má velmi malé zastoupení těchto systémů, proto častou komplikací při léčbě těmito cytostatickými antibiotiky je efekt kardiotoxický (3, 4) a neurotoxický (5).

V posledním desetiletí došlo ke značnému zlepšení prognózy dětí se zhoubnými nádory. Současně s úspěšností jejich léčby však přibývá množství přežívajících pacientů nejrůznějších věkových kategorií, kteří jsou ohroženi vedlejšími účinky protinádorové léčby. Dilatační kardiomyopatie a chronické srdeční selhání jako projev chronické kardiotoxicity antracyklinů se nejčastěji manifestuje v průběhu několika prvních let. Různé formy myokardiální dysfunkce však byly popsány i v delším časovém intervalu od ukončení léčby (6, 7). V naší studii jsme sledovali vztah mezi parametry popisujícími funkci levé komory srdeční a krátkodobou baroreflexní regulaci krevního tlaku u dětí, dospívajících a mladých dospělých po kardiotoxické protinádorové léčbě. Funkce levé komory srdeční je zpravidla hodnocena echokardiograficky pomocí indexu ejekční frakce (EF) a výpočtem parametru frakcionální zkrácení (FS). Je známo, že snížení frakcionálního zkrácení koreluje velmi silně s abnormální ejekční frakcí (8).

Při hodnocení regulace krevního tlaku jsme se zaměřili na citlivost baroreflexu. Citlivost baroreflexu (BRS, ms/mmHg) je základním regulačním mechanismem pro krátkodobou regulaci krevního tlaku. U dospělých víme, že její hodnota klesá s věkem (9), u dětí se s věkem nemění (10). Snížené hodnoty BRS nacházíme také u dospělých s hypertenzí (méně než 5 ms/mmHg) a patologicky snížená hodnota (méně než 3 ms/mmHg) představuje zvýšené riziko náhlé srdeční smrti u pacientů po infarktu myokardu (11, 12). Citlivost baroreflexu můžeme také vyjádřit indexem BRSf (mHz/mmHg), který je méně ovlivněn tvráním průměrného tepového intervalu (13). Cílem této práce je studium vztahu mezi parametry popisujícími funkci levé komory srdeční a krátkodobou baroreflexní regulaci krevního tlaku u dětí, dospívajících a mladých dospělých po prodělané kardiotoxické protinádorové léčbě.

SOUBOR NEMOCNÝCH A METODY

1. Charakteristika souboru

Vyšetřili jsme celkem 40 bývalých onkologických pacientů, kteří byli v dětství léčeni antracykliny a byli dlouhodobě v remisi onemocnění. Průměrná doba od ukončení chemoterapie byla 6,5 roku. Pacienti zařazení do naší studie byli bez zjevných klinických známek kardiotoxicity a bez specifické farmakoterapie. Soubor vyšetřených osob jsme rozdělili podle velikosti hodnot ejekční frakce na dvě skupiny. Kontrolní skupinu A (20 osob, z toho 10 chlapců a 10 dívek, věku $14,0 \pm 3,0$ let) tvořily děti s EF 65% a vyšší léčené antracykliny. Tato hodnota EF odpovídá hodnotám udávaným jako fyziologické (14) a je vyšší než u dospělých (15, 16). Do skupiny B (20 osob, z toho 9 chlapců a 11 dívek, věku $15,0 \pm 4,0$ let) byly zařazeny děti s EF nižší než 65%. Nebyly přítomny echokardiografické známky diastolické dysfunkce či chlopně vady, nebyly přítomny známky poruchy výživy nebo hydratace. V základních antropometrických ukazatelích, celkové kumulativní dávce antracyklinů a případně rentgenového záření, v počtu pacientů se současnou radioterapií mediastina, v zastoupení jednotlivých typů nádorových onemocnění či podání kardioprotektivně působících dextrazoxanu se skupiny s vyšší a nižší ejekční frakcí signifikantně nelišily. (**Tab.1**). Studie byla schválena etickou komisí MU v Brně. Vyšetřené osoby a rodiče osob mladších osmnácti let dali informovaný souhlas o zařazení do studie.

2. Echokardiografické vyšetření

Nemocní byli vyšetřeni standardním způsobem klidovou echokardiografií na přístroji ATL HDI 5000 SonoCT dle doporučení ASE (17). Jako ukazatele systolické funkce levé komory (LK) jsme použili ejekční frakci (EF) a frakční zkrácení (FS). FS bylo vypočteno z jednorozměrného vyšetření stanovením enddiastolického a endsystolického rozměru LK rovnici $FS (\%) = \frac{Dd - Ds}{Dd}$ (Dd - enddiastolický rozměr, Ds - endsystolický rozměr levé komory srdeční). EF byla stanovena Simpsonovou metodou z dvourozměrné echokardiografie.

Tabulka č. 1.: Charakteristika souboru pacientů

	Celý soubor	Skupina A	Skupina B	Statistická významnost
Věk při měření (roky)	14,3 ± 3,7	14,0 ± 3,0	15,0 ± 4,0	NS
Věk při léčbě (roky)	7,78 ± 4,97	7,37 ± 4,63	8,20 ± 5,25	NS
Výška (cm)	159,1 ± 14,1	159,0 ± 12,0	160,0 ± 6,0	NS
Hmotnost (kg)	52,1 ± 14,3	51,0 ± 11,0	53,0 ± 17,0	NS
BMI (kg/m ²)	20,58 ± 4,2	20,17 ± 3,8	20,7 ± 6,8	NS
Dávka antracyklinů (mg/m ²)	221,5 ± 67,55	218,50 ± 55,52	224,50 ± 77,62	NS
Dávka radioterapie (gray)	6,05 ± 10,91	7,3 ± 11,92	4,8 ± 9,63	NS
Ozáření mediastina (počet pacientů)	10	6	4	NS
Typ nádoru (počet pacientů)				
• ALL	22	10	12	NS
• MH	12	7	5	NS
• NHL	2	1	1	NS
• Ostatní	4	2	2	NS
Kardioprotekce (počet pacientů)	27	14	13	NS

Průměrné hodnoty ± směrodatné odchylky; skupina A – pacienti s ejekční frakcí mezi 73-65 %, skupina B – pacienti s ejekční frakcí mezi 65-49 %, NS – bez statistické významnosti, ALL - Akutní lymfoblastická leukémie, MH - Morbus Hodgkin, NH - Non-Hodgkinský lymfom, ostatní - akutní myeloidní leukémie, sarkom měkkých tkání, neuroblastom

3. Hodnocení citlivosti baroreflexu

Citlivost baroreflexu jsme stanovovali na podkladě neinvazivního snímání krevního tlaku z prstových arterií přístrojem Finapres (Ohmeda, USA). Krevní tlak jsme vyšetřovali po počátečním 15 minutovém zklidnění u sedících pacientů v dopoledních hodinách. Naměřené hodnoty byly korigovány podle hodnot krevního tlaku měřených auskultačně v pažní tepně. Systolický a diastolický krevní tlak (STK a DTK) byl registrován tep po tepu po dobu pěti minut při dýchání s frekvencí podle metronomu (20 dechů za minutu). Pro statistické zpracování byly jejich hodnoty vypočítány jako průměry z pětiminutových záznamů, tedy z 300-400 hodnot STK a DTK. Citlivost baroreflexu byla stanovena pomocí spektrální analýzy kolísání systolického krevního tlaku a tepových intervalů (TI) (18) jako index BRS (v ms/mmHg) a jako index BRSf (v mHz/mmHg). Pro spektrální analýzu byla získaná data TI, STK a DTK lineárně interpolována a vzorkována s frekvencí 2 Hz. Ze všech signálů jsme odstranili lineární trend. Vypočítali jsme vzájemné výkonové spektrum kolísání systolického tlaku a tepového intervalu $G_{xy}(f)$ (mmHg*ms) a jeho hodnotu dělili hodnotou výkonové spektrální hustoty kolísání systolického tlaku $G_x(f)$ (mmHg²). Získaná hodnota, označována jako modul $H(f)$, odpovídá při frekvenci 0,1 Hz baroreflexní senzitivitě (BRS) v ms/mmHg.

$$H(f) = \frac{G_{xy}(f)}{G_x(f)}$$

Index BRS je závislý na průměrném tepovém intervalu, u kterého v průběhu vývoje u dětí dochází ke změnám. Přepočtem původních hodnot TI (ms) získaných tep po tepu na tepovou frekvenci (Hz) s použitím stejného vzorce jsme provedli výpočet i indexu BRSf (Hz/mmHg) nezávislého na tepových intervalech (19). Naměřené hodnoty STK, DTK, BRS, BRSf, EF a FS jsme vzhledem k rozdílnému věku jednotlivých pacien-

tů normalizovali pomocí lineární regrese na věk 15 let, který je z hlediska vývoje hodnot krevního tlaku v závislosti na věku předělový (20).

4. Statistická analýza dat

U celého souboru i u jednotlivých skupin byla provedena základní popisná statistická analýza dat se stanovením průměrů, směrodatných odchylek všech sledovaných parametrů. K jejich vzájemnému porovnání byl použit Mann-Whitneyho test. Vztahy mezi proměnnými byly testovány metodou lineární regrese analýzy dat. Použili jsme statistický program Statistica 6.0 (StatSoft).

VÝSLEDKY

Porovnali jsme hodnoty systolického, diastolického krevního tlaku, BRS, BRSf a frakčního zkrácení u skupiny osob s vyšší a nižší ejekční frakcí, a to jak hodnoty naměřené, tak hodnoty standardizované na věk 15 let. (**Tab. 2**). Při určení standardizovaných hodnot jsme vycházeli z regresní analýzy závislosti hodnot naměřených parametrů v jednotlivých skupinách. (**Obr. 1a-f**). U skupiny s nižší ejekční frakcí jsme zaznamenali signifikantně nižší hodnoty systolického krevního tlaku a jak jsme předpokládali, též nižší hodnotu frakčního zkrácení.

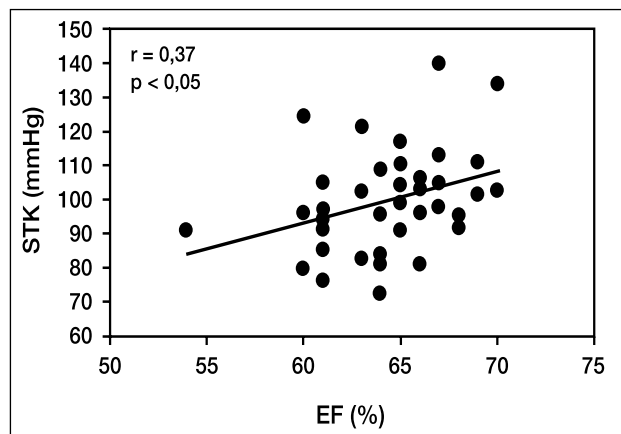
Tabulka č. 2.: Porovnání sledovaných parametrů mezi skupinami

	Naměřené hodnoty		Hodnoty standardizované k věku 15 let	
	A	B	A	B
EF (%)	66,90 ± 1,65	61,95 ± 2,54**	67,02 ± 1,63	61,94 ± 2,47**
FS (%)	37,10 ± 1,71	33,15 ± 1,66**	37,29 ± 1,62	33,15 ± 1,55**
STK (mmHg)	102,95 ± 14,09	95,00 ± 15,58*	104,26 ± 13,80	95,07 ± 14,39*
DTK (mmHg)	59,30 ± 7,88	55,20 ± 9,91	60,15 ± 7,65	55,23 ± 9,44
BRS (ms/mmHg)	7,61 ± 4,59	7,31 ± 3,75	7,13 ± 4,47	7,30 ± 3,68
BRSf (mHz/mmHg)	13,85 ± 6,78	11,94 ± 5,30	12,63 ± 6,30	11,92 ± 4,89

EF - ejekční frakce, FS - frakcionální zkrácení, STK-DTK - systolický a diastolický krevní tlak, BRS a BRSf - citlivost baroreflexu vyjádřená v ms/mmHg a v mHz/mmHg; statistická signifikance (Mann-Whitney test) A versus B: p<0,05 *; p<0,01 **

Nebyl nalezen statisticky významný rozdíl v hodnotách BRS a BRSf mezi skupinami s vyšší a nižší EF. Korelační analýza ukázala pozitivní korelaci mezi ejekční frakcí a systolickým tlakem krve v celém souboru (**Obr. 2**).

Obr. 2.: Korelace mezi ejekční frakcí a systolickým tlakem krve v celém souboru



DISKUSE

Signifikantní snížení systolického krevního tlaku u osob s nižší ejekční frakcí, které jsme pozorovali v této studii, může teoreticky poukazovat na spojení poklesu tlaku krve s kardiotoxickým účinkem protinádorové léčby a je nezávislé na citlivosti

baroreflexu. Dosavadní poznatky ukazují, že rizikové faktory myokardiálního poškození představují celková kumulativní dávka antracyklinů, ženské pohlaví (21, 22, 23), předchozí kardiální onemocnění a hypertenze (24), současné ozáření hrudi či mediastina (25), jednak vysoký věk pacientů (26, 27), jednak nízký věk pacientů (28, 29).

Očekávaná vyšší celková kumulativní dávka antracyklinů ve skupině pacientů s nižší ejekční frakcí byla v naší studii bez statistické významnosti, byl patrný pouze trend k vyšší hodnotě celkové dávky cytostatik. Současné podání radioterapie, kardioprotekce, rozložení pohlaví pacientů a zastoupení typů nádorových onemocnění v obou našich souborech bylo srovnatelné, nebyly nalezeny statisticky významné rozdíly. Žádný z pacientů neměl v anamnéze předchozí kardiální onemocnění či hypertenzi.

Pokles systolického krevního tlaku u pacientů po protinádorové léčbě nelze vysvětlit zcela jednoznačně. Jedná se o proces, který zasahuje do různých časových období, navíc mechanismus kardiotoxicity antracyklinů je multifaktoriální.

V počáteční fázi léčby může být pokles tlaku krve spojen se snížením srdečního výdeje v rámci projevů akutní a subakutní kardiotoxicity (30). V tomto období jsou vedle výskytu arytmií popisovány jak systolická tak diastolická dysfunkce levé komory srdeční (3, 30). Daleko častější je výskyt chronické kardiotoxicity, která může vyústit přes různě dlouhé období latence až do kardiomyopatie. Incidence srdečního selhání vzniklého na podkladě antracykliny indukované kardiomyopatie závisí na celkové podané kumulativní dávce. Nicméně i konvenční dávky antracyklinů často vedou k permanentnímu myokardiálnímu poškození zejména díky změnám v proteosyntéze srdečního svalu (1, 2, 4) s postupnou progredující redukcí funkční rezervy myokardu (22).

Vzhledem k současnému neurotoxickému účinku antracyklinů se předpokládá jejich přímý efekt na sympatickou větev autonomního nervového systému a tím narušení kardiiovaskulární homeostázy (31, 32). Sledování citlivosti baroreflexu je metoda, která přinesla řadu významných informací o poruchách regulace krevního oběhu u dospělých, zejména v predikci rizika náhlé srdeční smrti po infarktu myokardu (11, 12, 33), u hypertoniků (13). Naše neinvazivní metoda stonování citlivosti baroreflexu (18) umožňuje studovat BRS u dětí. Ve věku 11-18 let jsme již BRS tímto způsobem vyšetřili přibližně u 400 osob (34), dále jsme ukázali jak interindividuální rozdíly BRS, tak jeho reproducibilitu (35). Zjistili jsme, že u adolescentů s hypertenzí bílého pláště a s esenciální hypertenzí, BRS signifikantně klesá (36). V nynější studii jsme tento test použili u pacientů po prodělané léčbě antracykliny.

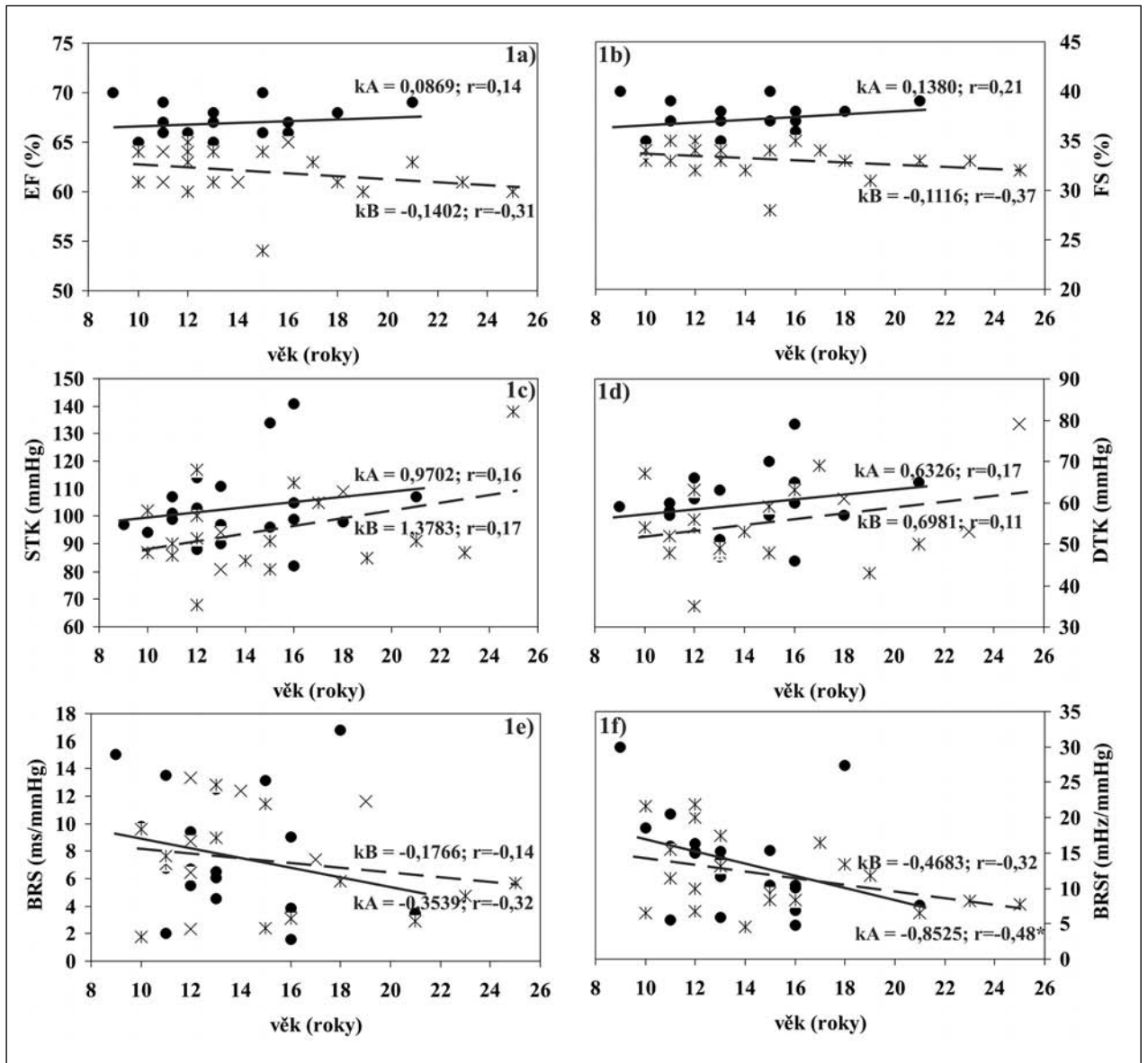
V předložené práci nebyl nalezen rozdíl v citlivosti baroreflexu mezi oběma skupinami, přestože korelační analýza ukázala pozitivní korelaci mezi EF a STK v celém souboru. V naší předchozí pilotní studii u pacientů po prodělané protinádorové léčbě jsme však ve srovnání se zdravými jedinci změny v citlivosti baroreflexu našli (37). Vzhledem k velké interindividuální variabilitě BRS i u zdravých osob (38) nemůžeme změny v BRS po léčbě antracykliny vyloučit.

V naší studii byli všichni pacienti zcela asymptomatictí, u žádného z nich se nerozvinulo srdeční selhání, či nutnost medikamentózní léčby. Zjištěné změny v regulaci krevního oběhu po léčbě s vedlejšími kardiotoxickými účinky jsou mírné, ale detekovatelné. Ukazují na důležitost dlouhodobého sledování kardiiovaskulárních funkcí u pacientů po protinádorové léčbě, zejména pak u pacientů s vyšší celkovou kumulativní dávkou antracyklinů.

ZÁVĚR

Snížení systolického tlaku krve u osob s nižší ejekční frakcí může souviset s kardiotoxickou protinádorové léčby. Je nezávislé na citlivosti baroreflexu.

Práce byla vypracována s podporou grantu IGA - NR 8006.



Regresní koeficienty (kA, kB) a korelační koeficient (r) skupin A (pacienti s ejekční frakcí mezi 65% a vyšší- kolečka, plná čára) a B (pacienti s ejekční frakcí pod 65%- hvězdičky, čárkovaně) ejekční frakce (EF), frakcionálního zkrácení (FS), systolického (STK) a diastolického (DTK) krevního tlaku a citlivosti baroreflexu (BRS, BRSf) s věkem byly použity ke standardizaci hodnot na 15 let. *p<0,05.

LITERATURA

1. Kwok JC, Richardson DR: Examination of the mechanisms involved in doxorubicin - mediated iron accumulation in ferritin: studies using metabolic inhibitors, protein synthesis inhibitors and lysosomotropic agent. *Molecular Pharmacology*, 2004, 65: 181-195
2. Minotti G, Menna P, Salvatorelli E, et al: Anthracyclines: molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity. *Pharmacological Reviews*, 2004, 56: 185-229
3. Butera G, Piciacchia D, Chesa M, et al: Evaluation of late cardiotoxicity of anthracycline in childhood. *Minerva Pediatr*, 1998, 50: 111-119
4. Geršl V, Bajgar J, Krs O, et al: Changes in cholinesterase activities after daunorubicin administration to rabbits. *Human and Experimental Toxicology*, 1996, 15: 834-838
5. Lekakis J, Prassopoulos V, Anthrassidias P, et al: Doxorubicin-induced cardiac neurotoxicity: study with iodine 123-labeled metiodobenzylguanidine. *J Nucl Cardiol*, 1996, 3(1): 37-41
6. Steinherz LJ, Steinherz PG, Tan CTC, et al: Cardiac toxicity 4 to 20 years

- after completing anthracycline therapy. *JAMA (J Am Med Assoc)*. 1991, 266: 1672-77
7. Pai VB, Nahata MC: Cardiotoxicity of chemotherapeutic agents. *Drug Safety*, 2000, 22 (4): 236-302
8. Mohta R, Saxena A, Jain Y, et al: Anthracycline Associated Cardiac Toxicity in Children with Malignancies. *Indian Pediatrics* 2002, 39:549-555
9. Gribbin B, Pickering TG, Sleight P, Peto R: Effect of age and high blood pressure on baroreflex sensitivity in man. *Circ Res* 1971, 24:424-431
10. Zavodna E, Honzikova N, Novakova Z, et al: The development of baroreflex sensitivity at the age between 11 and 21 years. *Journal of Hypertension*, 2005, 23(2): 286 - 286
11. Honziková N, Fišer B, Semrád B: Critical value of baroreflex sensitivity determined by spectral analysis in risk stratification after myocardial infarction. *PACE* 2000, 23:1965-67
12. La Rovere MT, Specchia G, Mortara A, et al: Baroreflex sensitivity, clinical correlates and cardiovascular mortality among patients with a first myocardial infarction. *Circulation* 1987, 59:256-262

13. Lábrová R, Honzíkova N, Nováková Z, et al: The relationship between the carotid intima-media thickness, baroreflex sensitivity, variability in blood pressure and heart rate, and ejection fraction in normotensives and hypertensives. *Scripta Medica*, 2005, 78(2):121-132
14. Wiles HB. Nuclear Cardiology. In: Garson A, Bricker JT, Fisher DJ, et al, eds. *The Science and Practice of Pediatric Cardiology*, 2nd edition Baltimore 1998: 894-895
15. Boker JS, Kent KM, Bacharach SL et al: Sensitivity, specificity and predictive accuracy of radionuclide cineangiography during exercise in patients with coronary artery disease. *Circulation* 1979, 60:572-580
16. Kurt D, Ahnberg S, Freed M et al: Quantitative radionuclide angiocardio-graphy: Determination of left ventricular ejection fraction in children. *Br Heart J*, 1976, 38:726-732
17. Otto CM. Echocardiographic evaluation of left and right ventricular systolic function. In: Otto CM. *Textbook of clinical echocardiography*. 2nd ed. Philadelphia, WB Saunders Comp, 2000:100-131
18. Honzíkova N, Fišer B, Honzík J: Noninvasive determination of baroreflex sensitivity in man by means of spectral analysis. *Physiol Res* 1992, 41:31-37
19. Al-Kubati MAA, Honzíkova N, Semrád B, et al: Baroreflex sensitivity in patients after acute myocardial infarction. *Scripta Medica*, 1999, 72(8): 337-343
20. Hrstková H, Honzíkova N, Závodná E, et al: Krevní tlak u dětí a adolescentů po léčbě zhoubného nádoru. *Sborník konference: Ostravské dny podpůrné léčby v onkologii 2004*:43
21. Legha SS, Benjamin RS, Mackay B, et al: Reduction of doxorubicin cardiotoxicity by prolonged continuous intravenous infusion. *Ann. Intern. Med.* 1982, 96:133-9,
22. Shan K, Lincoff AM, Young JB: Anthracycline-Induced Cardiotoxicity. *Ann. Intern. Med.* 1996, Vol 125: 47-58
23. Kremer LCM, van Dalen EC, Offringa M, et al: Anthracycline-Induced Clinical Heart Failure in a Cohort of 607 Children: Long-Term Follow-Up Study. *J. of Clinical Oncology*,
24. Von Hoff DD, Layard MW, Basa P, et al: Risk factors for doxorubicin-induced congestive heart failure. *Ann Intern Med.* 1979; 91:710-7
25. Ferrans VJ: Overview of cardiac pathology in relation to anthracycline cardiotoxicity. *Cancer Treat Rep.* 1978; 62:955-61
26. Fisher B, Redmond C, Wickerham DL, et al: Doxorubicin-containing regimens for the treatment of stage II breast cancer: The National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project experience. *J Clin Oncol.* 1989; 7:572-82.
27. Von Hoff DD, Layard MW, Basa P, et al: Risk factors for doxorubicin-induced congestive heart failure. *Ann Intern Med.* 1979; 91:710-7.
28. Cortes EP, Lutman G, Wanka J, et al: Adriamycin (NSC-123127) cardiotoxicity: a clinicopathologic correlation. *Cancer Chemother Rep.* 1975; 6:215-25
29. Pratt CB, Ransom JL, Evans WE: Age-related adriamycin cardiotoxicity in children. *Cancer Treat Rep.* 1978; 62:1381-5
30. Kesavan S, Lincoff AM, Young JB: Anthracycline-Induced Cardiotoxicity. *Annals of Internal Medicine* 1996, volume 125 Issue 1, 47-58
31. Sakai T, Inagki R, Taniguchi T, et al: Persistent release of noradrenaline caused by anticancer drug 4-epidoxorubicin in rat tail artery in vitro. *Eur J Pharmacol.* 1998, 356, 1, 25-30
32. Ekholm E, Rantanen V, Bergman M, et al: Docetaxel and autonomic cardiovascular control in anthracycline treated breast cancer patients. *Anti-cancer Research*, 2000, 20 (3B): 2045-2048
33. Honzíkova N, Semrád B, Fišer B, et al: Baroreflex sensitivity determined by spectral method and heart rate variability, and two-years mortality in patients after myocardial infarction. *Physiol Res*, 2000, 49: 643-650
34. Závodná E, Honzíkova N, Hrstkova H, et al: Development of baroreflex control of heart rate in children and adolescents. *The FASEB Journal*, 2005, 19 (5): 1297 - 1297
35. Jíra M, Závodná E, Honzíkova N, et al: Baroreflex sensitivity as an individual characteristic feature. *Phys Res*, 2006, 53 (3): 349-351
36. Honzíkova N, Nováková Z, Závodná E, et al: Baroreflex sensitivity in children, adolescents, and young adults with essential and white-coat hypertension. *Klin Pediatr* 2006, in press
37. Závodná E, Hrstková H, Honzíkova N, et al: Autonomous regulation of circulation in children after anthracycline therapy. *Scripta Medica*, 2002, 74(4): 195-202
38. Honzíkova N, Krtička A, Nováková Z, et al: A dampening effect of pulse interval variability on blood pressure variations with respect to primary variability in blood pressure during exercise. *Physiological Research*, 2003, 52:299-309

Došlo: 2. 2. 2006
Přijato: 4. 7. 2006

ANALÝZA MUTACE [657DEL(5)] V EXONU 6 GENU NBS-1 U 472 PACIENTEK SE SPORADICKÝM KARCINOMEM PRSU V ČESKÉ REPUBLICE.

THE ANALYSIS OF NBS-1 GENE MUTATION [657DEL(5)] IN EXON 6 IN THE POPULATION OF 472 SPORADIC BREAST CANCER PATIENTS IN THE CZECH REPUBLIC.

MELTER J.¹, PAZDROVÁ G.², JANKŮ F.^{2,3}, KLEIBL Z.⁴, NOVOTNÝ J.², PETRUŽELKA L.²

¹ ŠROBÁROV INSTITUT PRO DĚTSKÉ OCHORENIA PLÚC, DOLNÝ SMOKOVEC, SR

² ONKOLOGICKÁ KLINIKA I.LF UK A VFN V PRAZE, ČR

³ BON SECOURS HOSPITAL CORK, IRSKÁ REPUBLIKA

⁴ ÚSTAV BIOCHEMIE A EXPERIMENTÁLNÍ ONKOLOGIE I.LF UK V PRAZE, ČR

Souhrn

Východiska: Nijmegen breakage syndrom (NBS) je způsoben mutací [657del(5)] v exonu 6 genu NBS-1. Jedná se o autosomálně recesivní onemocnění projevující se mikrocefalií, imunodeficitem, radiosensitivitou a predispozicí k malignitám lymfatických tkání. Nedávno byla v několika studiích potvrzena vysoká incidence mutací NBS-1 v různých slovanských populacích. Jelikož u heterozygotů pro NBS-1 nelze vyloučit vyšší incidenci nádorů, je také nutné objasnit úlohu mutace NBS-1 v karcinogenezi karcinomem prsu. **Metody:** Celkem bylo vyšetřeno na přítomnost mutace NBS-1 472 pacientek se sporadickým karcinomem prsu léčených na Onkologické klinice I.LF UK v Praze. DNA byla extrahována z monocytů v periferní krvi. Následně byly provedeny 2 PCR reakce pro každý vzorek. Vizualizace byla provedena pomocí elektroforézy na agarózovém gelu. Jako pozitivní byly hodnoceny vzorky s přítomností specifického bandu pro NBS-1 gen a přítomností bandu pro vnitřní kontrolu. Vzorky, kde byla pozitivní pouze vnitřní kontrola byly hodnoceny jako negativní. U vzorků, kde nebyl zastižen band ani ve vnitřní kontrole, byla reakce opakována. Vzorky DNA získané od dříve pozitivně testovaných jedinců bylo použito jako pozitivní kontrola. **Výsledky:** Ve studované populaci 472 pacientek se sporadickým karcinomem prsu nebyla nalezena žádná mutace [657del(5)] v exonu 6. **Závěr:** Na základě této analýzy nelze považovat mutaci [657del(5)] v exonu 6 za mutaci zvyšující riziko karcinomem prsu.

Klíčová slova: karcinom prsu, NBS-1, mutace, rizikový faktor

Summary

Background: Nijmegen breakage syndrome (NBS) caused by mutation [657del(5)] in exon 6 of NBS-1 is an autosomal recessive disorder with microcephaly, immunodeficiency, radiosensitivity, and predisposition to lymphoid malignancies. Recently, high frequency of this NBS-1 mutation was found in some Slavic populations. Because NBS-1 heterozygotes may have high incidence of neoplastic changes, there is an urgent need to clarify the role of NBS-1 mutation in breast cancer carcinogenesis. **Methods:** We analyzed the NBS-1 mutation [657del(5)] in exon 6 in 472 sporadic breast cancer patients treated in the Department of Oncology, Charles University Prague. DNA was extracted from peripheral blood monocytes. Subsequently two PCRs for each sample were carried out. Reaction was visualized using electrophoresis on agarose gel. Agarose gel wells with both the NBS-1 gene-specific band and internal control band were interpreted as positive. Wells with internal control only were interpreted as negative. PCR from samples giving neither an internal control band nor specific band were repeated. DNA samples obtained from a previously typed NBS family were used as a positive control. **Results:** Based on previously published data we expect to find at least 5 mutation carriers. Surprisingly, in our population of 472 subjects there was no mutation identified. **Conclusion:** Based on results of this study there is no relationship between NBS-1 mutation and breast cancer incidence.

Key words: Breast cancer, mutation, NBS-1, risk factor

ÚVOD

Nijmegen breakage syndrom (NBS) je vzácným dědičným autosomálně recesivním onemocněním, jehož podstatou je porucha opravných mechanismů DNA. Klinicky se projevuje mikrocefalií, růstovou retardací, imunodeficitem, hypersenzi-

tivitou k záření X a zvýšenou incidencí k lymfoidním malignitám (1). Mutace v genu NBS-1 vede k poruše syntézy proteinu zvaného fibrin, který je důležitý pro opravu dvojitých zlomů DNA (2, 3). Nedávno bylo publikováno několik původních článků, které zmiňují vyšší než očekávanou incidenci

[675del(5)] mutace genu NBS-1 u různých slovanských národů. Jednalo se o populaci žijící v České republice, Polsku a na Ukrajině (4, 5, 6). V souvislosti s mutací NBS-1 byla některými autory u heterozygotů popsána vyšší incidence nádorů (6). Vzhledem k pravděpodobně vyššímu výskytu heterozygotů pro mutaci NBS-1 je nutné plně objasnit dopad mutace na incidenci nádorových onemocnění. Náš výzkum se zabýval karcinomem prsu, který je nejčastějším nádorovým onemocněním dospělých žen (7).

METODY

Celkem bylo zařazeno 472 pacientek Onkologické kliniky 1.LF UK a VFN v Praze s histologicky potvrzenou diagnózou karcinomu prsu. Nábor probíhal v letech 2003 – 2005. Do populační studie byly zařazeny všechny ženy, které nesplňovaly kritéria pro mutační analýzu genů *BRCA1* a *BRCA2*, a to bez ohledu na věk v době diagnózy či stádium v době diagnózy či v době odběru. Pacientkám byla odebrána zkumavka nesrážlivé krve k následné izolaci DNA a mutační analýze.

DNA byla extrahována z mononukleárních buněk periferní krve s využitím kitů firmy Qiagen.

Amplifikace vysokomolekulární DNA proběhla s využitím GoTaq polymerázy (Promega), dNTP^s o koncentraci 0,2 mM každý (Promega) a primerů, jejichž design je uveden v **tabulce č. 1**. Podmínky PCR reakce jsou shrnuty v **tabulce č. 2**. Vizualizace a separace produktů amplifikační reakce byla prováděna v 2% agarózovém gelu obsahujícím ethidium bromid. Do každého běhu elektroforézy byla zařazena pozitivní kontrola specifická pro mutaci v NBS-1 genu (271 bp) a kontrola negativní.

Výzkum probíhal ve shodě s Helsinskou deklarací a byl schválen místní etickou komisí. Všechny pacientky podepsaly formulář informovaného souhlasu.

VÝSLEDKY

V našem souboru 472 pacientek se sporadickým karcinomem prsu jsme pomocí NBS-1 specifických primerů nezjistili ani jednu mutaci. Výsledek je v rozporu s očekáváním. Na základě literárních dat byl očekáván výskyt mutací alespoň u 5 pacientek. Jeden z výsledků po vizualizaci pomocí elektroforézy je na **obrázku č. 1**.

DISKUSE

V naší studii jsme použili metodiku PCR-SSP na detekci mutace nibrinu [657del(5)] dříve publikovanou Drábekem a spol. (5). Ve srovnání s dříve publikovanými pracemi se single-strand conformation polymorphism se u SSP dá očekávat vyšší senzitivita (8).

Tabulka č.1.: Sekvence jednotlivých primerů použitých při detekci NBS-1 [657del(5)].

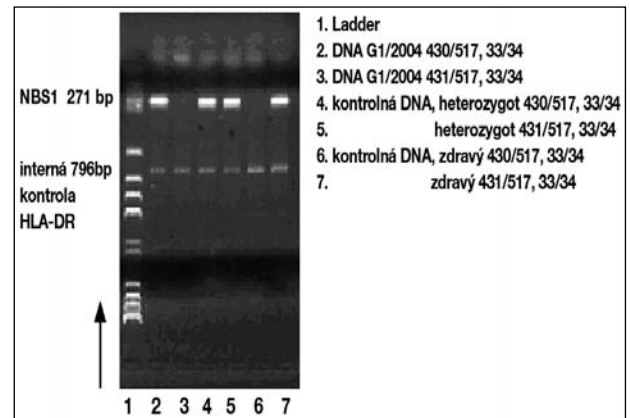
430NBS1ex6	5'-	ACGGCAGGAAAGAAATCTTC	– 3? (final conc. 0,6uM)
431NBS1ex6	5'-	CGGCAGGAAAGAAAACAAAT	– 3? (final conc. 0,6uM)
517NBS1ex6	5'-	ATGAATAGGCCAGTTATCACAG	– 3? (final conc. 0,6uM)
33DRBex3	5'-	TGCCAAGTGAGCACCCAA	– 3? (final conc. 0,6uM)
34DRBex4	5'-	GCATCTTGCTCTGTGCAGAT	– 3? (final conc. 0,6uM)

Tabulka č. 2.: Schéma amplifikační reakce.

Úvodní denaturace:		96°C/1 min.
A:	5x	(denaturace 96°C/35 s., annealing 55°C/45 s., extenze 72°C/35 s.)
B:	21x	(denaturace 96°C/25 s., annealing 55°C/50 s., extenze 72°C/40 s.)
C:	6x	(denaturace 96°C/35 s., annealing 55°C/60 s., extenze 72°C/90 s.)
Závěrečná extenze:		72°C/5 min.

U heterozygotních nosičů mutace NBS-1 [657del(5)] se předpokládá vyšší riziko vzniku nádorového bujení vzhledem k poruše opravných mechanismů. Očekává se i vyšší citlivost k radioterapii (9). Doposud několik skupin nezávisle na sobě publikovalo vyšší četnost mutace NBS-1 [657del(5)] v zemích střední a východní Evropy. Varon a spol. (4) udává četnost mutace v české populaci 1:154 a 1:190 v polské populaci, Drábek a spol. (5) dokonce 1:95 v populaci 383 zdravých jedinců. Steffen a spol. (6) vyšetřil na přítomnost mutace 1683 pacientů s různými typy nádorů. Mezi největší skupiny patřilo 105 pacientů s maligním melaninem, 234 pacientů s koloektální karcinomem a 224 pacientek s karcinomem prsu. Četnost mutace činila u maligního melanomu 1:26 (šestinásobek očekávané hodnoty), u kolorektálního karcinomu 1:78 (dvojnásobek očekávané hodnoty) a u karcinomu prsu 1:56 (trojnásobek očekávané hodnoty). Celkem byla četnost výskytu mutace 1:105. Cílem naší studie bylo potvrdit vysokou četnost mutace u sporadického karcinomu prsu, a tak nepřímou potvrdit její možný podíl na karcinogenezi tohoto nádoru. Překvapivě jsme v našem souboru 472 pacientek, který je svou velikostí víc jak dvojnásobný než podskupina ve studii Steffena (6), nezjistily ani jednu mutaci. Četnost je tedy nižší než 1:472, což je výrazně méně i ve srovnání se zdravou populací zemí střední a východní Evropy.

Vzhledem k tomu, že velikost našeho souboru je dostatečná, lze s poměrně značnou mírou jistoty zpochybnit význam mutace NBS-1 [657del(5)] pro karcinogenezi sporadického karcinomu prsu.



Obrázek č. 1: Elektroforéza produktů PCR reakce demonstruje oba nálezy: fyziologickou alelu i alelu mutovanou - podrobnější vysvětlení viz. obrázek.

PODĚKOVÁNÍ

Výzkum byl podpořen grantem RASO ČOS ČLS JEP a výzkumným záměry MSM0021620808.

LITERATURA

1. The International Nijmegen Breakage Syndrome Study Group. Arch Dis Child 2000; 82: 400-406
2. Matsuura S, Tauchi H, Nakamura A, et al. Positional cloning of the gene for Nijmegen breakage syndrome. Nat Genet. 1998; 19: 179-181
3. Carney JP, Maser RS, Olivares H, et al. The hMre11/hRad50 protein complex and Nijmegen breakage syndrome: linkage of double-strand break repair to the cellular DNA damage response. Cell. 1998; 93: 477-486
4. Varon R, Seemanova E, Chrzanowska K, et al. Clinical ascertainment of Nijmegen breakage syndrome (NBS) and prevalence of the major mutation, 657del5, in three Slav populations. Eur J Hum Genet 2000; 8: 900-902
5. Drabek J, Hajduch M, Gojova L, et al. Frequency of 657del(5) mutation of the NBS1 gene in the Czech population by polymerase chain reaction with sequence specific primers. Cancer Genet Cytogenet. 2002; 138: 157-159
6. Steffen J, Varon R, Mosor M, et al. Increased cancer risk of heterozygotes with NBS1 germline mutations in Poland. Int J Cancer 2004; 111: 67-71
7. Anonymus. Novotvary 2001 ČR. Praha, UZIS CR, NOR CR: 2004, 57-65
8. Nataraj AJ, Olivos-Glander I, Kusukawa N, et al. Single-strand conformation polymorphism and heteroduplex analysis for gel-based mutation detection. Electrophoresis. 1999; 20: 1177-1185
9. Seemanova E. An increased risk for malignant neoplasms in heterozygotes for a syndrome of microcephaly, normal intelligence, growth retardation, remarkable facies, immunodeficiency and chromosomal instability. Mutat Res. 1990; 238: 321-324

Došlo: 27. 3. 2006
Přijato: 26. 4. 2006

Nemáme vzdělání, ale nekouříme!

síla přirozené inteligence

PSI ČESKÝCH ONKOLOGŮ VARUJÍ: KOUŘENÍ ZPŮSOBUJE RAKOVINU

LIEČBA HORMONÁLNE NEZÁVISLÉHO KARCINÓMU PROSTATY TREATMENT OF HORMONE INDEPENDENT PROSTATE CARCINOMA

JURGA L.¹, MALÝ M.²

¹ONKOLOGICKÁ KLINIKA FN A TRNAVSKEJ UNIVERZITY V TRNAVE

²SLOVENSKÁ ZDRAVOTNÍCKA UNIVERZITA V BRATISLAVE

Súhrn

Molekulárna biológia karcinómu prostaty

Chemoterapia hormonálne nezávislého karcinómu prostaty

Miesto molekulárne targetovanej liečby v liečbe karcinómu prostaty

Záver

Úvod

Pokles incidencie karcinómu pľúc, žalúdka, čapíka maternice vo vyspelých krajinách spôsobený poklesom prevalencie fajčiarov v populácii bude provázaný vzostupom výskytu karcinómu prsníka, obličiek, **prostaty** a ne Hodgkinských lymfómov. Metastatická choroba dobre odpovedá na depriváciu androgénov ústupom kostnej bolesti, regresiou „mäkkých“ metastáz, a poklesom hladiny PSA. Žiaľ, v priebehu 18 až 24 mesiacov androgénna blokáda zlyháva a ochorenie progreduje (1,2,3).

Chemoterapia hormonálne nezávislého karcinómu prostaty

Súčasná hormonálna liečba interferujúca s **androgén receptorovou osou** je liečbou paliatívnou, pretože je len otázkou času, kedy ochorenie prestane na endokrinnú manipuláciu odpovedať (4, 5). Kľúčovú úlohu vo vývoji hormonálne/androgén nezávislého karcinómu prostaty (AIPC) majú androgénové receptory. Ich funkcia môže byť ovplyvnená amplifikáciou/mutáciou, dereguláciou rastových faktorov/cytokínov (insuline-like growth factor IGF-I, IL-6) a zmenami koaktivátorov; obidve bývajú pri AIPC overexprimované. Inú cestu vývoja **hormónorezistencie** je obchádzka receptorov.

Má vzťah k **neuroendokrinnnej diferenciacii** buniek karcinómu prostaty. Neuroendokrinné bunky prítomné u 40-100% chorých s AIPC pomaly proliferujú, čo im umožňuje prežívanie napriek liečbe. Secernujú neuropeptidy (serotonín, bombesin) urýchľujúce proliferáciu okolitých nádorových buniek a progresiu nádoru (6, 7).

Ukazuje sa, že celkové zníženie hladiny testosteronu nie je schopné plne blokovat androgén-receptorovú os. Funguje tu však obdoba SERMs, teda **SARMs (specific androgen receptor modulators) interferujúcich na androgén-receptorovej osi na rôznych úrovniach**.

Kritickou cestou obchádzania androgénových receptorov je **deregulácia apoptotických génov; ide o tumor supresorový PTEN gén a antiapoptotický gén Bcl-2**.

Práve **docetaxel** indukuje apoptózu inhibíciou Bcl-2. Dondávna bola zlatým štandardom chemoterapie AIPC kombinácia mitoxantronu nízkych p.o. dávok prednizonu; táto kombinácia napriek ústupu kostných bolestí nikdy nevedla k signifikantnému predĺženiu prežívania (8, 9, 10, 11).

Výsledky dvoch nezávislých výskumných tímov ukázalo, že na taxáne-založená chemoterapia vedie k predĺženiu prežívania

chorých s AIPC. Išlo o štúdiu TAX 327, v ktorej bolo 1006 chorých náhodne zaradených do ramena docetaxel 75 mg/m² a 3 týždne/docetaxel 30 mg/m² 1-krát týždenne počas 5-ich týždňov, resp mitoxantron 12 mg/m² a 3 týždne. Všetci chorí dostávali 2-krát denne 5 mg prednizonu. Liečba trvala 30 týždňov. Docetaxel a 3 týždne predĺžil prežívanie pacientov o 24% v porovnaní s mitoxantronovým ramenom. Medián prežívania v ramene docetaxel a 3 týždne bol 18,9 mesiacov, v ramene a 1 týždeň 17,4 mesiacov a v mitoxantronovom ramene 16,5 mesiacov. Ústup bolesti bol najvýraznejší v ramene docetaxel a 3 týždne (35%), potom v ramene docetaxel a 1 týždeň (31%) a napokon v mitoxantronovom ramene bolo 22%. (7).

Ďalší triál, SWOG 9916 porovnával docetaxel a estramustín s mitoxantronom a prednizonom u 674 chorých. V ramene docetaxel a a estramustín bolo 338 pacientov (docetaxel 60 mg/m² + estramustín 280 mg 3-krát denne počas 5-ich dní. Ostávajúcich 336 chorých dostávalo mitoxantron v dávke 12 mg/m² a 3 týždne + prednizon, opäť dlhšie prežívanie sa zaznamenalo v skupine dostávajúcej docetaxel a estramustín (17,5 mesiacov vs 15,6 mesiacov). Medián času k progresii bol 6,3 mesiacov vs 3,2 mesiacov. Pokles PSA o viac než 50 % sa zaznamenal u 4 chorých v skupine s taxánom a u 1 pacientov s mitoxantronom. Neutropénia, horúčka, nevoľnosť a zvracanie G3, G4 boli však častejšie v skupine s docetaxelom. V taxánovom ramene bola lepšia i kvalita života pacientov (8).

Z novších chemoterapeutických agens vykazujú významnú protinádorovú účinnosť u docetaxel necitlivých nádorov in vitro aj in vivo **epothilóny** pripravené semisynteticky z bakteriálnych kultúr Myxobacterium spp.; účinkujú na mikrotubuly - podporujú polymerizáciu tubulínu a bránia jeho depolymerizácii. Problémom je ich neurotoxicita a neutropénia. Neuropatie si však nevyžadujú premedikáciu glukokortikoidami. SWOG štúdia hodnotila analóg **Epothilone B (Ixabepilone)**, pričom zaznamenala PSA odpoveď u 34 % chorých. Ďalšie štúdie s/bez estramustínu tiež dokumentovali významnú efektívnosť u AIPC. Študuje sa jeho ev. úloha ako liečba voľby v II. línii. Výhodou je p.o. aplikácia. (9).

Ďalším novým, opäť perorálnym cytostatikom, je **satraplatin** účinkujúci aj v cisplatina-rezistentných líniiach ľudských nádorov. EORTC Genitourinary Tract Group Trial ukázal viac než 50% pokles hladiny PSA u 8,7% chorých liečených prednizonom, kým na Satraplatin odpovedalo 33% chorých; dlhší bol i progression-free survival (10).

Perpektívnu sa ukazuje kombinácia docetaxelu s novšími molekulárne-targetovanými agens. Predliečenie AIPC antisense oligonukleotidmi zvyšuje mieru odpovede na docetaxel. (11, 12).

Potentným inhibítorom Bcl-2 expresie je Oblimersen, ktorý v predklinických štúdiách potencoval účinnosť chemoterapie, hormónoterapie i rádioterapie. Štúdia fázy II (EORTC Genitourinary Tract Group) porovnáva docetaxel a docetaxel + Oblimersen (13).

Užitočná môže byť kombinácia docetaxel + thalidomid, disponujúci antiangiogénnymi, antiproliferatívnymi a proapoptotickými vlastnosťami. Štúdia fázy II porovnávajúca docetaxel a docetaxel + thalidomid ukázala veľmi priaznivú PSA odpoveď. V skupine docetaxel + thalidomid po 18-ich mesiacoch bolo celkové prežívanie 68,2%, kým v skupine sólo docetaxel len 42,9% (14,15).

AIPC je často spojený s **bolestivými osteoplastickými kostnými metastázami.** V ich liečbe sa popri rádioterapii uplatňujú novšie generácie bisfosfonátov, osobitne kyselina zoledronová; ich podávanie vedie k úľave bolesti, zabraňujú strate minerálnej denzity, spomaľujú rast kostných metastáz a redukujú výskyt kostných príhod - patologické fraktúry (16).

Progresiu kostných metastáz podporuje endotelín fungujúci prostredníctvom endotelín-A receptoru. Selektívnym endotelín-A receptor antagonistom (SERATM) je **Atrasentan.** Prebehli dva rozsiahle randomizované placebo -kontrolované triály u pacientov s metastatickým AIPC; primárnym

end- pointom bol čas do progresie (TTP). Ich metanalýza ukázala, že 10 mg Atrasentanu znižuje riziko progresie ochorenia a zlepšuje kvalitu života (11).

Využíva sa tiež **antiangiogénny účinok bevacizumabu.**

Karcinóm prostaty exprimuje viaceré diferenciacné asociované antigény, čo dáva predpoklad vývoja orgán špecifických targetovaných vakcín. Jednou z nich je APC8105 (Provenge); využíva prostatickú kyslú fosfatázu (PAP), ktorá je silne (v 90%) exprimovaná v tkanive karcinómov prostaty. APC8105 je imunoterapeutický bunkový produkt pozostávajúci z autológnych mononukleárov obohatených frakciou dendritických buniek pulsed s PAP-GM-CSF construct.

Bolo randomizovaných 127 chorých s asymptomatickým metastatickým PAP pozitívnym karcinómom prostaty (APC8015 = 82 chorých, placebo kontrola = 45 pacientov - každé 2 týždne, celkovo 3-krát). Primárnym end-pointom bol TTP, sekundárnym end-pointom bolo celkové prežívanie (OS). Po 3 rokoch žilo v Provenge skupine 34% chorých, kým v placebo skupine len 11%. Výsledky sa musia overiť v štúdií fázy III (17).

Záver

Poznanie molekulárnych mechanizmov progresie karcinómu prostaty dovolilo identifikovať viaceré potenciálne terapeuticky účinné molekulárne targetované látky.

Vytvoril sa základ pre ich zaradenie do novších liečebných kombinácií. Viaceré z nich zvyšujú liečebnú účinnosť dnes už overeného docetaxelu.

Literatúra

1. Nelson GW, DeMarzo AM, Isaacs WB Mechanisms of disease: Prostate cancer. *N Engl J Med* 2004; 349(4) 366-381
2. Chen C, Welsbie D, Tran C et al Molecular determinants of resistance antiandrogen therapy. *Nat. Med* 2004; 10(1), 33-39
3. Debes JD, Tindall DJ Mechanisms of androgen-refractory prostate cancer. *N Engl J Med* 2004; 351(15), 34-45
4. Brown TR Nonsteroidal selective androgen receptors modulators (SARMS): designer androgens with flexible structures provide clinical promise. *Endocrinology* 2004; 145(12), 5417-5419
5. Gleave ME, Zellweger T, Chi K et al Targeting anti-apoptotic genes upregulated by androgen by androgen withdrawal using antisense oligonucleotides to enhance androgen- and chemo-sensitivity in prostate cancer. *Invest New Drugs Therapy* 2002, 20(2), 145-158
6. Tannock IF, Osoba D, Stochler MR et al. Chemotherapy with mitoxantrone plus prednisone or prednisone alone for symptomatic hormone resistant prostate cancer: A Canadian randomised trial with palliative endpoints. *J Clin Oncol* 1996; 14(6) 1756-1764
7. Tannock IF, De Wit R, Berry WR, et al Docetaxel plus prednisone or mitoxantrone plus prednisone for advanced prostate cancer. *N Engl J Med* 2004; 351(15), 1502-1512
8. Petrylak DP, Tangen CM, Hussain MH, et al Docetaxel and estramustine compared with mitoxantrone and prednisone for advanced refractory prostate cancer. *N Engl J Med* 2004; 351(15) 1513-1520
9. de Wit R Shifting paradigms in prostate cancer: docetaxel plus low-dose prednisone - finally an effective chemotherapy. *Europ. J. Cancer* 2005; 41; 502-507
10. Kelly WK, Galsky MD, Small EJ, et al. Multinstitutional trial of the Epotilone B analogue BMS-247550 (Ixabepilone) with or without estramustine phosphate in patients with progressive castrate-metastatic prostate cancer: Updated results. *Proc Annual Meet Am Soc Clin Oncol* 2004; 23, 383, Abstract
11. Sternberg CN, Whelan P, Hetherington J et al. Phase III trial of satraplatin, an oral platinum plus prednisone vs prednisone alone alone in patients with hormone refractory prostate cancer. *Oncology* 2005, 68, 2-9
12. Katolícká J, Rovný A, Filipenský P. Docetaxel - nová možnosť terapie hormonálne rezistentného karcinómu prostaty. *Klin. Onkol.* 2005; 18(3) 89-91
13. Dahut WL, Gulley JL, Arlen PM, et al. Randomised phase II trial of docetaxel plus thalidomide in androgen-independent prostate cancer. *J Clin Oncol* 2004; 22(13), 2532 - 2539
14. Saad F, Gleason DM, Murray R, et al. Long-term efficacy of zoledronic acid for the prevention of skeletal complications in patients with metastatic hormone-refractory prostate cancer. *J Natl Cancer Inst* 2004, 96(11), 879-882
15. Meta-analysis of clinical trials of atrasentan 10 mg in metastatic hormone-refractory prostate cancer. Presented at ASCO Prostate Cancer Symposium, Orlando, Florida, February 17-19 2005
16. Jurga, L. a kol.: *Klinická onkológia a rádioterapia.* Slovak Academic Press, Bratislava, 2000, 1030 s.
17. Immunotherapy (APC8015) for androgen independent prostate cancer (AIPC): Final survival data from a phase 3 randomised placebo-controlled trial. Presented at: ASCO Prostate Cancer Symposium, Orlando, Florida, February 17-19, 2005

Došlo: září 2006

Prijato: září 2006

POHYB V ONKOLOGICKÉ PNEUMOCHIRURGII: LYMFADENEKTOMIE & ADJUVANCE.

MOTION IN ONCOLOGICAL LUNG SURGERY: LYMPHADENECTOMY AND ADJUVANT TREATMENT

HORVÁTH T.

MASARYKOVA UNIVERZITA BRNO
CHIRURGICKÁ KLINIKA FAKULTNÍ NEMOCNICE
BOHUNICE,
MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV BRNO

Souhrn

Chirurgické řešení plicní rakoviny pod zorným úhlem současných dat klinické onkologie a torakochirurgie. Pohled 2006.

Abstract

Surgical management of lung cancer *sub specie* of current clinical oncology and thoracic surgery data. View 2006.

ÚVOD

Zdařilý vyhlídkový let nad torakochirurgickými provinciemi v rámci 13. kongresu České a Slovenské pneumologické a ftizeologické společnosti (ČaSPFS) v lénním městě českých královen, Hradci Králové, pilotovali Jindřich Vomela a Julián Hamžík. V cockpitu zasedli dále Pavel Pafko, Miloš Pešek, Pavel Fiala a Teodor Horváth. Půlstovice erudovaných pneumologů First Class nechyběly ani zralost nejrůznějších typů, Jana Skříčková, Jan Fanta, Vítězslav Kolek, Ivan Majer, Miloslav Marel, ani koncizní a ctižádostivé mládí.

Strmý start,

MEDIASTINÁLNÍ LYMFADENEKTOMIE

Zatímco (mystický?) Východ má zásluhou celoživotního díla T. Narukeho, učedníka jedné z legend japonské hrudní chirurgie Shichiro Ishikawy k disekci mediastinálních lymfatických kladný postoj, v euroatlantickém prostoru je procedúra nadále předmětem debaty. Aktuální postoj (racionálního?) Západu zmapoval a zvěřejnil (vyzradil?) A. Little: 66 % pacientů z jedenácti tisíc resekovaných pro nádor plic nemělo vůbec žádnou exstirpaci mizních uzlin! Citelná rána suverenity výborů AJCC a UICC zasedajících 13. ledna 1996 v arizonském Scottsdale a 30. dubna 1997 v Ženevě - revidující východní koncepci jako nedokonalou.

Těchto šestašedesát procent je nepochybně výzvou ke změně, píše Mark Allen (2) a pokračuje: Dříve než se rozhodneme přijmout a doporučit radikální lymfadenektomii anebo zůstat u samplingu tří lymfatických (hilové, horní etáž a dolní etáž mezihrudí) sekci stimulujeme každého chirurga k tomu, aby byly alespoň některé mizní uzliny z každé sekce vyšetřeny. Mimo jiné je zřejmé, že v zápalu technického boje o vydobytí nádoru z těla by chirurg neměl zapomenout na Chamberlainovo upozornění o výrazném zvýšení lymfatického průtoku po ligaci plicních žil s hrozící peroperační lymfatickou diseminací procesu, které se zájmem a pokorou akceptoval William Cahan, když před půlstoletím zhmotňoval v Thoracic Surgery Service Memorial Hospital Allisonovy úvahy o účinné chirurgii nádorů plic. „Detaily“ tohoto typu by mohly být jednou z chirurgických příčin rozpačitých výsledků velkých plicních projektů z poloviny sedmdesátých let minulého století:

Československého, John Hopkins, Mayo a Memorial Sloan-Kettering.

Současná terminologie lymfadenektomie rozlišuje několik kategorií, které někdy splývají, jindy jsou zaměňovány. Obecně jsou pocítovány dvě potřeby: unifikace a simplifikace. The International Association for the Study of Lung Cancer podněcuje k této záležitosti v letošním roce diskusi. Zúčastněme se:

1. Namátkový průzkum (Sampling) tj. odstranění zřetelně vizuálně anebo palpačně abnormálních mizních uzlin
2. Systematický namátkový průzkum (Systematic sampling) znamená rutinní odstranění uzlin v dané situaci z úrovní specifikovaných podle autora.
3. Systematická laloku specifická disekce mizních uzlin (Systematic lobe-specific nodal dissection) jest odstraněním spádové mizní tkáně náležící danému plicnímu laloku.
4. Kompletní mediastinální lymfadenektomie (Complete mediastinal lymph node dissection) představuje odstranění veškeré ipsilaterální lymfatické tkáně v určité úrovni podle autora.
5. Radikální mediastinální disekce reprezentuje odstranění veškeré lymfatické tkáně ipsilaterální i kontralaterální (včetně supraklavikulární) v určité úrovni.
6. Rozšířená disekce mizních uzlin (Extended lymph node dissection) označuje oboustranné totální odstranění lymfatických mezihrudí včetně supraklavikulárních

Mimo veškerou pochybnost je fakt, že postižení mediastinálních uzlin zhoršuje prognózu quod ad vitam. Tsugue Naruke navrhl schema mapování lymfatických uzlin koncem sedmdesátých let. Schema bylo přijato American Joint Committee for Cancer Staging (AJCC) i Union Internationale Contre le Cancer (UICC) stalo se základem TNM systému klasifikace plicního karcinomu. O dvacet let později revidoval systém Clifton Mountain se spolupracovníky.

O co jde?

Mountain definoval hilové N1 uzliny jako ty, které jsou lokalizovány distálněji od mediastinální pleurální reflexe tj. všechny ležící uvnitř poplicnice zatímco v Narukeho klasifikaci figurují jako hilové N1 všechny uzliny ležící distálně od peribronchiálních uzlin levého a pravého hlavního bronchu - nová Mountainova definice tedy včleňuje proximální část Narukeho hilových uzlin do kategorie N2. Koncem minulého století se o této věci dost mluvilo (viz výše). Nicméně American Thoracic Society (ATS) i Committee on Lung Cancer uznávají těžkosti v rozhodování o přesném zařazení mizních uzlin z hraničních regií do příslušné kategorie N1 anebo N2 ad hoc a dokonce doporučují, aby definitivní kategorizace byla provedena až na základě analýzy přežívání pacientů podstupivších resekci plic s disekcí lymfatických uzlin. Guláš, řekl by Jiří Král, ale než by to dořekl, byly by inkriminované uzliny venku. Teoreticky je to jednoduché: N1 kategorii představují Narukeho stanice číslo 11-13 zatímco N2 kategorii stanice číslo 1-10. Prakticky je to u operace na každém z nás, říkal Harubumi Kato, když mi v r. v 99 daroval přehledné desky s japonskou mapou plicních mizních uzlin v obou polohrudnicích a mezihrudí a pokračoval, Západ anebo Východ, to je nám může být lhostejné. Jde o pacienta. Jde o profesní dokonalost. Stav lymfatických uzlin a postoj k jejich disekci hrají významnou roli rovněž v klasifikaci International Association for Study of Lung Cancer pro plicní resekce:

1. Kompletní (Complete) s mikroskopickým průkazem resekční linie ve zdravém systematickou disekcí mizních uzlin anebo regionální laloku příslušnou disekcí mizních uzlin žád-

né extrakapsulární přesahování nádorové infiltrace v mízních uzlinách nejvyšší mediastinální mízní uzlina musí být negativní

2. Inkompletní (Incomplete) průkaz postižení resekčních okrajů tumorem
extrakapsulární šíření infiltrace mízních uzlin
neodstraněné pozitivní mízní uzliny
pozitivní pleurální anebo perikardiální výpotek
3. Nejistá (Uncertain)
resekční linie je vedena ve zdravé tkáni a není žádná reziduální nemoc
carcinoma in situ v resekovaném bronchu
pozitivní cytologie pleurální laváže

Přehled problematiky a návrh ke koncentrování vlastního CZ&SK destilátu nezaměnitelného buketu nastínil *T. Horváth*. Společná multicentrická randomizovaná studie českých a slovenských pracovišť by mohla dát nezávislou odpověď na otázku sampling - limitovaná disekce - radikální disekce ?? Mysleme na to. Máme novou šanci promluvit stylem CS Lung Project. Sepišme protokol a začněme co nejdříve (2007). Ať dnešní žáci, již sami zralí, mohou zítra přinášet ovoce nynějšího rozhodnutí na globální trh pozitivního činu, který přestává rozlišovat Východ a Západ, Sever a Jih - o to lépe rozlišující, řekněme, dokonalejší od nedokonalého.

Nabrali jsme výšku, ADJUVANCE & NEOADJUVANCE

Rozhodování o neoadjuvanci (indukční léčbě) u pacientů s nemalobuněčným karcinomem plic (NSCLC) stadia IIIA není jednoduché, ač tento postup je dnes vnímán jako standard uvedl *M. Pešek* svůj koncizní příspěvek a připomenul, že tento postoj vznikl v době, kdy výsledek adjuvantní léčby neprokazovaly benefit, který je dnes čerstvě prokázán. Rozsáhlé chirurgické zkušenosti společně s hluboce lidskými úvahami *P. Pafka* potvrzovaly potřebu individuálního přístupu ke každému jednotlivému pacientovi navzdory komisionálním rozhodnutím, nevyhnutelné multidisciplinární spolupráci a mnohdy navzdory názorovým rozdílům uvnitř jednotlivých odborných seskupení. V současnosti se na tuto záležitost pohlíží tak, že u stadia IIIA by se spíše měla dát přednost primární operaci, samozřejmě, je-li se nález operabilní. Z diskuse vyplynulo, že *P. Pafko* se nořil hluboko do literárních pramenů a zjistil, že i sám *R. Ginsberg* udává až trojnásobně vyšší výskyt závažných komplikací u skupiny pacientů s hraničními nálezy předlécenými neoadjuvancí. Všeobecně se ví, že operace po neoadjuvantní léčbě jsou technicky náročné a chirurg je nucen přistoupit k pneumonektomii nebo rozšířené pneumonektomii.

Naštěstí *panta rei*. Až donedávna přetrvávaly otázky o přínosu adjuvantní chemoterapie v léčbě NSCLC, než výsledky velkých randomizovaných studií prokázaly signifikantní prodloužení přežívání po podávání chemoterapie u pacientů operovaných pro časně stadium onemocnění. Badatelé a klinici společně s National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group a U.S. National Cancer Institute Intergroup Trial shledali, že přežívání pacientů s časným stadiem NSCLC, kteří byli po resekcí plic léčeni léčením vinorelbinem a cisplatinou bylo 94 měsíců v porovnání se 73 měsíčním přežíváním pacientů, kteří adjuvantní chemoterapii (CHT) nedostávali. Pětileté přežití bylo tedy statisticky významně vyšší ve skupině s chemoterapií (69% proti 54%) a riziko recidivy bylo o 40% nižší ve skupině s CHT. Tato zjištění společně s nejnovějšími výsledky Adjuvant Navelbine International Trialist Association (ANITA) a Cancer and Leukemia Group (CALGB) potvrzují, že CHT hraje významnou roli v léčbě pacientů s operabilním NSCLC a kteří jsou jinak v celkovém dobrém zdravotním stavu.

Další novinkou je výsledek výzkumu několika center pro léčbu nádorů ve Spojených státech: prodloužení přežívání pacientů s pokročilou formou onemocnění účinkem podávání inhi-

bitoru angiogenezy bevacizumabu (Avastin; Genentech Inc.). Je to vůbec poprvé, co se tak stalo přidáním cíleného agens k standardní CHT (paclitaxel a karboplatina).

Pro volbu jak indukční tak adjuvantní terapie je důležitý přesný předoperační respektive chirurgický staging onemocnění, pokračoval *M. Pešek* zaníceně a zdůraznil význam pečlivé mediastinální lymfadenektomie. Rozdělení resekcí na kompletní, nekompletní a nejisté umožní v budoucnu lepší porozumění významu adjuvantní CHT v různých kategoriích operačních nemocných. Tato slova přivítal *J. Vomela* a na *Pafkův* podnět znovu potvrdil prosazování technicky náročné kontralaterální mediastinální lymfadenektomie.

Mezi všemi nádory plic představuje bronchogenní karcinom zhruba 75%. Jediná metoda, která může vést k uzdravení je radikální resekce plic, poznamenala *J. Skříčková* a předložila monitoring vývoje chirurgické léčby NSCLC na své klinice od začátku tisíciletí. Upozornila na postupně se snižující procento výskytu nemocných se spinocelulárním karcinomem a přibývající počet adenokarcinomů. Křivka celkového přežití byla zpracována analýzou dle Kaplan-Meierové, přežití bylo měřeno od data diagnózy do data úmrtí nebo poslední informace o stavu pacienta. Ve skupině pacientů, kteří byli operováni po neoadjuvantní léčbě byl medián přežití 23,1 měsíce, ve skupině nemocných operovaných po stanovení diagnózy, nebylo mediánu dosaženo, ale hodnocení rozdílů mezi přežitím těchto dvou skupin hodnocený long rank testem byl statisticky významný ve prospěch nemocných operovaných po stanovení diagnózy, což koresponduje s poznáním, že délka přežívání je závislá na klinickém stadiu onemocnění.

Připomeňme si v této souvislosti význam několik zdánlivě okrajových skutečností ze zprávy Clinical Cancer Advances 2005, uvedené dopisem prezidentky ASCO Sandry Hornig, se kterými se i v našich podmínkách začínáme potýkat: Chybění zdravotního pojištění: sociálním skupinám s malými příjmy, příslušníkům národnostních menšin a imigrantům někdy chybí podmínky, jindy prostředky na zdravotní pojištění. Proto přicházejí častěji s pokročilým onemocněním. Zeměpisné překážky: osoby žijící v zemědělských oblastech vzdálených akademickým centřům přicházejí s pokročilým onemocněním a chybění regulérní dopravy jim způsobuje těžkosti v dodržování léčebných režimů. Podobně působí kulturní a jazyková bariéra. A jednu zprávu optimistickou až revolučně: Statiny, medikamenty široce užívané ke snižování hladiny cholesterolu, které působí inhibicí enzymu HMG-CoA reduktázy se ukazují velmi slibnými prostředky ve snížení rizika vzniku karcinomu plic. NSCLC však zatím u většiny nemocných bývá odhalen v pozdním stadiu. V hrudní chirurgii netradiční přístup k pokročilému onemocnění představil *J. Fanta*: Resekce s permanentní adjuvancí brachyterapií ¹²⁵I. Častokrát nejde kurativní předpoklad operace z nejrůznějších důvodů dodržet. Zde může přijít ke slovu Fantova metoda: resekce plic v maximálně možném rozsahu následována lymfadenektomií spádových lymfatických uzlin. Následuje implantace prolenové sítky s radioaktivními zrny ¹²⁵I, emitujícími gama záření. Zrna jsou od sebe vzdálena 1 cm, aktivita jednoho zrna je nabízena v rozmezí 7,8 - 29,2 MBq. Celková podaná dávka 100 Gy je rozložena do hloubky 0,5 cm v okolní tkáni exponenciálně do 2-3 měsíců. Permanentní brachyterapie ¹²⁵I se jeví jako způsob, kterým je možné bránit lokální recidivě nádoru, anebo ji alespoň oddálit.

Pak jsou zde úskalí perioperační chirurgické péče, které podrobně rozebírá krok za krokem, pojem za pojmem *J. Hytych*. Alternou nepřítomnou A. Vernerovou. Zároveň upozorňuje na časový faktor pečlivé mediastinální lymfadenektomie deklarující svým projevem, že je zvyklý na prostor s dostatkem času. Z podvědomí se mimoděk vynořuje Andrej Kukura se svou okřídlenou větou: „Chirurg je internista, který aj operuje“. Pooperační dynamiku sérových nádorových znaků (TM) u NSCLC popisuje *J. Šafránek*.

Uvádí, že karcinoembryonální antigen (CEA) a cytokeratinový fragment 21.1 (CYFRA 21.1) jsou vhodnější pro diagnostiku. Mají v pooperační dispenzární péči méně významné postavení, než tymidinkináza (TK) a tkáňový polypeptidický antigen (TPA). Neuronspecifická enoláza (NSE) nemá pro sledování pacientů po operaci pro NSCLC téměř žádný význam. SCC a CA 72.4 nebyly v práci studovány.

To je elegance,

VIDEOASISTOVANÁ MEDIASTINOSKOPIE

konstatuje *J. Hamžík*, který má s mediastinoskopií (MSK) dostatek vlastních zkušeností, když moderuje diskusi k předoperační diagnostice a *M. Mareš*, podporovaný *P. Fialou*, uvádí přednosti endoskopické bronchiální ultrasonografie (EBUS). *P. Pařko* pak bezelstně přiznává její limitace. Škoda, že tu chybí *I. Čapov*, její vášnivý promotor a zastánce. Řízená diskuse by jistě přešla do spontánního jiskření.

Co teda máme dělat, když nemáme EBUS, CT prokázané zvětšení mízních uzlin není korelátém jejich metastatického postižení, MSK na všechny naše otázky neodpoví a pozitronová emisní tomografie (PET) je limitována citlivostí metody na podprahové postižení? zní otázka z pléna.

Ano: klinika, RTG plic, TM, MSK, CT, EBUS, PET, vše má svůj velký, ale nikdy ne absolutní význam. Zřetelné věci se poznávají lehko a nezřetelné těžko. Chirurgie to je jistá dávka erudice, empirie, intuice... ale není pouhým racionálním poznáním v kombinaci s vycvičenou rukou. Je to umění. Tu piloti jako jeden muž, byť různými slovy, směřují let citlivě, ale rozhodně do oblastí, kam v těchto zemích poprvé pohlédl Jan Jeseňius: Nemáš jistotu, neotevřeš-li...

Palubní senzory ještě zdaleka neobsáhly všechny úhly pohledu, když technici ALDIS upozorňují na hranici doletu. Přistání je hladké. Před námi leží vlahé moře jménem klasika.

Tentokrátě hudební. I koncert se vydařil.

LITERATURA

1. Abratt RP, Lee JS, Han JY, et al. Phase II Trial of Gemcitabine-Carboplatin-Paclitaxel as neoadjuvant Chemothe-

rapy for Operable Non-Small Cell Lung Cancer. *J Thorac Oncol* 2006; 1(2)135-140

2. Allen MS. Mediastinal lymph node dissection. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2005;130:241-242

3. Booth CM, Shepherd FA; Adjuvant chemotherapy for resected non-small cell lung cancer

4. *J. Thorac Oncol* 2006;1;180-187.

5. Cahan WG, Watson WL, Pool JL. Radical Pneumonectomy. *J Thorac Surg* 1951; 22:449-471

6. Ginsberg RJ Resection of non-small cell lung cancer: how much and by what route. *Chest* 1997;112(4Suppl) 203S-205S.

7. Herbst RS, Bajorin DF, Bleiberg H, Blum Diane, (Hornig SJ) et al. *J Clin Oncol* 2006; 24;1, 190-205.

8. Meacci E, Margaritora S, Cesario A, et al. Surgical treatment of non-small cell lung cancer: Mediastinal lymph node dissection. *RAYS* 2004; 29(4)423-429.

9. Mountain CF. Revisions in the International System for Staging Lung Cancer. *Chest* 1997;111;1710-1717.

10. Naruke T, Suemasu K, Ishikawa S. Lymph node mapping and curability at various levels of metastasis in resected lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1978; 76: 832-839.

11. Rami-Porta R, Wittekind C, Goldstraw P; International Association for Study of Lung Cancer (IASLC) Staging Committee. Complete resection in lung cancer surgery: proposed definition. *Lung Cancer.* 2006; 51(1)131-2.

12. Salajka F, Paráková Z, Prchalová E. Editoři. Novinky v Pneumologii 2006. Sborník prací 13. kongresu ČASPF, H. Králové.

13. Ueda K, Kaneda Y, Saeki K. et al. Hilar Lymph Nodes in N2 Disease: Survival Analysis of patients with Non-Small Cell Lung Cancers and Regional Lymph Node Metastasis. *Surg Today* 2002; 32:300-304.

14. Wu Y, Huang ZF, Wang SY, et al. A randomized trial of systematic nodal dissection in resectable non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2002; 36(1) 1-6.

VZPOMÍNKA NA PROFESORA JAROSLAVA ŠVEJDU

REMEMBERING PROFESSOR JAROSLAV ŠVEJDA

Při současném pracovním tempu a vyčízenosti nám mnohdy zůstává málo času na ohlédnutí se za minulostí. Měli bychom si však stále uvědomovat, že pro naše poučení je naší povinností také vzpomínat na svoje učitele a koncepční zakladatele pracovišť, která svou současnou prací rozvíjíme. Je dobré připomínat si směry jejich snažení i jejich, třeba za života nesplněné, vize. V tomto roce si takto musíme připomenout dvacáté výročí smrti jednoho z našich nejvýznamnějších patologů minulého století - prof. MUDr. Jaroslava Švejdy, DrSc. - dlouholetého přednosty I. patologicko-anatomického ústavu (I. PAŮ) Lékařské fakulty brněnské univerzity a současně i významného onkologa - prvního ředitele, dosud jediného komplexního onkologického pracoviště v České republice, Výzkumného ústavu kliniky a experimentální onkologie (VÚKEO), nyní Masarykova onkologického ústavu.

Úvodem považují za vhodné osvěžit základní životopisná data vzpomínaného. Profesor Švejda se narodil 31. 7. 1915 ve Valašských Kloboukách. Střední školu i lékařská studia, ukončená v roce 1945, absolvoval v Brně. Od roku 1939 byl pracovníkem I. PAŮ brněnské univerzity. Při studiích zde pracoval jako demonstrátor, v průběhu okupace jako pomocný asistent a krátce po absolutoriu na LF byl na tomto ústavu jmenován odborným asistentem. Habilitoval na brněnské lékařské fakultě v roce 1950 obhájením práce „Virusy a nádory“ a v roce 1957 byl jmenován profesorem pro patologickou anatomii a přednostou I. PAŮ. V r. 1963 obhájil disertaci pro vědecký titul DrSc. Jeho práce na mateřském ústavu byla z normalizačních politických důvodů, ukončena v roce 1975. Od počátku roku 1976 byl jmenován ředitelem VÚKEO, kde pracoval až do své smrti 26. 9. 1986.

V patologii byl profesor Švejda žákem zakladatele brněnské školy patologů - profesora Václava Neumanna, DrSc. Hlásil se také vždy ke škole prof. R.A. Willise z Department of Pathology of the Royal College of Surgeons v Londýně, u kterého absolvoval roční stipendijní pobyt a s nímž udržoval trvalý písemný styk. S těmito základy profesor Švejda věnoval při práci na ústavu patologie největší pozornost biologickému přístupu k dynamické funkční patologii i k onkologické problematice. Patologie v jeho pojetí začala i v našich zemích překonávat dřívější, převážně deskriptivní morfologické zaměření celého oboru a přiblížila se biologii, fyziologii a zejména klinice. Sám se jako jeden z prvních lékařů pracujících ve výzkumné oblasti v Československu zabýval problematikou transplantabilních zvířecích nádorů, použitých jako model pro studium lidských malignit. Následovalo období jeho výzkumného zaměření na experimentální chemicky indukované prekancerózy a karcinomy průdušek a žaludku. Největších úspěchů ve vědecké práci dosáhl v kvantitativních fyzikálně biologických technikách použitých pro hodnocení prekanceróz, zejména cestou cytofotometrie. Logickým pokračováním těchto prací byla pozdější orientace na ultrastrukturu chromozomů, zejména u lidského melanomu. Do myslí velké řady absolventů studijních ročníků brněnské lékařské fakulty šedesátých a sedmdesátých let se I. PAŮ, vedený profesorem Švejdou, zapsal zejména úvodem do onkologie, která až do devadesátých let nebyla na českých lékařských fakultách soustavně přednášena. Onkologické problematice bylo věnováno 25% přednášek z patologie. Onkologie byla prezentována v jednom semestru jako obecná, včetně moderních biologických aspektů a v dalším jako speciální

s výběrem epidemiologicky nejdůležitějších nádorových lokalizací a podílem klinických onkologů na jednotlivých přednáškách. Otázky vyplývající z těchto přednášek představovaly třetinu celé zkoušky z patologie.

Do brněnského onkologického ústavu profesor Švejda nastoupil jako externí pracovník brzy po válce v roce 1945 a na základě původní výzkumné histologické laboratoře zde v roce 1946 založil bioptickou stanici. Tato v diagnostice zahrnovala kromě vlastního ústavu a některých brněnských nemocnic i velmi široké venkovské teritorium obsahující nemocnice v Jihlavě, Třebíči, Vyškově, Znojmě, Valticích a řešila i problematické případy ze severní Moravy. Svědectvím o doslova nadčasové koncepci práce brněnských onkologů a Švejdy vlastní, je přístup k sekundární onkologické prevenci. Zaměstnanci ústavu již v letech 1951-1955 vyjížděli na moravský venkov a na západní Slovensko, kde jako komplexní skupina prováděli onkologickou depistáž v oblasti gynekologie a plicních nádorů. Účastníkem těchto akcí byl, v rámci činnosti bioptické stanice, pravidelně i profesor Švejda s rychlou cytodiagnostikou. Ten se však věnoval onkologické problematice i na teoretickém poli, v oblasti virologie experimentálních zvířecích nádorů ve spolupráci s dr. Zbyňkem Bradou, který vedl teoretickou část onkologického ústavu. Bylo zásluhou zejména těchto dvou zanicených experimentálních onkologů, že došlo k záchraně badatelského výzkumu v brněnském onkologickém ústavu proti vlně primitivního praktikismu u nás na začátku šedesátých let. Výzkum na ústavu byl tehdy zachován i za cenu, že teoretické laboratoře přešly v roce 1961 se všemi zaměstnanci i programem pod správu bratislavského Výzkumného onkologického ústavu Slovenské akademie věd, vedeného blízkým přítelem obou brněnských vědců, akademikem Viliamem Thursou. Toto krytí výzkumu brněnského onkologického ústavu přetrvávalo do roku 1969.

V léčebné strategii se od šedesátých let začíná v onkologickém ústavu využívat interdisciplinární přístup, který v brněnském podání předpokládá i angažovanost specializovaného diagnostikujícího patologa. Vznikly melanomová a mamární komise, vždy s účastí profesora Švejdy na každém zasedání. Stejně se později týmově přistupovalo i k léčbě lymfomů a testikulárních nádorů. Dosud avantgardní sklonu klinické a výzkumné části v jednom zařízení a tehdy nová komplexní koncepce onkologické služby, na které se jako člen vědecké rady ministerstva významně podílel profesor Švejda umožnily, že byl brněnský onkologický ústav k 1. 1. 1976 změněn na rezortní VÚKEO, jako součást výzkumné základny Ministerstva zdravotnictví České republiky. Ředitelem vzniklé instituce byl, zaslouženě, jmenován profesor Švejda, který provedl potřebnou reorganizaci klinického i badatelského provozu, při níž byla postupně založena oddělení imunologie a tkáňových kultur, oddělení patologie nádorů i oddělení epidemiologie a genetiky nádorů. Ústav pod jeho vedením navázal trvalou spolupráci nejen v rámci republiky, ale i s partnerskými pracovišti řady evropských zemí a stal se členem Organizace evropských onkologických ústavů (OECI). Od roku 1976 jsou také každoročně pořádány Brněnské onkologické dny, které jsou dnes největším odborným setkáním onkologů v naší republice.

Mimořádná odborná aktivita prof. Švejdy se projevila v jeho více než 130 původních vědeckých publikacích, převážně v zahraničním tisku a v 11 moderně pojatých učebních textech. Stejně je obdivuhodná i jeho přednášková aktivita, dokumentovaná řadou přednáškových turné v Egyptě, Japonsku, USA, Mexiku, skandinávských zemích a zejména opakovaně v obou částech, tehdy rozděleného, Německa. Jednotlivé zahraniční

i domácí přednášky a předsednictví sekcí na kongresech jsou u tohoto pilného vědeckého pracovníka nepočítatelné. Vysoký profesionální standard prof. Švejdy se projevil i v jeho aktivním členství v mnoha vědeckých společnostech a organizacích. Ze zahraničních společností nutno jmenovat Deutsche Akademie der Naturforscher „Leopoldina“, Gesellschaft für Pathologie der DDR, Deutsche Gesellschaft für Pathologie (BDR), Pathological Society of Great Britain and Ireland, European Society of Pathology, World Association of Pathological Societies, Internationale Gesellschaft für Chemo- und Immunotherapie. V tehdejší Československé republice byl členem Rady lékařských věd ČSAV, Vědecké rady Ministerstva zdravotnictví i Vědeckého výboru RVHP pro komplexní problémy maligních nádorů. Byl dále členem komise expertů pro studium kostních nádorů a melanoblastomů při WHO v Ženevě, předsedou České histochemické a cytochemické společnosti, členem výboru Onkologické společnosti a výboru Společnosti patologických anatomů. Dále předsedou Společnosti pro tkáňové kultury. Na Lékařské fakultě brněnské Masarykovy univerzity byl dlouholetým členem vědecké rady, po dvě čtyřletá období proděkanem a v roce 1968 byl zvolen děkanem fakulty.

Profesor Švejda, se svou vzdělaností, pracovitostí, svobodymilovností a nadhledem, žil svůj produktivní věk v té nejhroší době pro odpůrce jakékoliv autoritářské moci. Velmi těžce nesl německou okupaci a stejně potom i lživou podstatu a systematické násilí komunistického režimu, preferujícího pod-

průměr a průměr. Jako přesvědčený konzervativně liberální demokrat a nestraník měl každodenní problémy s prosazováním svých obecně organizačních i personálních představ. Pan profesor nám měl svou odbornou velikostí, koncepční vizí v patologii i onkologii a osobním příkladem co odkázat a jeho výročí stojí za hlubokou vzpomínku.

ALEŠ REJTHAR

Literatura:

1. Čejka, J.: Pohled do minulosti Masarykova onkologického ústavu v Brně. Vydal Masarykův onkologický ústav Brno 2004, Miroslav Kaňovský, Českolipská 1193, Mělník, s. 55. (ISBN 80-86793-03-6)
2. Rejthar, A.: The sixtieth birthday of professor MUDr. Jaroslav Švejda, DrSc. Scripta Medica, 49, 1976, 3, pp. 115-122.
3. Rejthar, A., Vorlíček, J., Linhart, K.: Počátky a vývoj moderní onkologie v brněnském regionu. Brněnská věda a umění meziválečného období (1918-1939) v evropském kontextu. Sborník příspěvků z konference Masarykovy univerzity. Masarykova univerzita v Brně, vydání 1., 1993, s. 246-247.
4. Rejthar, A.: Sixtieth Anniversary of Professor Jaroslav Švejda. Neoplasma, 22, 1975, 2, pp. 231 - 232.
5. Řičný D.: Prof. Švejda - osobní vzpomínky - 2005
6. Šlampa, P.: Radiační onkologie v praxi. Vydal Masarykův onkologický ústav Brno 2004, s. 216. (ISBN 80-86793-02-8)

informace

PREVENCE JAKO NEJSILNĚJŠÍ ZBRÁNĚ V BOJI PROTI ONKOLOGICKÝM ONEMOCNĚNÍM

JOUKALOVÁ Z.
MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV BRNO
CENTRUM KOMUNIKACE S VEŘEJNOSTÍ

Masarykův onkologický ústav (MOÚ) v Brně je jedinečné zdravotnické zařízení v České republice, specializované onkologické centrum s nadregionální působností, kde jsou na jednom místě soustředěny všechny nezbytné medicínské obory pro zajištění komplexní onkologické péče, které zahrnují epidemiologii, diagnostiku, jednotlivé modality protinádorové léčby, rehabilitaci, vědecko-výzkumnou práci i pre- a postgraduální výuku a osvětovou činnost zaměřenou na širokou veřejnost. Je to ústav, který se zabývá léčbou onkologických onemocnění už více než 70 let. A právě díky svým letitým zkušenostem s léčbou rakoviny kladou jeho pracovníci velký důraz na prevenci a snaží se některými programy určenými široké veřejnosti podchytit nádorové onemocnění včas. Bohužel, zdravotní pojišťovny něco podobného nenabízejí. Podle platných vyhlášek jsou k dispozici pouze dílčí preventivní onkologická vyšetření hrazená ze zdravotního pojištění, v některých případech omezena na určitou etapu života (např. mamární screening určený ženám od 45 do 69 let, a to jednou za dva roky). Tato vyšetření jsou však pro časný záchyt většiny nádorů nedostatečná. Proč? Dvouletý interval může být v některých případech příliš dlouhý, není doceněn význam rodinné onkologické anamnézy a kromě jiného chybí také komplexní pohled. Proto MOÚ přišel s programem určeným samoplátcům, který nazval **Preventivní onkologický program pro každého**, jehož mottem je: Důležitější, než onemocnění léčit, je jim předcházet...

Jeho cílem je záchyt zhoubných nádorů v časném, plně vyléčitelném stadiu. Zahrnuje základní vyšetření nejčastějších onkologických diagnóz - komplexní vyšetření onkologem, vyšetření krve s důrazem na tumormarkery (celkem 27 položek), vyšetření moči, rtg. plic, hemokult, v případě nutnosti kolonoskopie, UZ břicha - jater, slinivky, ledvin, u žen gynekologická prohlídka včetně cytologie pochvy..., u mužů vyšetření varlat a prostaty a dále prevence interních chorob, EKG, echo srdce a poradna zdravé výživy (obezitologie). Podnět k tomuto kroku dal odborníkům z MOÚ program nazvaný Péče onkologů o seniory, který byl v ústavu zaveden v březnu 2004. Ze statistiky za minulý rok (2005) vyplývá, že bylo vyšetřeno celkem 681 seniorů, z toho u 55 bylo objeveno nádorové onemocnění = 8 %. Znovu tak bylo potvrzeno, že nádorové onemocnění lze cíleným vyšetřením odhalit ještě ve stadiu, kdy nečiní žádné potíže a kdy je vyléčitelné.

Možná, že řada lidí se pozastaví nad tím, že jde o vyšetření, která si musí lidé sami platit (Preventivní onkologický program pro každého stojí 2 000,- Kč). Ale ani ty nejvyspělejší země světa nemají na to, aby hradily veškerou zdravotní péči jen z prostředků povinného zdravotního pojištění.

Musíme si zvyknout, že jsme za své zdraví odpovědní sami, že nemůžeme od státu očekávat, že se postará o všechno. Proto bychom měli využívat všech možností, jak onemocněním předcházet, sami aktivně vyhledávat preventivní programy, které dávají určitou vnitřní jistotu, že se nám zatím zákeřná nemoc vyhýbá. Tak, jak jsme ochotni - a vůbec o tom neuvažujeme - s autem jezdit na pravidelné garanční prohlídky, abychom měli jistotu, že nám na silnici neselže (a vůbec se nedíváme, že nás stojí mnohdy tisíce), tak bychom si měli zvyknout chodit na jakési „garanční prohlídky“ i se sebou samými (a věnovat určitý obnos i do svého zdraví).

V MOÚ jsou tedy nabízeny prohlídky:

1. pod jednou střechou,
2. provedeny odborníkem,
3. časově nenáročné,
4. maximálně efektivní k danému rozsahu vyšetření.

A ještě několik statistických čísel, která mohou o nutnosti preventivních prohlídek v oblasti onkologie přesvědčit:

- přibližně každý 3. obyvatel České republiky onemocní v průběhu svého života nádorovým onemocněním
- každoročně onemocní nádorovým onemocněním zhruba 50 000 obyvatel České republiky,
- 29 000 obyvatel této země na nádorové onemocnění každoročně zemře,

- Česká republika zaujímá ve výskytu řady onkologických onemocnění přední místa, ve výskytu rakoviny tlustého střeva má dokonce smutný světový primát.

Časně zachycená nádorová onemocnění jsou vyléčitelná, při léčbě časných fází solidních nádorů převládají prosté lokální chirurgické metody, léčba časných nádorových chorob neinvalidizuje, nezmrzačuje, nemá dlouhodobé důsledky a v neposlední řadě léčba časných stadií stojí mnohem méně peněz.

Na webových stránkách Masarykova onkologického ústavu -
 - Preventivní program MOÚ - lze také najít tabulku, která zachycuje přehled nejčastějších nádorových onemocněních v jednotlivých věkových kategoriích, který vychází z dat Národního onkologického registru (vyjma nádorů kůže):

Věk	15 - 25	26 - 35	36 - 45
ženy	nádory krve a uzlin	nádory gynekologické	nádory gynekologické
	nádory gynekologické	nádory krve a uzlin	nádory prsu
	nádory štítné žlázy	nádory štítné žlázy	nádory krve a uzlin
muži	nádory krve a uzlin	nádory varlat	nádory krve a uzlin
	nádory varlat	nádory krve a uzlin	nádory varlat
	nádory mozku	nádory mozku	nádory kolorekta

Věk	46 - 55	56 - 65	66 - 75	76 - výše
ženy	nádory prsu	nádory prsu	nádory prsu	nádory horního zažívacího traktu
	nádory gynekologické	nádory gynekologické	nádory kolorekta	nádory kolorekta
	nádory kolorekta	nádory kolorekta	nádory horního zažívacího traktu	nádory prsu
muži	nádory plic	nádory plic	nádory plic	nádory kolorekta
	nádory kolorekta	nádory kolorekta	nádory kolorekta	nádory prostaty
	nádory horního zažívacího traktu	nádory horního zažívacího traktu	nádory prostaty	nádory horního zažívacího traktu

nádory kolorekta = nádory tlustého střeva a konečníku

nádory horního zažívacího traktu = nádory jícnu, žaludku, tenkého střeva, žlučových cest, jater a slinivky břišní

Preventivní onkologický program pro každého byl zaveden v MOÚ od 2. května letošního roku. Aby měl lékař na každého zájemce dostatek času, bylo plánováno denně vyšetřit 6, maximálně 7 lidí. Hned od začátku byl o něj veliký zájem. Do konce července se jej zúčastnilo 310 lidí z celé republiky i ze zahraničí (většinou se jednalo o klienty, kteří mají v naší republice příbuzné - Slovensko, Itálie, Anglie, Švédsko). Z toho u 5 klientů byla zjištěna rakovina ledvin a 1x rakovina varlat, neonkologických onemocnění několik desítek, většinou hypertenze, zvýšená hladina cholesterolu, ložisková onemocnění jater a plic. Znamená to 2% záchyt onkologických onemocnění, což dokazuje, že byl program sestaven optimálně a že má své velké opodstatnění. Je jen škoda, že zatím MOÚ nenašel další spojence, kteří by podobně vyšetření nabízeli i v jiných částech republiky.