



วารสารสมาคมรังสีรักษาและมะเร็งวิทยาแห่งประเทศไทย

# ມະຕູຮີຈົວວົມນີ

ປຶກທີ 10 ຈົບັນທີ 1-3  
Vol.10 No.1-3

ມັງກອນ-ອັນວັນ 2547  
January-December 2004



ນາຍແພທຍົຍງຍຸທດ ຄອດນາຮັດນີ

Journal of Thai Society of Therapeutic Radiology and Oncology

ISSN 0859-2616

สมาคมรังสีรักษาและมะเร็งวิทยาแห่งประเทศไทย  
Thai Society of Therapeutic Radiology and Oncology

คณะกรรมการบริหารสมาคมรังสีรักษาและมะเร็งวิทยาแห่งประเทศไทย

ศ. พ.ญ. พิสมัย	อร่วมศรี	ที่ปรึกษา
ผศ. น.พ. กิญโญ	กำกฎ อนุธยา	
ศ. พ.ญ. สายส่วน	อุณหนนท์	
น.พ. ศิริศักดิ์	ภูริพัฒน์	ขออนุให้เป็นสมบัติของห้องสมุด
ผศ. พ.ญ. ถุรีร์	ธีระฐาน	หน่วยรังสีรักษาและเวชศาสตร์นิวเคลียร์
ศ. น.พ. ไพรัช	เทพมงคล	
ศ. พ.ญ. พวงทอง	ไกรพินุลย์	
น.พ. พิศิษฐ์	ศิริสุข	
ผศ. พ.ญ. ประภัสสร	รัชตะปิติ	
รศ. น.พ. วิชาญุ	หล่อวิทยา	
น.พ. ยงยุทธ	คงธนารัตน์	นายกสมาคม
ร.ศ. พ.อ. น.พ. ประมุข	พรหมรัตนพงศ์	อุปนายก
น.อ. น.พ. เกษม	งค์วิวัฒน์	เลขานิการ
พ.ท. น.พ.ช นวัธน์	เทศวินูด	รองเลขานิการ
ร.ศ. น.พ. ประเสริฐ	เลิศส่วนสินชัย	ประธานฝ่ายวิจัย
ผศ. น.พ. ชลเกียรติ	ขอประเสริฐ	ประธานฝ่ายวิชาการ
ผศ. พ.ญ. นันท์	สุนทรพงศ์	ผู้ช่วยกรรมการฝ่ายวิชาการ
น.พ. ลักษ์	ฤทธิ์บรีดี	ปฏิคิม
น.พ. วัชรุช	มะลิกุล	ผู้ช่วยปฏิคิม
ว่าที่ร้อยตรี น.พ. ปิยะ	ประทีปะเสน	Herrera ภูมิคุก
ผศ. พ.ญ. กาญจนา	ไชติเลอศักดิ์	ผู้ช่วย Herrera ภูมิคุก
ศ. น.พ. ไพรัช	เทพมงคล	กรรมการกลาง
ศ. พ.ญ. วิมล	สุขุมยา	กรรมการกลาง
น.พ. ศักดิ์พิศิษฐ์	นวศรี	กรรมการกลาง
พ.ญ. สมใจ	แแดงประเสริฐ	กรรมการกลาง
พ.ญ. สายพิน	ตั้งครัชต์	กรรมการกลาง
น.พ. ศรีชัย	ครุสันธี	กรรมการกลาง
นพ. สมคิด	เพ็ญพัฒนกุล	กรรมการกลาง
น.พ. เต็มศักดิ์	พิ่งรัศมี	กรรมการกลาง
น.พ. อภิชาต	พานิชชีวลักษณ์	กรรมการกลาง
พ.ญ. ธนาทิพย์	ตันติรัตนะ	กรรมการกลาง

# เนื่องจากปี

## นายแพทย์ ยงยุทธ คงธนารัตน์

วัน/เดือน/ปีเกิด 16 กันยายน 2492

สถานภาพสมรส คู่

ภรรยา	นางกิตติพร	คงธนารัตน์
บุตร	นายยงค์ดี	คงธนารัตน์
บุตร	นายยงยศ	คงธนารัตน์



### การศึกษา

2510 ร.ร. อัสสัมชัญ มนบุรี  
2512 ร.ร. เตรียมอุดมศึกษา<sup>1</sup>  
2516 วิทยาศาสตร์บัณฑิต มหาวิทยาลัยมหิดล  
2518 แพทยศาสตร์บัณฑิต คณะแพทยศาสตร์ ร.พ.รามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล  
2523 วุฒิบัตรรังสีรักษา และเวชศาสตร์นิวเคลียร์ แพทยสภา

### ประวัติรับราชการ

2523 นายแพทย์ 4 โรงพยาบาลราชวิถี กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข  
2525 นายแพทย์ 5 โรงพยาบาลราชวิถี กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข  
2528 - ปัจจุบัน หัวหน้างานรังสีรักษาและมะเร็งวิทยา  
2530 นายแพทย์ 6 โรงพยาบาลราชวิถี กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข  
2533 นายแพทย์ 7 โรงพยาบาลราชวิถี กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข  
2534 นายแพทย์ 8 โรงพยาบาลราชวิถี กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข  
2540 นายแพทย์ 9 โรงพยาบาลราชวิถี กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข  
2543 รองหัวหน้าภาควิชารังสีวิทยา สถาบันร่วมผลิตแพทย์ กรมการแพทย์ มหาวิทยาลัยรังสิต

### ตำแหน่งในอดีต

2537 - 2543 เลขาธิการสมาคมรังสีรักษาแห่งประเทศไทย  
2543 - 2547 อุปนายกสมาคมรังสีรักษาและมะเร็งวิทยาแห่งประเทศไทย

### ตำแหน่งปัจจุบัน

2547 - ปัจจุบัน นายกสมาคมรังสีรักษาและมะเร็งวิทยาแห่งประเทศไทย

# มะเร็งวัฒน์

ปีที่ 10 ฉบับที่ 1-3 มกราคม-ธันวาคม 2547

Vol.10 No.1-3 January-December 2004

สารบัญ

ประวัติหน่วยรังสีรักษาและมะเร็งวิทยา  
โรงพยาบาลราชวิถี

นายแพทย์ยงยุทธ คงธนารัตน์ ..... 6

Metaplastic carcinoma of the breast: report of  
two cases in clinical, mammographic, and  
sonographic findings with histopathological  
correlation

Wiratkapan C, Wongwaisayawan S,  
Pulpinyo K, Wibulpholprasert B ..... 7

Modern Brachytherapy

อภิชาต พานิชช์วัตถยณ์ ..... 15

The Efficacy of Conventional Radiation Therapy in  
The Management of Pituitary Adenoma

Puataweepong P, Dhanachai M,  
Kraiphibul P, Pocharugool L,  
Dangprasert S, Laothamatas J,  
Theerapancharoen V,  
Phudhichareonrat S ..... 17

Chemoradiotherapy in Patients  
with Locally Advanced Nasopharyngeal Cancer

Tharavichitkul E, Chitapanaraux I,  
Pukahanphan N ..... 28

Dosimetry Characteristic of  
Implanted Thermoluminescence Detector

Wanwilairat S ..... 35

DNA microarrays; การประยุกต์ใช้ในการวิจัยโรคมะเร็ง  
ธรรมรัตน์ ก้าวสมบัติ, นิสา ชาพันธ์ ..... 39

Effect of topical vitamin E on radiation induced skin  
alteration in head and neck cancer patients

Supported by The Ratchadapiseksomphot Fund  
Year 2003, Chulalongkorn University

Asavametha N, Suwannalai T,  
Puvanbanditsin P,  
Shoosanglertwijit J ..... 48

# สารสนเทศสำหรับผู้เขียน

## เรื่องที่จะตีพิมพ์

1. บทความวิชาการ (Editorial) เป็นบทแสดงความเห็นทางวิชาการหรือแนวทางการรักษา ศึกษาค้นคว้า วิจัยทางวิชาการที่ยังใหม่

2. นิพนธ์ต้นฉบับ (Original articles) และรายงานผู้ป่วย (Case report) ซึ่งเป็นผลงานทางการศึกษา หรือวิจัยของผู้เขียนเอง หรือรายงานผู้ป่วยที่น่าสนใจ

3. บทพื้นฟูวิชาการ (Review articles) เป็นการรวมรวมสรุปหรือวิจารณ์ความก้าวหน้าทางวิชาการในเรื่องใดเรื่องหนึ่ง

4. ปกิณกะ (Miscellany) เป็นบทความทั่วไปเกี่ยวกับการแสดงความคิดเห็น ซักถามปัญหา หรือการรวมรวมบันทึกการอภิปราย บทความย่อวารสารที่น่าสนใจ ลักษณะดรามาถึงบรรณาธิการ (Letter to editor)

## เงื่อนไข

1. ต้นฉบับที่ส่งให้พิจารณาจะต้องไม่เคยตีพิมพ์ หรืออยู่ในระหว่างการตีพิมพ์ในวารสารเล่มอื่น
2. บทความและนิพนธ์ต้นฉบับ รวมทั้งการแสดงความคิดเห็นทั้งหมดเป็นผู้เขียนเองทั้งสิ้น
3. คณะกรรมการไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป

## การเตรียมต้นฉบับ

1. ต้นฉบับควรพิมพ์หน้าเดียว อาจเป็นภาษาไทยหรืออังกฤษได้ และขอให้ส่งแฟ้ม Diskette หรือแผ่น CD-R แบบมาด้วย โดยใช้โปรแกรม Microsoft Word ในการพิมพ์ ขนาดตัวหนังสือ 15 พอยต์

2. บทความประเกณฑ์นิพนธ์ต้นฉบับและรายงานผู้ป่วย จะต้องมีบันทัดย่อทั้งภาษาไทยและอังกฤษ

3. บทความประเกณฑ์นิพนธ์ต้นฉบับและรายงานผู้ป่วย บทพื้นฟูวิชาการ จะต้องมีเอกสารอ้างอิงสำหรับข้อมูลที่อ้างถึงในเนื้อหาความนั้น

4. การอ้างอิงเอกสารในบทความ ให้ใช้ระบบตัวเลขยกระดับอยู่หนึ่งข้อความที่อ้างอิงในเนื้อเรื่อง และเอกสารที่อ้างถึงในบทความนั้น

## สารสาร

สารสารภาษาอังกฤษ รายชื่อผู้แต่ง ให้เริ่มจากนามสกุลเต็ม ชื่อย่อ ในกรณีที่มีมากกว่า 6 คน ให้ใช้ชื่อ 3 คนแรก ตามด้วย et al. ชื่อบทความ ชื่อวารสาร ให้ใช้คำย่อตาม Index Medicus ปี; ปีที่; หน้า

สารสารภาษาไทย รายชื่อผู้แต่ง ให้ใช้ชื่อ นามสกุลเดิม และชื่อวารสารเต็ม

## หนังสือ

ชื่อผู้แต่ง ชื่อเรื่อง พิมพ์ครั้งที่ สถานที่พิมพ์ สำนักพิมพ์ ปี หน้า

การอ้างเฉพาะบทใดบทหนึ่งในหนังสือ ให้เริ่มชื่อผู้แต่ง ชื่อเรื่อง In : ชื่อบรบรรณาธิการ ชื่อหนังสือ สถานที่พิมพ์ สำนักพิมพ์ ปี หน้า

5. ตารางหรือรูปประกอบที่ความควรซัดเจนและมีขนาดใหญ่พอดี รูปประกอบอาจบันทึกแยกไว้ใน File รูปประกอบ (ในสกุล TIFF/JPEG/EPS/PDF) หรือติดบนกระดาษแยกต่างหาก พร้อมกับคำบรรยายไว้ชัดเจน สำหรับในเนื้อเรื่องให้เว้นที่ว่างและเขียนแจ้งกำหนดบริเวณที่ควรใส่ตารางหรือรูปที่ต้องการ

## USSR នានា និការ នៃការ ផលិត

มะเร็งวัววัฒน์ฉบับนี้จะเป็นกับสุดท้ายในความรับผิดชอบของคณะผู้จัดทำ ในยุคต่อไปคงจะมีการเปลี่ยนแปลงในรูปแบบของวารสาร ซึ่งจะมีประกาศออกมายืนยัน ฯ จากสมาคมฯ

ขอขอบพระคุณผู้นั้นที่ได้ให้ความร่วมมือเป็นอย่างดี และสุดท้ายขอขอบคุณเป็นพิเศษต่อคุณประชารัตน์ เทียนใจ เจ้าหน้าที่บริหารงานทั่วไป หน่วยรังสีรักษาและมะเร็งวิทยา โรงพยาบาลรามาธิบดี เชียงใหม่ ที่ได้ให้ความช่วยเหลือทุกอย่างในการผลิตวารสารโดยมิได้ค่าตอบแทนใด ๆ ทั้งสิ้น

### บรรณาธิการ

## ประวัติงานรังสีรักษาและมะเร็งวิทยา โรงพยาบาลราชวิถี

■ นายแพทย์ยงยุทธ คงธนารัตน์

งานรังสีรักษาและมะเร็งวิทยา กลุ่มงานรังสีวิทยา โรงพยาบาลราชวิถี เปิดบริการรักษาผู้ป่วยโรคมะเร็งครั้งแรกที่ “ตึกรังสีเก่า” (ปัจจุบันคือตึกรักษาผู้ป่วยติดยาเสพติด) และได้ย้ายมาที่ตึกห้องชันนาณูเนติศาสตร์ หรือ “ตึกฉายแสง” หรือ “ตึกโคนอลต์” เมื่อปี พ.ศ. 2517 โดยในเริ่มแรกมีเพียงเครื่องฉายรังสี โคนอลต์-60 และเครื่อง Deep X-ray และได้รับผู้ป่วยด้วยแร่เดียม-226 เมื่อตอนแรกที่ย้ายมาตึกห้องชันนาณูฯ ดูเหมือนหนึ่งว่า ตึกใหญ่มาก เพราะมีบุคลากรที่ทำงานและผู้ป่วยที่มารับบริการจำนวนน้อย ต่อมามีจำนวนผู้ป่วยที่เพิ่มมากขึ้นทุกปี และเจ้าหน้าที่ที่ปฏิบัติงานเพิ่มมากขึ้นทำให้ตึกห้องชันนาณูฯ เล็กลง อีกทั้งงานรังสีรักษาและมะเร็งวิทยาได้ปรับปรุง ขยาย และพัฒนาสิ่งใหม่ๆ เพื่อให้ทันกับเทคโนโลยีที่เปลี่ยนแปลงไป

ในปี พ.ศ. 2536 ได้ติดตั้งเครื่องฉายรังสี แบบเครื่องเร่งอนุภาคที่ให้พลังงานไฟฟoton 2 ค่า และอนุภาคอิเล็กตรอน 6 ค่า ในตึกเจริญ พุลารักษณ์ที่สร้างขึ้นใหม่

ในปี พ.ศ. 2540 ได้ติดตั้งเครื่องฉายรังสี แบบเครื่องเร่งอนุภาคที่ให้พลังงานไฟฟoton 1 ค่า เพื่อทดแทนเครื่องฉายรังสีโคนอลต์-60 ที่เลิกใช้งาน

ปี พ.ศ. 2541 ติดตั้งเครื่อง CT-SIMULATOR

ปี พ.ศ. 2547 ติดตั้งเครื่องไส้แร่ ชนิดอัตราปริมาณรังสีสูง พร้อม C-arm และเครื่องวางแผนการรักษาด้วยคอมพิวเตอร์

ปัจจุบัน งานรังสีรักษาฯ มีตึกใช้งาน 2 ตึก คือตึกห้องชันนาณูเนติศาสตร์ และตึกเจริญ พุลารักษณ์ โดยเครื่องมือส่วนใหญ่ และห้องตรวจผู้ป่วยห้องไส้แร่ จะอยู่ในตึกห้องชันนาณูฯ ส่วนหนึ่งของ

ตึกเจริญฯ จะเป็นห้องฉายรังสี ห้องประชุมของงานฯ ห้องธุรการของงาน ห้องพักแพทย์รังสีรักษา ที่เก็บแฟ้มฉายรังสีผู้ป่วยโรคมะเร็ง และห้องของสำนักงานสมาคมรังสีรักษาและมะเร็งวิทยาแห่งประเทศไทย อีกส่วนหนึ่งของตึกเจริญฯ โรงพยาบาลราชวิถีขอแบ่งใช้เป็นที่ตั้งของสโนมส์รองค์กรแพทย์ งานนโยบายและแผนของโรงพยาบาลราชวิถี และงานมะเร็งวิทยา กลุ่มงานอายุรกรรม

งานรังสีรักษาและมะเร็งวิทยา นอกราชมีงานผู้ป่วยนอกที่ให้บริการผู้ป่วยที่ฉายรังสีแบบปีกลับยังมีห้องผู้ป่วยรังสีรักษาที่สามารถรับผู้ป่วยมะเร็งที่มาฉายรังสีและให้ยาเคมีบำบัด จำนวน 52 เตียง ซึ่งตั้งอยู่ที่ตึกสิรินธร ชั้น 4 โดยแบ่งเป็นห้องผู้ป่วยชายและผู้ป่วยหญิง มีห้องพิเศษ 3 ห้อง ห้องพิเศษรวมและห้องสามัญชาย-หญิง

บุคลากรในงานรังสีรักษาและมะเร็งวิทยาประกอบด้วย

แพทย์รังสีรักษา	3 คน
(รองรับโอนย้ายอีก 1 คน)	
นักรังสีการแพทย์	6 คน
เจ้าหน้าที่รังสีการแพทย์	3 คน
พยาบาลวิชาชีพ (ลูกจ้างรายวัน)	2 คน
ผู้ช่วยเหลือผู้ป่วย	7 คน
เจ้าหน้าที่ธุรการ	1 คน
คุณงานทำความสะอาด	5 คน

ปัจจุบัน นายแพทย์ยงยุทธ คงธนารัตน์ เป็นหัวหน้างานรังสีรักษาและมะเร็งวิทยา ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2528



## Metaplastic carcinoma of the breast: report of two cases in clinical, mammographic, and sonographic findings with histopathological correlation

### มะเร็งเต้านมชนิดเมตาพลาสติก : รายงานผู้ป่วย 2 รายในทางคลินิก, แมมโมแกรม, คลื่นเสียงความถี่สูง และ พยาธิวิทยา

■ Cholatip Wiratkupun M.D.

Department of Radiology, Faculty of Medicine,  
Ramathibodi hospital, Mahidol University,  
Bangkok

■ Sansanee Wongwaisayawan M.D.

Department of Pathology, Faculty of Medicine,  
Ramathibodi hospital, Mahidol University,  
Bangkok

■ Kamoltum Pulpinyo M.D.

Department of Radiology, Faculty of Medicine,  
Ramathibodi hospital, Mahidol University,  
Bangkok

■ Bussanee Wibulpholprasert M.D.

Department of Radiology, Faculty of Medicine,  
Ramathibodi hospital, Mahidol University,  
Bangkok

#### ABSTRACT

Metaplastic breast carcinoma is a very rare breast malignancy. It regards as ductal carcinomas that undergo metaplasia into nonglandular mesenchymal tissue, consisting with squamous, spindle cell, chondroid (cartilaginous) or osseous differentiation. The clinical presentation is usually a palpable mass. Axillary lymph node metastasis is infrequent. No specific mammographic features are found. The mass often shows high density. The borders vary from well-circumscribed to speculated margins. Associated microcalcifications are uncommon. On sonographic examination, complex echogenicity with solid and cystic components may be seen and is highly suggestive of metaplastic breast carcinoma. It relates to necrosis and cystic degeneration found histopathologically. Excisional biopsy is preferred for tissue diagnosis because aspiration cytology or core-needle biopsy may miss the metaplastic component.

มะเร็งเต้านมชนิดเมตาพลาสติก เป็นมะเร็งที่พบได้น้อยมาก เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของ Ductal carcinoma เป็นชนิด squamous, spindle cell, chondroid (cartilaginous) หรือ osseous ผู้ป่วยมักคลำพบก้อนที่เต้านม ไม่ค่อยพบการกระ化ไปที่ต่อมน้ำเหลืองที่รักแร้ ก้อนที่พบในแมมโมแกรมไม่มีลักษณะเฉพาะ มักเป็นก้อนที่มีความทึบรังสีกว่าเนื้อเต้านม ขอบเขตอาจเรียบหรือไม่เรียบ ไม่แน่น ไม่เรียบ ไม่มีทินนูนอยู่ภายในก้อน ลักษณะก้อนที่พบจากคลื่นเสียงความถี่สูงมักเป็นก้อนเนื้อที่มีส่วนที่เป็นน้ำเนื้องจากเนื้อตาย การวินิจฉัยทางพยาธิวิทยา จำเป็นต้องได้ชิ้นเนื้อมากพอ ได้แก่ การทำ excisional biopsy เนื่องจากการเจาะตรวจอาจไม่ได้ส่วนที่เป็น metaplasia

## INTRODUCTION

Metaplasia is a process in which glandular epithelium differentiates into nonglandular mesenchymal tissue.<sup>(1)</sup> Metaplastic carcinoma of the breast is an overt infiltrating ductal carcinoma with extensive squamous differentiation and/or spindle cell proliferation, chondroid (cartilaginous) or osseous heterologous elements.<sup>(2)</sup> It is a very rare breast neoplasm accounting for less than 1 % of all breast malignancies.<sup>(2)</sup> Differentiating metaplastic breast carcinoma from breast sarcoma is important because the natural history, surgical treatment, chemotherapy regimen and prognosis differ.<sup>(3)</sup> To our knowledge, according to the rarity of this type of breast neoplasm, little has been reported on the radiologic findings in metaplastic carcinoma, especially the sonographic findings.<sup>(1, 3-7)</sup>

The purpose of this study was to describe the mammographic and sonographic findings of metaplastic carcinoma of the breast and to correlate the radiologic features with clinical and histopathologic findings.

## MATERIALS AND METHODS

A retrospective review of the pathological data of 3,531 histopathologically proven breast cancer cases diagnosed at Ramathibodi hospital during January 1992 to September 2004 revealed 6 cases of metaplastic carcinoma. Three cases were excluded from the study because no imaging was obtained. Another case was excluded because the mammogram was destroyed. The history,

physical examination, mammographic and sonographic findings were reviewed for the remaining two cases.

Mammography by routine craniocaudal and mediolateral oblique views was performed including spot compression magnification view to verify the lesion. Our breast diagnostic center has two mammographic machines, Lorad M-IV (TREX Medical corporation, Lorad division, Danbury, CT, U.S.A.) and Sonographe DMR+ (General electric medical systems, Waukesha, WI, U.S.A.) The mammograms were retrospectively reviewed by three radiologists who were specialists in breast imaging. The evaluation was performed as consensus interpretations.

Each mammographic lesion was characterized according to size (measured as the maximum dimension on mammogram), mass characteristics (shape, margin, density and location), presence and type of microcalcifications, architectural distortion and other associated findings present such as skin change or nipple retraction. Breast compositions were categorized as almost entirely fat, scattered fibroglandular densities, heterogeneously dense and extremely dense using the American College of Radiology's Breast Imaging Reporting and Data System (BI-RADS)<sup>(8)</sup>

Sonography was performed with high-resolution (Linear array L12-5 50 mm.) sonographic equipment (HDI 5000; Philips ultrasound, Bothell, WA, U.S.A.). The sonographic films of each patient were reviewed after the mammograms and were assessed for lesion shape, margin, echogenicity and



posterior acoustic patterns.

Microscopic slides of the patients were reviewed by a pathologist who was breast pathology specialist. The specific metaplastic components were identified.

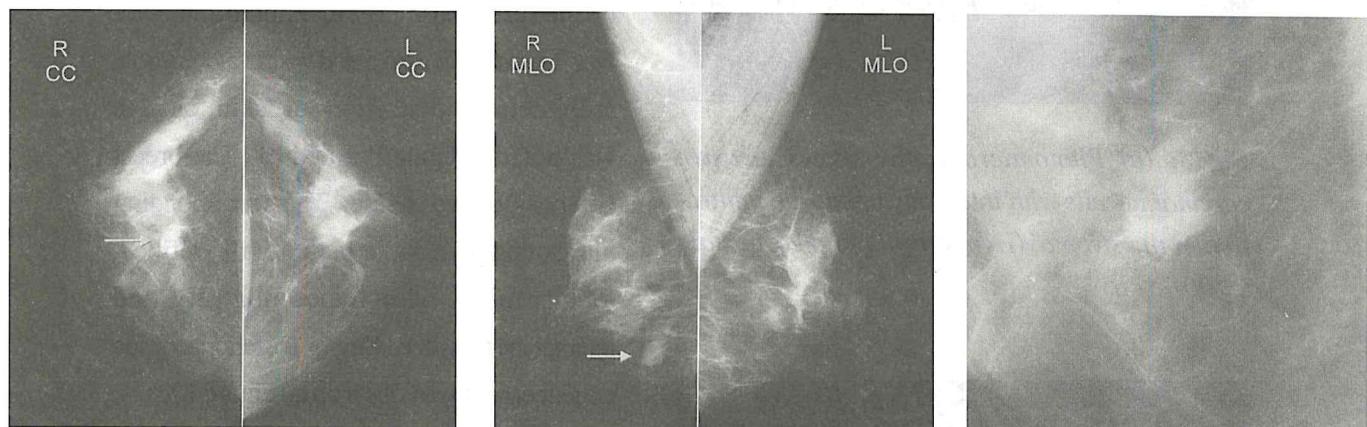
## CASE REPORT

### Case 1

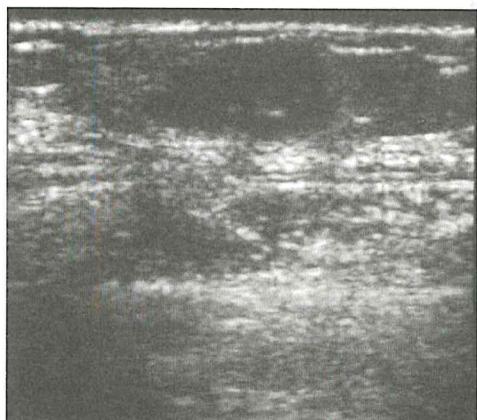
A 54-year-old postmenopausal woman presented with a 4-cm mass in the right axilla for 3 weeks. An excisional biopsy was done at a community hospital. The pathology disclosed metastatic carcinoma. She was referred to Ramathibodi Hospital for further management.

No family history of breast cancer was existed.

No palpable mass was detected on the physical examination. The mammogram revealed a 1.4-cm, lobular mass with partially indistinct border located at the lower-inner quadrant of the right breast. It had high density compared to the glandular tissue. (Figure 1a, b and c) No microcalcification, architectural distortion or skin change was associated. The breast composition was heterogeneously dense. On ultrasound, this mass appeared as a circumscribed, lobular hypoechoic mass with small internal cystic space. Mild posterior acoustic enhancement was noted. (Figure 2)



**Fig 1:** Mammography in (a) craniocaudal, (b) mediolateral oblique and (c) spot compression magnification views demonstrate a 1.4-cm, high-density, lobular mass with partially indistinct border at the lower-inner quadrant of the right breast (arrows)

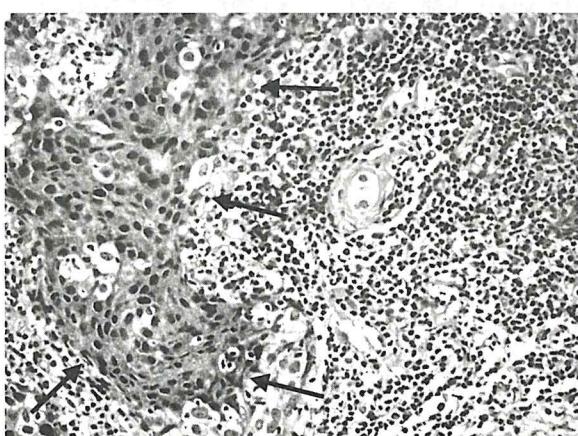


**Fig 2:** Sonography shows a circumscribed, lobular hypoechoic mass with small internal cystic spaces.

Core needle biopsy using a 14-gauge needle was performed under ultrasound guidance. The pathology was carcinoma with squamous metaplasia. (Figure 3 a and b) Definite surgical treatment was planned, but the patient lost follow-up since December 2000.



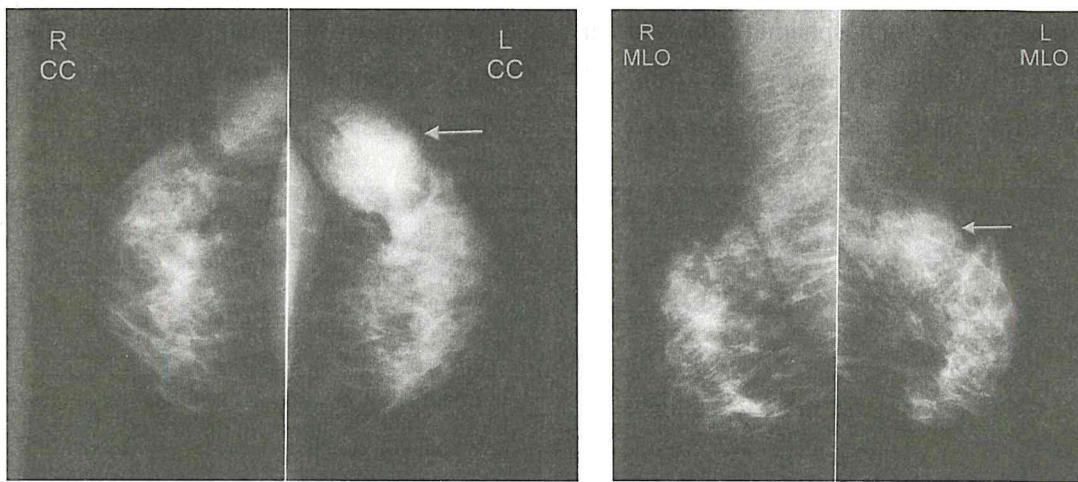
**Fig 3:** (a) Photomicrography shows invasive carcinoma cells with intense lymphocytic infiltration in the stroma. (Hematoxylin and eosin stain x 100).



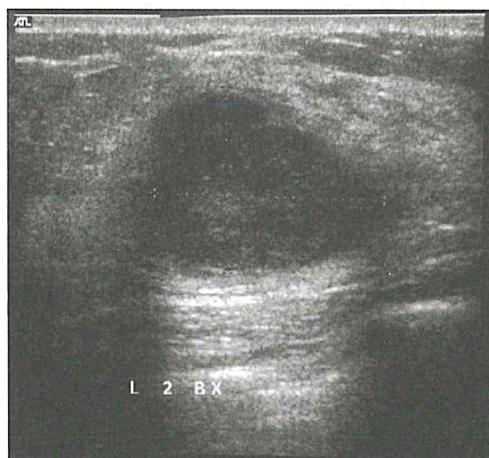
(b) There is nest of squamous metaplastic cells (area within the arrows) (Hematoxylin and eosin stain x 200)

### Case 2

A 43-year-old female presented with a rapidly growing lump in her left breast for 1 month. She was surgically menopausal after total hysterectomy due to myoma uteri 4 years ago. No family history of breast cancer was noted. Physical examination revealed a 4-cm circumscribed, moveable mass with smooth surface and firm consistency at the upper-outer quadrant of the left breast. There was a 2-cm moveable left axillary lymph node as well. Mammogram showed a round, high-density mass with indistinct border at the upper-outer quadrant of the left breast. Its maximum diameter was 4.5 cm. No associated microcalcification, architectural distortion or skin change was noted. (Figure 4 a and b) The breast composition was dense. The corresponding ultrasound revealed a partially ill-defined, lobular mass with hypoechoicity and internal cystic space. Strong posterior acoustic enhancement was observed. (Figure 5)



**Fig 4:** Mammography in (a) craniocaudal and (b) mediolateral oblique views show a 4.5-cm, high-density mass with indistinct border at the upper-outer quadrant of the left breast (arrows)



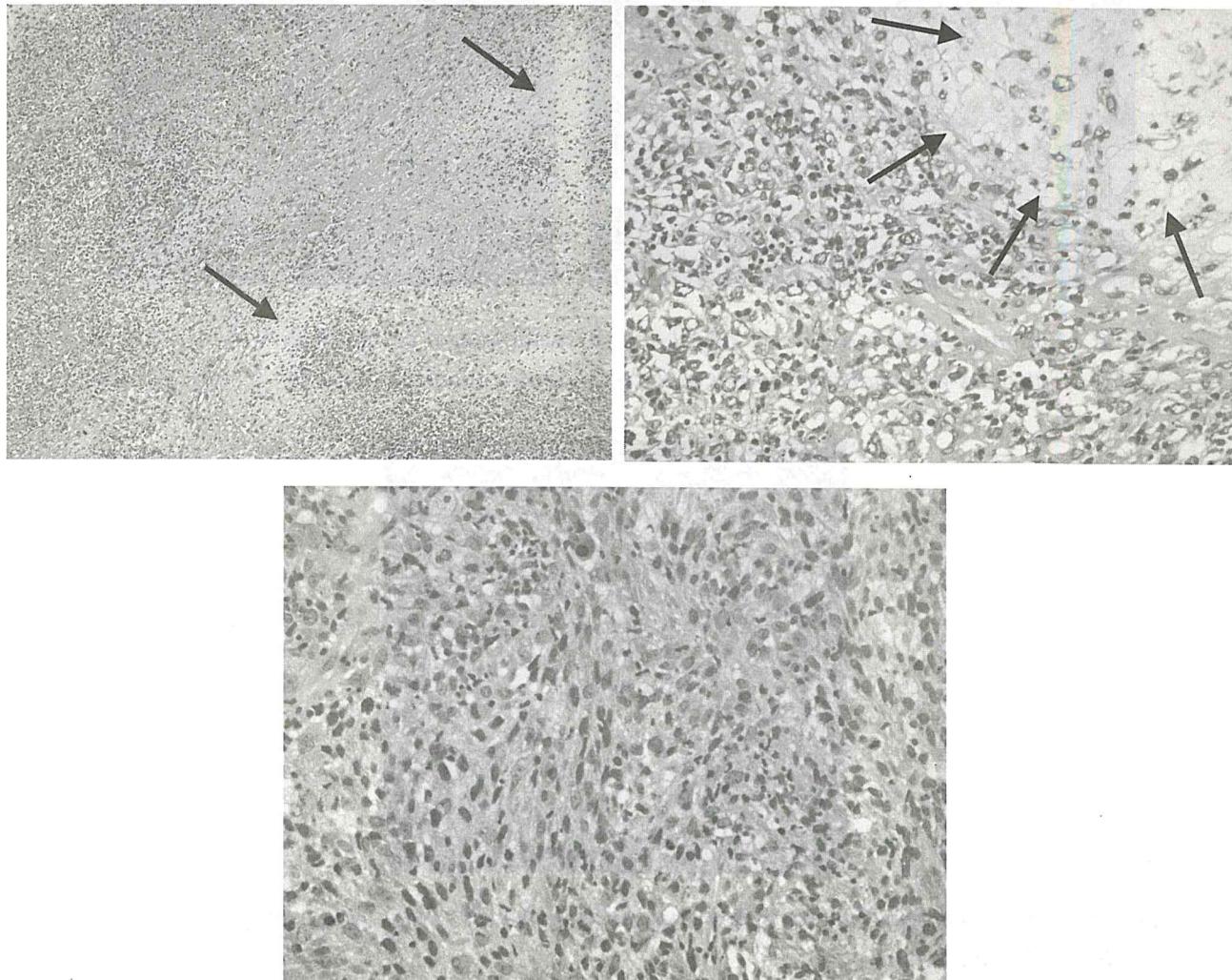
**Fig 5:** The corresponding sonogram reveals a partially ill-defined lobular mass with hypoechoogenicity and internal cystic spaces.

The patient was undergone core needle biopsy under ultrasound guidance. The initial pathology reported medullary carcinoma. No distant metastasis was detected. Modified radical mastectomy was performed, followed by immediate breast reconstruction using transverse rectus abdominis muscle flap. The final pathology was invasive ductal carcinoma grade

III with two components of metaplasia, which were cartilaginous and spindle cell. (Figure 6 a, b and c) The pathological tumor size was 4.5 cm. Deep surgical margin was 2 mm. One of eleven axillary lymph nodes contained metastatic foci. Estrogen and progesterone receptors including HER 2/neu were negative. Adjuvant chemotherapy was started. The regimen

composed of cyclophosphamide, doxorubicin and 5-FU. Radiation therapy was given with a total tumor dose of 4,500 cGy over 6 weeks.

The patient was well and no recurrent disease was noted on her last follow-up with the medical oncologist on 30<sup>th</sup> August 2004.



**Fig 6:** (a) The photomicrograph shows invasive carcinoma cells admixture with cartilaginous tissue (arrows) (Hematoxylin and eosin stain x 40)

## DISCUSSION

Metaplasia is defined as the transformation of one form of tissue into another form.<sup>(3)</sup> Metaplastic breast carcinomas are regarded as ductal carcinomas that undergo metaplasia into nonglandular mesenchymal tissue.<sup>(1,3)</sup> The

contributing factor in this process is not well understood.<sup>(5)</sup> The degree of differentiation varies from small foci to complete glandular replacement.<sup>(3,5)</sup> Associated ductal carcinoma in situ might be present in 50% of cases.<sup>(5)</sup> The

morphologies of metaplastic breast carcinomas are heterogeneous, consisting with ductal adenocarcinoma with squamous differentiation, a spindle-cell pattern of growth, and/or heterologous mesenchymal elements.<sup>(1-5)</sup> The most frequently encountered subtype reported in literatures is squamous metaplasia.<sup>(3)</sup> Bellino et al.<sup>(9)</sup> reported eleven cases of metaplastic breast carcinomas. Six cases showed chondroid metaplasia, three cases were spindle cell carcinoma and two cases were metaplastic squamous carcinoma. The six cases treated in Ramathibodi hospital consisted of 4 cases of squamous metaplasia, one case of spindle cell type and one case of mixed cartilaginous and spindle cell metaplasia.

Clinically, metaplastic carcinomas are usually seen in women with a median age of 50 years old.<sup>(1, 10-13)</sup> The age of our patients were 54 and 43 years old. The presenting symptom is usually a palpable mass<sup>(1-3, 5)</sup>, which is rapidly growing.<sup>(2,3)</sup> The size of the lesions range from 1.6-18 cm.<sup>(3,5, 11-13)</sup> The median size is about 3-4 cm.<sup>(3,5,11-13)</sup> Axillary lymph node metastasis is infrequent, not exceeding 25-30%.<sup>(1,3,9)</sup> An exception is the series of Chao et al.<sup>(11)</sup>, which reports seven out of fourteen patients (50%) had axillary lymph node metastases at the time of diagnosis. Nodal metastases are not as commonly seen with metaplastic breast carcinomas as with non-metaplastic carcinomas of the same size but are definitely more common with metaplastic breast carcinomas than with sarcomas.<sup>(3,4)</sup> Both patients in our series had axillary lymph node

metastases. However, the number of our patients is too few to accurately determine the frequency of lymph node involvement.

The mammographic appearance of metaplastic breast carcinoma has been described in case reports or in small series<sup>(1,3-5,7)</sup>. There are no known specific radiological features.<sup>(1,5)</sup> The density of the mass is usually high compared to the surrounding glandular tissue.<sup>(1,3)</sup> The masses in our series also showed high density. The borders vary from well-circumscribed to spiculated margins.<sup>(1,3-7)</sup> Most studies do not find associated microcalcifications<sup>(1,3,5)</sup> and architectural distortion.<sup>(1,4,5,6)</sup> However, Park et al.<sup>(3)</sup> finds a high rate of associated architectural distortion. Gunhan-Bilgen et al.<sup>(1)</sup> concludes that a high-density mass without associated microcalcifications might be useful in suggesting the diagnosis.

On sonographic examination, many studies describe the complex internal echogenicity with solid and cystic components, which was consistent with necrosis and cystic degeneration on pathologic examination.<sup>(1,2,3,5)</sup> Our two cases showed internal cystic spaces as well. We suggested that metaplastic carcinoma, although a rare tumor, should be considered in the differential diagnosis of breast masses with solid and cystic components.

The diagnosis of metaplastic breast carcinoma may be made with aspiration cytology or core-needle biopsy, but excisional biopsy is preferred because diagnostic errors resulting from inadequate samples are avoided, especially in cases of associated necrosis or

hemorrhage.<sup>(1-4,7)</sup> In one case of our series, the patient was initially diagnosed with medullary carcinoma from core-needle biopsy. It might be explained by the sampling tissue retrieved only the epithelial part. Several studies stated that the distinction between metaplastic breast cancer and sarcoma is important because the surgical treatment, chemotherapy regimens, and metastatic pathways are different.<sup>(1,4,6)</sup>

The determination of prognosis for metaplastic breast carcinoma is limited by the uncommon occurrence of this cancer.<sup>(1,5)</sup> Survival most likely depends on tumor size,

histologic type, grade, lymph node status, and perhaps depends on the type and grade of the mesenchymal component.<sup>(1,5,6,10,11)</sup>

In conclusion, metaplastic carcinoma of the breast is a rare breast malignancy. It usually manifests as a mass on the physical examination and imaging studies. No pathognomonic mammographic feature is noted. Complex echogenicity with solid and cystic components may be seen sonographically and is highly suggestive of metaplastic breast carcinoma. It relates to necrosis and cystic degeneration found histopathologically.

## REFERENCES

1. Gunhan-Bilgen I, Memis A, Ustun EE, Zekioglu O, Ozdemir N. Metaplastic carcinoma of the breast: Clinical, mammographic, and sonographic findings with histopathological correlation. *AJR* 2002;178:1421-5
2. Ribeiro-Silva A, Luzzatto F, Chang D, Zucoloto S. Limitations of fine-needle aspiration cytology to diagnose metaplastic carcinoma of the breast. *Pathol Oncol Res* 2001; 7:298-300
3. Park JM, Han BK, Moon WK, Choe YH, Ahn SH, Gong G. Metaplastic carcinoma of the breast: mammographic and sonographic findings. *J. Clin Ultrasound* 2000; 28: 179-86
4. Patterson SK, Tworek JA, Roubidoux MA, Helvie MA, Oberman HA. Metaplastic carcinoma of the breast: mammographic appearance with pathologic correlation. *AJR* 1997; 169: 709-12
5. Greenberg D, McIntyre H, Bierre T. Metaplastic breast cancer. *Australas Radiol* 2004; 48: 243-7
6. Brenner RJ, Turner RR, Schiller V, Arndt RD, Giuliano A. Metaplastic carcinoma of the breast; report of three cases. *Cancer* 1998; 82: 1082-7
7. Evans HA, Shanghnessy EA, Nikiforov YE. Infiltrating ductal carcinoma of the breast with osseous metaplasia: imaging findings with pathologic correlation. *AJR* 1999; 172: 1420-2
8. American college of radiology. Breast imaging reporting and data system (BI-RADS), 4<sup>TH</sup> ED. Reston, VA: American college of radiology, 2003
9. Bellino R, Arisio R, D'Addato F, Attini R, Durando A, Danese S, Bertone E, Grio R, Massobrio M. Metaplastic breast carcinoma: pathology and clinical outcome. *Anticancer Res* 2003; 23: 669-73
10. Kuo SH, Chen CL, Huang CS, Cheng AL. Metaplastic carcinoma of the breast:analysis of eight asian patients with special emphasis on two unusual cases presenting with inflammatory-type breast cancer. *Anticancer Res* 2000; 20: 2219-22
11. Chao TC, Wang CS, Chen SC, Chen MF. Metaplastic carcinomas of the breast. *J Surg Oncol* 1999; 71: 220-5
12. Denley H, Pinder SE, Tan PH, Sim CS, Brown R, Barker T, Gearty CW, Ellis IO. Metaplastic carcinoma of the breast arising within complex sclerosing lesion: a report of five cases. *Histopathology* 2000; 36: 203-9
13. Rayson D, Adjei AA, Suman VJ, Wold LE, Ingle JN. Metaplastic breast cancer:prognosis and response to systemic therapy. *Ann Oncol*.1999; 10: 413-9

## Modern Brachytherapy

■ นายแพทย์อภิชาต พานิชรีวัลกย์

หน่วยรังสีรักษาและมะเร็งวิทยา

ภาควิชารังสีวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Brachytherapy has undergone dramatic evolution changes during the last several decades, being used in new ways, utilizing new isotopes and demonstrating improved outcomes with decreased toxicity profiles. Brachytherapy has rapidly become a popular and effective treatment intervention for prostate and breast cancer. Gynecological malignancy and head and neck tumors represent a classical site in which new brachytherapy techniques are evolving, promising to improve outcomes and enhance the accuracy of therapy. Whereas tumor assessment often remains based on clinical examination and various imaging methods, ongoing developments are successfully integrating 3D image based information into treatment planning systems. Cross-sectional images from CT-scan, ultrasound and MRI, taken within context of brachytherapy, can provide reliable and objective information on tumor topography, extension and configuration. These images allow a valid 3D delineation of critical organ, too. Accuracy delineation of tumor and critical organs enables individual adaptation of dose distribution which becomes more easily possible with implementation of stepping source

technology, either with high dose rate or pulse dose rate, or, to lesser extent, with low dose rate brachytherapy. The increasing availability of 3D images in brachytherapy will inevitably transform brachytherapy into more comprehensive conformal approach. As in most all tumors and organ at risk a dose effect relationship has been demonstrated, a more appropriate adaptation to defined volumes (gross tumor volume (GTV), clinical target volume (CTV), organ at risk (OAR) leads to improvement of therapeutic ratio and enables dose escalation which represents an exciting challenge for the future of brachytherapy. This potential benefit will likely be increased when additional use of metabolic imaging becomes more widespread. One of the major future issues is the analysis and exploitation of all material provided by the new information technologies. Dose volume histogram evaluation of GTV, CTV and OAR provides a large amount of data which require common concepts, definitions and terminology for appropriate use in both clinical practice and scientific discussion.

A comprehensive knowledge of normal and pathological radiological anatomy and

topography is a first step to better define different targets. Such knowledge limits inter-observer variation in volume delineation (GTV, CTV, OAR), which represents a crucial issue in brachytherapy, mostly because of the

steep dose gradient. A second step is to try to come to a consensus in concepts and terms for volume definition and for dose volume assessment, considering GTV, CTV, and organ at risk.

การรักษาโรคมะเร็งด้วยรังสีระยะประชิด หรือ Brachytherapy มีการพัฒนาอย่างมากในช่วงหลายครุยที่ผ่านมา โดยมีรูปแบบการพัฒนาไม่ว่าจะเป็นเทคนิคการรักษาแบบใหม่ หรือการใช้ชนิดสารกัมมันตภาพรังสีใหม่ ทำให้ผลการรักษา มีประสิทธิภาพมากขึ้น และผลข้างเคียงน้อยลง ในปัจจุบันการรักษาวิธีนี้ เป็นที่ยอมรับและได้ผล การรักษาที่ดีมากในโรคมะเร็งของต่อมลูกหมากและมะเร็งเต้านม นอกเหนือจากการรักษาในอดีต ในโรคมะเร็งทางนรีเวชและมะเร็งบริเวณศีรษะและลำคอ ซึ่งการรักษาวิธีทาง Brachytherapy ถือว่าเป็นวิธีสากล ที่มาตราฐานในปัจจุบันกีการพัฒนาอย่างมากเพื่อผล การรักษาที่ดีและถูกต้องยิ่งขึ้น

โดยปกติการประเมินก่อนลงทะเบียนมักจะใช้การตรวจร่างกายและภาพถ่ายเอกสารเรย์ ในปัจจุบัน มีการพัฒนาอย่างมากในการประมวลภาพสามมิติ มาใช้ในการวางแผนการรักษาไม่ว่าจะเป็นภาพตัดขวาง

像超音波 (ultrasound) หรือภาพจาก MRI ใน การช่วยวางแผนการรักษา ใน Brachytherapy ทำให้ได้ข้อมูลที่เชื่อถือได้ ของลักษณะรูปร่างและการลุกคามของก้อนมะเร็ง นอกจากนี้ยังประมาณภาพพื้นที่ของอวัยวะต่าง ๆ ที่สำคัญที่อยู่ใกล้เคียงได้ด้วย ซึ่งผู้รักษาสามารถทราบการกระจายและปริมาณรังสีที่ก้อนมะเร็ง และอวัยวะที่สำคัญข้างเคียงได้รับในรูปแบบของการวางแผนการรักษาแบบภาพแบบสามมิติ (conformal brachytherapy treatment planning) ดังนั้นความรู้เกี่ยวกับกายวิภาคทั้งปกติและผิดปกติของอวัยวะ จึงมีความจำเป็นอย่างมากเพื่อที่สามารถจะทราบขอบเขตหรือรูปร่างของก้อนมะเร็ง และอวัยวะที่สำคัญข้างเคียงที่ถูกต้อง เพื่อพิจารณาและตัดสินใจการรักษาด้วย Brachytherapy ให้ได้ผลการรักษาที่มีประสิทธิภาพสูงสุดโดยมีผลข้างเคียงน้อยที่สุดเท่ากัน



## The Efficacy of Conventional Radiation Therapy in The Management of Pituitary Adenoma

■ **Putipun Puatawepong, M.D.**

*Department of Radiology, Ramathibodi Hospital*

■ **Mantana Dhanachai, M.D.**

*Department of Radiology, Ramathibodi Hospital*

■ **Puangtong Kraiphibul, M.D.**

*Department of Radiology, Ramathibodi Hospital*

■ **Veerasak Theerapancharoen, M.D.**

*Department of Surgery, Faculty of Medicine,  
Ramathibodi Hospital, Mahidol University,  
Bangkok 10400, Thailand.*

■ **Lucksana Pochanugool, M.D.**

*Department of Radiology, Ramathibodi Hospital*

■ **Somjai Dangprasert, M.D.**

*Department of Radiology, Ramathibodi Hospital*

■ **Jiraporn Laothamatas, M.D.**

*Department of Radiology, Ramathibodi Hospital*

■ **Suchart Phudhichareonrat, M.D.**

*Department of Pathology, Prasart hospital,  
Bangkok 10400, Thailand.*

### ABSTRACT

#### **Objective:**

To evaluate the efficacy and late complication of conventional external beam radiation therapy (EBRT) in the management of patients with pituitary adenoma.

#### **Materials and Methods:**

The study involved a retrospective review of 22 patients with pituitary adenoma treated at the Radiotherapy Unit in Ramathibodi hospital during September 1990 to December 2000. Of these 22 patients, 21 had received postoperative radiotherapy, and 1 had received radiotherapy alone. The median total dose was 54 (46-60) Gy. After treatment the patient were evaluated periodically by physical examination, imaging, and endocrine testing. The local control rate, overall survival and side effects were analyzed.

#### **Result:**

Median follow-up time was 4.6 (0.6-9.7) years. Tumor control was achieved in 21 patients (95%). In 1 patient, recurrence of disease was diagnosed 6 years after radiotherapy and was salvaged by surgery. There were 2 deaths, 1 from CA head of pancreas and another from CVA. The 10 year overall survival rate was 91%. Hypopituitarism requiring hormonal replacement was observed in 55% of the patients and all except one had hypopituitarism since prior to radiation. In 1 patient receiving radiation alone, hypopituitarism was developed and hormonal replacement was started at 6 months after radiation. There was no brain necrosis, optic neuropathy or radiation induce secondary tumor in this study.

#### **Conclusion:**

Conventional external radiotherapy was effective in long-term control of the pituitary adenoma and produced acceptably low complication rates.

**Key word:** Pituitary adenoma, Radiotherapy



## INTRODUCTION

Pituitary adenomas are the most common neoplasm near the sella and comprise about 10- 15 % of primary intracranial tumor in the neurosurgical series. However, reports of the frequency of the pituitary neoplasm vary greatly by the type of epidemiologic survey methods used. Population studies such as that by Annegers and associations<sup>(1)</sup> reported an increasing incidence of pituitary adenomas, from 8.2 to 14.7 per 100,000 populations in women. There was a high prevalence of pituitary adenomas as noted in radiologic and autopsy series. Most were asymptomatic and remained undetected. Faglia<sup>(2)</sup> estimated that only 1 in 5000 pituitary adenomas became symptomatic. These data suggested that pituitary adenomas developed fairly commonly but for the most part they were asymptomatic and did not cause clinical, endocrine, or neurologic dysfunctions. From Ramathibodi Cancer Registry 2001<sup>(3)</sup>, there were 4 and 14 new male and female cases.

The aim of treatment of pituitary adenoma included removal or destruction of the tumor, control of hypersecretion, reversal of functional deficits (such as visual disturbance), and prevention of recurrence. Ideally, these treatment aims should be achieved with minimal damage to surrounding normal tissue, and with preservation of anterior pituitary function. There were many therapeutic options including surgery, radiotherapy, and medical treatment. Radiation therapy was selectively used as post-operative treatment after subtotal removal of

the pituitary adenoma, in recurrent tumor after surgical treatment, and as primary treatment when surgery was contraindicated or when macro adenoma was inoperable.

In Ramathibodi hospital, there were various radiation techniques in treating pituitary adenoma including the use of conventional external beam radiation (EBRT), 3-dimension conformal radiotherapy (3D-CRT), and stereotactic radiosurgery (SRS) or stereotactic radiotherapy (SRT). Recently the SRS/SRT has been used in the treatment of selected patients with pituitary adenoma. An advantage of 3D-CRT, SRS, or SRT over conventional EBRT was that these techniques might minimize the dose of radiation to the adjacent normal tissue with the possibility of increasing the dose to the tumor, but at the expense of more resources. This study was conducted to assess the efficacy and complications of conventional radiation therapy. If conventional radiation therapy was effective and safe, it might be more cost-effective compared with the advance techniques.

The purpose of this study was to evaluate the local control, overall survival, and late complication rates of conventional external radiation in the management of pituitary adenoma.

## MATERIALS AND METHODS

Hospital charts and radiotherapy records of patients with a pathologically-confirmed pituitary adenoma treated with conventional EBRT in Ramathibodi hospital during

September 1990 to December 2000 were reviewed retrospectively. For patients who did not come for follow up, the data was obtained from the interview of the patients or the patients relatives by telephone.

Conventional EBRT was given by the Linac system (6 or 10 MV CLINAC 2100C, Varian Medical system, Palo Alto, CA, USA) or by the Cobalt 60 system (Theratron 780C, Atomic Energy of Canada Limited, Ottawa, Canada). Radiation techniques varied among physicians and the patients's status.

### Statistical Consideration

Epidata version 2.0 program was used for data entry. STATA software version 7.0 was used for survival analysis.

Discrete variables were described by proportions and continuous variables were described by mean, standard deviation, or median where appropriate.

Overall survival and the local control rate was determined by Kaplan and Meier method reference. Log-rank test was used to assess the statistical significance of specific patient subsets ( $p < 0.05$ ).

The late complication rates were described by proportions (%).

## RESULTS

### *General Information*

From September 1990 to December 2000, 148 pituitary adenoma patients attended Ramathibodi hospital, 22 patients were treated with radiation therapy. Baseline characteristics

of 22 patients were detailed in table 1. The median follow up time was 4.6 (0.6-9.7) years. Only 1 patient was lost to follow-up at 10 months with no recurrence or complication detected at the time of last follow-up. There were 14 female patients (64%) and 8 male patients (36%). The median age was 37.5 (16-66) years. Endocrinological test revealed that 11 patients (50%) had secreting adenomas (2 had growth-hormone-secreting adenomas, 6 had prolactinomas, and 3 had cortisol secreting adenoma). Presenting symptoms included visual disturbance in 15 (53%) and hormonal disturbance in 5 patients (17%) , 2 had acromegaly, 2 had Cushing's disease and 1 had Nelson's syndrome. Pituitary adenoma was found incidentally in 1 patient (3%).

Treatment consisted of surgery, radiotherapy and medication Table 2 showed details of treatment according to the tumor type. Post-operative radiotherapy was given to 21 patients (95%), 17 patients (80%) received postoperative RT immediately after the first partial tumor removal, 2 patients(10%) were irradiated after repeated second surgery and 2 patients(10%) were irradiated after the third surgery. One patient (5%) who was poor surgical candidate underwent radiotherapy alone. Surgical technique involved a transphenoidal approach in 11 patients (50%) and a craniotomy approach in 10 patients (45%) . Five of 6 patients with prolactinoma underwent bromocriptine therapy in 1 patient the drug was not continued due to gastrointestinal side effects.

Characteristic	Patient (n=22) N (%)
Gender	
Male	8 (36)
Female	14(64)
Age : median (range)	37.5 (16-66)
Histology	
Adenoma, unclassified	22 (100)
Performance status	
100	2 (9)
90	16 (73)
80	4 (18)
Type of tumor	
Nonsecreting adenoma	11 (50)
Growth hormone secreting	2 (9)
Prolactin secreting	6 (27)
ACTH secreting	3 (14)
Presenting symptom	
Visual disturbance	15 (53)
Headache	7 (24)
Hormonal disturbance	5 (17)
Incidental finding	1 (3)
Any mass effect	1 (3)

All patients were treated with conventional external radiotherapy (1.8-2 Gy/fraction, 5 fractions consecutively per week). Radiation therapy took 5-19 weeks (median = 7 weeks). Radiation machine varied, with cobalt 60 in 2 patients (9%), 6-MV X-ray in 5 patients (23%) and 10MV X-ray in 15 patients (68%). As for radiation technique, 9 patients (41%) were treated with bilateral irradiation and 13 patients (59%) were treated with 3-field technique. The median tumor dose was 54 (46-60) Gy in 30 (23-33) fractions. In one patient treated with radiotherapy alone dose 60 Gy was given.

**Table 1.** Baseline characteristic of patients with pituitary adenoma

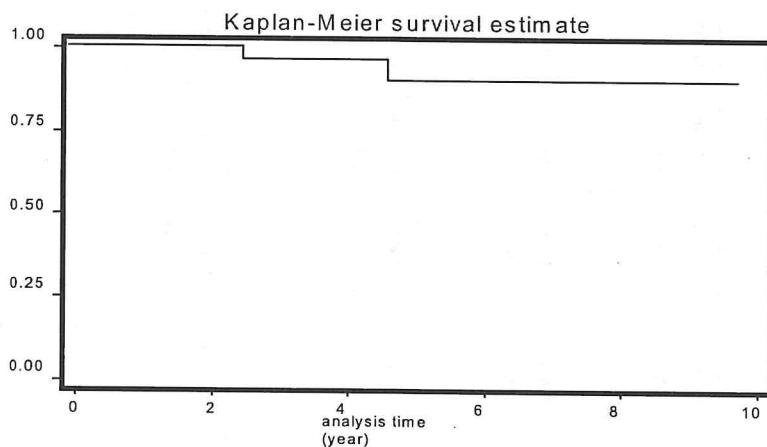
Treatment	Patients(n=22)	Patients with nonsecreting adenoma (n=11)	Patient with secreting adenoma (n=11)		
			Growth hormone Adenoma (n=2)	Prolactinoma (n=6)	Cushing's disease(n=3)
<b>Surgical procedure</b>					
Craniotomy	10	6	1	4	
Transphenoidal	11	4	1	2	3
<b>Number of surgery</b>					
1	17	9	2	5	2
2	2	1		1	
3	2	1			1
<b>Extension of surgery</b>					
Partial surgery	21	11	2	6	3
<b>Postoperative RT</b>	21	10	2	6	3
<b>RT alone</b>	1	1			
<b>Bromocriptine</b>	5			5	

**Table 2.** Detail of treatment according to type of tumor

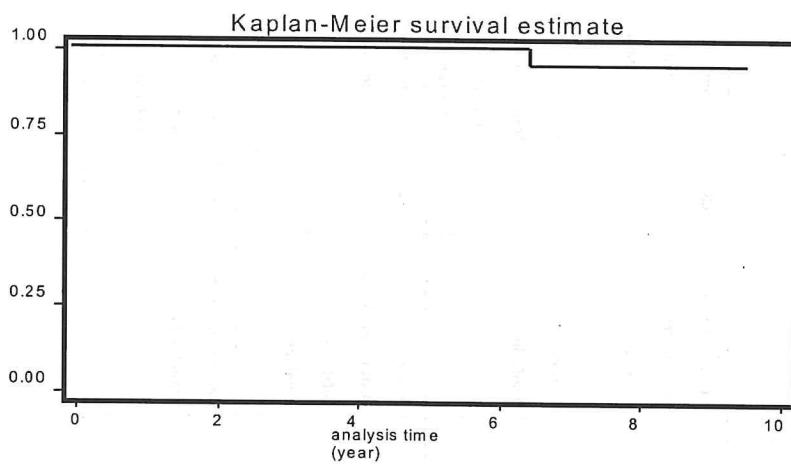
## Overall Survival

The 10-year overall survival was 91% (Fig 1) there are 2 deaths, 1 from cerebrovascular accident and another from CA head

of pancreas. No patient died because of tumor progression. The detail of the 2 patients was shown in table 3.



**Fig 1.** Overall survival for the 22 patients with pituitary adenoma



**Fig 2.** The tumor control rate for the 22 patients with pituitary adenoma

## Local Control Rate

Figure 2 showed the local control rate. There was 1 tumor recurrence from 22 cases. The local control was achieved in 95%. The time to recurrence was 6 years after radiation and was salvaged by surgery. The tumor was still controlled at the last follow up (24 months

after salvage surgery). In 1 patient who received RT alone tumor control was achieved with no complication after RT. The details of 1 patient with recurrence and 1 patient who received RT alone was shown in table 3.

Condition	Type Of tumor	Sex	Age (yr)	Presenting Symptom	Vol (ml)	Treatment before RT	RT treatment	Machine	RT technique	Dose (Gy)	Time to death or recurrence after RT	Comment
Death	1. Non-function adenoma	M	57	Visual disturbance With blurred vision of left eye	16.8	1 <sup>st</sup> Craniotomy with partial tumor removal	Postop-RT	Linac 10X	2-lateral opposing	60 Gy in 30 F	32 months	Death from Pontine hemorrhage
	2. Prolactinoma	F	60	Chronic headache	8	1 <sup>st</sup> transphenoidal with partial tumor removal	Postop-RT	Linac 10X	3-field technique	50.4 Gy in 28 F	43 months	Death from CA head of pancreas
Recurrence	1. Non function adenoma	F	66	Visual disturbance with bilateral hemianopia	18.2	1 <sup>st</sup> Craniotomy 2 <sup>nd</sup> transphenoid approach	Postop-RT	Linac 10X	3-field technique	46 Gy in 23 F	6 years	Received salvage surgery at 5 months after recurrence
RT alone	1. Non function adenoma	M	66	Incidental finding from CT brain	3.8	No previous surgery due to underlying ischemic heart	RT alone	Linac 10X	3-field technique	60 Gy in 30 F	F/U 5.6 years with no tumor progression	Developed hypopituitarism at 6 months after RT

Table 3. Details of the patient who died, recurrence and received RT alone in this study

### Analysis of Endocrine Response

Among the 11 patients with secreting adenomas (2 GH, 6 PRL and 3 cortisol secreting tumor), the response of GH, prolactin and cortisol level was displayed in Fig 3, 4 and 5. The hormonal level was obtained intermittently in most patients, so the time to normalization probably did not reflect the true history of the tumor. The 3-year hormonal control were achieved in 8 patients (72%) and 10-year hormonal control was 100%. Serum GH and cortisol levels were normalized in 3 years after radiation and nobody recurred since normalization. Six patients had hyperprolactinemia and 5 received bromocriptine following RT. In 1 patient bromocriptine was not used due to gastrointestinal side effects. Serum prolactin level achieved normalization over a period of 3 to 7 years. One patient recurred after 7 years because of the tapering of bromocriptine.

### Complications of Treatment

Acute toxicity of radiation therapy was minor. No patient had deterioration during or after RT. Transient side effects consisted mild skin reaction, temporal hair loss, and otitis media in a few patients.

For patients treated by surgery and post-operative radiation, long term hormonal effect were noted in 57% (11 of 21 patients). In these 11 patients hypopituitarism developed due to surgery prior to radiation. All of these patients required hormonal supplement. In 1 patient who received radiation alone, hypopituitarism developed and the patient received hormonal replacement at 6 months after radiation. No significant differences in the incidence of hypopituitarism across various dose range in the post-operative radiotherapy group was observed ( $p>0.05$ ). No other late complication or second tumor was noted in this study.

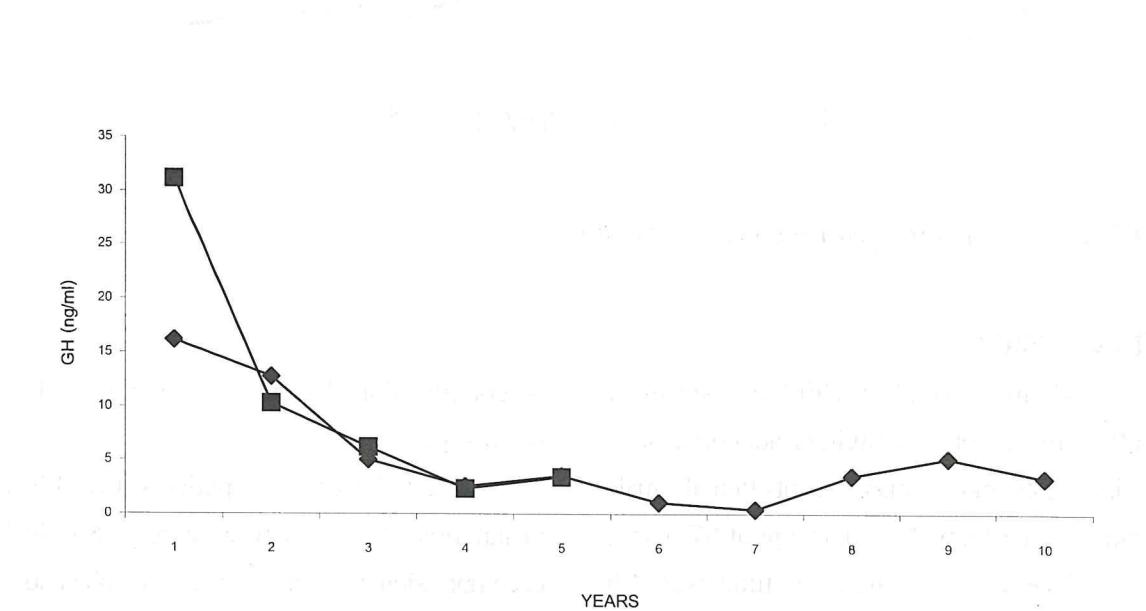


Fig 3. The response of GH level to radiation

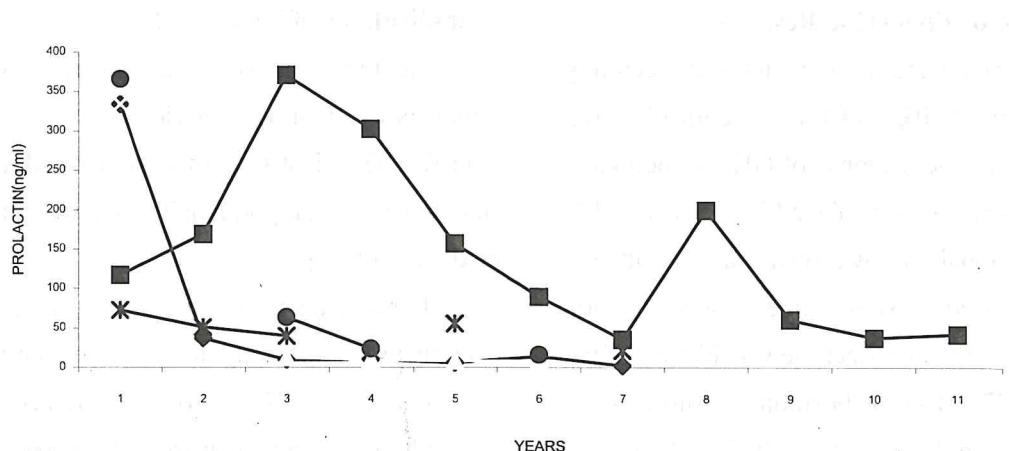


Fig 4. The response of hyperprolactinemia to radiation

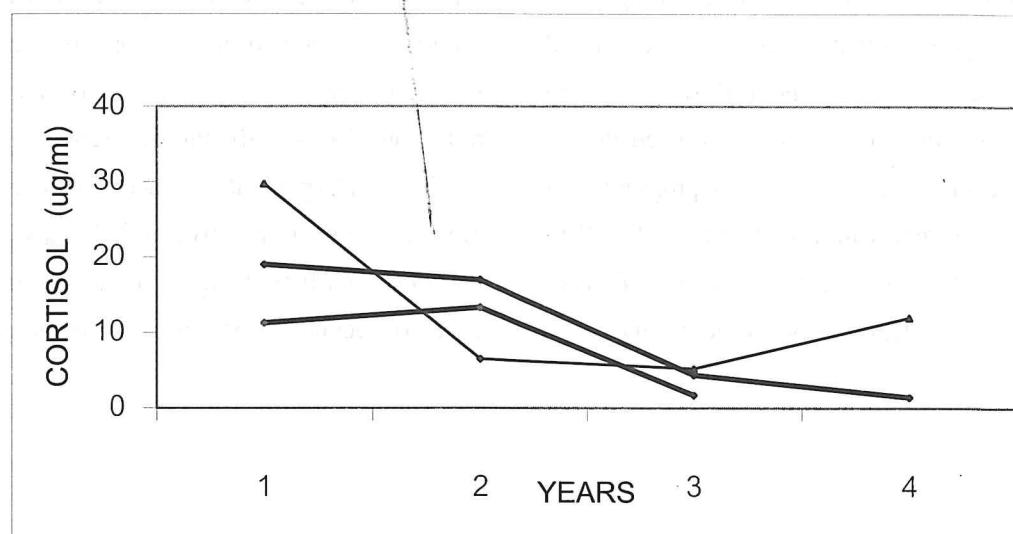


Fig 5. The response of cortisol level to radiation

## DISCUSSION

From September 1990 to December 2000, there were 22 pituitary adenoma cases with slightly more female patients (female: male ratio = 1.75:1), with median age of 37.5 yr.

The median follow up time was 4.6 (0.6-9.7) years. Only 1 patient was lost to follow-up at 10 months with no recurrence

or complication detected at the time of last follow-up.

The majority of our patients (68%) had visual field defects before surgery. Surgical decompression, preferably via a trans-sphenoidal approach, was the most effective way to restore vision. However, residual disease was often

present after tumor removal. Therefore, these patients were at a significant risk for tumor regrowth if no further therapy was given. Patients treated with surgery alone had been documented to have recurrence rates ranging from 21%-86%<sup>(4)</sup>.

Series of patients who received post-operative RT had reported a local tumor control rate of 85-90% at 10 years<sup>(5-10)</sup>. Grigsby *et al*<sup>(8)</sup> showed a 89% local control rate in 121 patients, Flickinger *et al*<sup>(7)</sup> reported a 89% local control rate in 112 patients, McCollough *et al*<sup>(9)</sup> documented a 92% local control rate in 76 patients, all treated with surgery and post-operative RT and Sasaki *et al*<sup>(11)</sup> concluded that conventional radiotherapy with 50 Gy was safe and 10- year local control rates were 98%, 85%, 83% and 67% for non-secreting adenoma, growth hormone secreting, prolactinoma, and cushing's disease.

The postoperative radiotherapy group in our series consisted predominantly of patients with macroadenoma and extrasellar extension and the majority presenting with mass effects. The local control (with salvage surgery) and overall survival in this group was 95% and 91% , which was rather similar to the results of other series. In the literature review, several investigators had documented a dose-response relationship between radiation dose and tumor control<sup>(8,9,11,12,13)</sup>. Grigbys *et al*<sup>(8)</sup> analyzed the dose-response data and founded that the most consequential and the only statistically significant prognostic factor for recurrence was irradiation dose. Analysis data revealed

increasing control rate for patients receiving dose from < 30 Gy to 54 Gy. Sasaki *et al*<sup>(11)</sup> believed that high total radiation doses may contributed to the better local control, in their series, all patients received more than 60 Gy dose of radiation. In our series the median dose of radiation was 54 Gy (46-60 Gy). In 1 patient who had recurrence after postoperative RT it was found that she received 46 Gy of radiation. The lower dose of radiation in this patient might be one reason for recurrence.

Radiotherapy can control endocrine hypersecretion. In our series, all 5 patients who had symptoms caused by endocrine hypersecretion showed improvement in symptoms after radiation. The 3- year hormonal control were achieved in 8 patients (72%) and 10- year hormonal control was 100%. We did not see clear-cut difference in functional response between the different tumor types, probably due to the low number of cases. In the literature review, rate of normalization of serum GH level ranged from 69% to 100%<sup>(14-16)</sup>, and prolactin levels ranged from 12%-50%<sup>(17-18)</sup> but in our study, hormonal levels were obtained intermittently in most patients, so the time to normalization in them probably did not reflect the true history of their tumors.

Because of better results achieved with combined treatment, radiotherapy as a primary and sole treatment is rarely indicated. However, radiotherapy as primary treatment for inoperable macroadenomas and for patients who refused or were unsuitable for surgery without

visual symptoms was widely accepted<sup>(21)</sup>. The status of visual fields at diagnosis seemed to be important<sup>(22)</sup>. Grigsby showed in 70 patients who received radiotherapy alone that response was better without visual field defect<sup>(23)</sup>. In our study, we had only 1 patient, who was unsuitable for surgery, treated with radiation therapy alone. The tumor control was achieved with no visual disturbance in this patient.

There were relatively few reports concerning prognostic factors in pituitary adenoma. Grigsby *et al*<sup>(8)</sup> reported that the total radiation dose was the only significant factor, and that age, gender, tumor bulk, visual field symptoms, disease type, and surgical approach were not of prognostic significance. Tsang *et al*<sup>(12)</sup> founded age and field size were significant prognostic factors. In our study, the univariate analysis of patient who had recurrence after postoperative RT did not show any significant association between the prognostic factor and tumor recurrence. When analysis in 1 patient, who had recurrence, we founded that she received 46 Gy of radiation. The lower dose of radiation may be one reason for recurrence.

In regard to toxicity, we had documented a moderate risk of therapy induced hypopituitarism. This probably reflected the fact that many of our patients had large tumors resulting in compromised anterior pituitary function or demanding an aggressive surgical approach. Treatment related hypopituitarism was reported in 34% of radiotherapy alone and 74% of postoperative radiotherapy patients<sup>(8,21)</sup>.

The rate of therapy induced hypopituitarism in our series was about 55%, comparable to that reported by Snyder *et al*<sup>(21)</sup>. In our series, hormonal replacement was required for most patients. Significant complications of treatment other than hypopituitarism was rare with modern radiotherapy treatment. There was no case of radiation-induced optic neuropathy, brain necrosis or secondary tumor in our study.

There were 2 deaths, 1 from CVA and another from CA head of pancreas. Brada *et al*<sup>(24)</sup> founded that patients with pituitary adenoma treated with surgery and postoperative radiation had a significant increased risk in CVA comparison to the general population. The relative risk of CVA compared to the general population in the UK was 4.1. Radiotherapy was probably implicated in our 1 patient developing cerebrovascular accident. In another patient who died from CA head of pancreas it was suspected to be the multiple endocrine neoplasia type I (MEN-1) syndrome. This syndrome had an autosomal dominant condition characterized by the development of tumors of the pituitary gland, parathyroid glands, and pancreatic islet cell<sup>(26)</sup>.

## CONCLUSION

Conventional external radiotherapy for pituitary adenomas was effective in long term control in the postoperative radiotherapy group and the radiotherapy alone, the local control rate was satisfactory and the incidence of side effects was low.



## REFERENCES

1. Annegers JW, Coulam CB, Abboud CF, et al. Pituitary adenoma in Olmsted County, Minnesota, 1965-1977. *Mayo Clin Proc* 1978; 53: 641-643.
2. Faglia G. Epidemiology and pathogenesis of pituitary adenoma. *Acta Endocrinol* 1993; 129(supple): 1-5.3. Annual report 2001: Ramathibodi cancer registry.
4. Comtois R, Beauregare H, Somma M, Serri O, Arisjilwan N, Hardy J. The clinical and endocrine outcome to transphenoidal microsurgery of non-secreting pituitary adenomas. *Cancer* 1991; 68: 860-866.
5. Chun M, Masko GB, Hetelekidis S. Radiotherapy in the treatment of pituitary adenomas. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1988; 15: 305-309.
6. Erlichman C, Meakin JW, Simpson WJ. Review of 154 patients with nonfunctioning pituitary tumors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1979; 1981-1986.
7. Flickinger JC, Nelson PB, Martinwz AJ, Deutsch M, Taylor F. Radiotherapy of nonfunctional adenomas of the pituitary gland. Result with long-term follow-up. *Cancer* 1989; 63: 2409-2414.
8. Grigsby PW, Simpson JR, Emami BN, Fineberg BB, Schwartz HG. Prognostic factors and results of surgery and postoperative irradiation in the management of pituitary adenomas. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1989; 16: 1411-1417.
9. McCollough WM, Marcus RB, Rhoton AL, Ballinger WL, Million RR. Long-term follow up of radiotherapy for pituitary adenoma. The absence of late recurrence after 45 Gy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1991; 21: 607-614.
10. Tran LM, Blount L, Horton D, Sadeghi A, Parker RG. Radiation therapy of pituitary tumors: Results in 95 cases. *Am J Clin Oncol* 1991; 14:25-29.
11. Sasaki R, Murakami M, Okamoto Y, et al. The efficacy of conventional radiation therapy in the management of pituitary adenoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2000; 47: 1337-1345.
12. Tsang RW, Bierley JD, Panzarella T, et al. Radiation therapy for pituitary adenoma: Treatment outcome and prognostic factor. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1994; 30: 557-565.
13. Zierhut D, Flebtje M, Adolph A, et al. External radiotherapy of pituitary adenomas. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1995; 33: 307-314.
14. Eastman RC, Golden P, Roth J. Convention irradiation is an effective treatment for acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab* 1979; 48: 931-940.
15. Roth J, Gorden P, Brace K. Efficacy of conventional pituitary irradiation in acromegaly. *N Engl J Med* 1970; 282:1885-1891.
16. Lawrence AM, Pinsky SM, Goldfine ID, et al. Conventional radiation therapy in acromegaly. *Arch Intern Med* 1971; 128:369-377.
17. Grossman A, Cohen BL, et al. Treatment of prolactinoma with megavoltage radiotherapy. *Br Med J* 1984;288; 1105-1109.
18. Tsagarakis S, Grossman A, Plowman PN, et al. Megavoltage pituitary irradiation in the mangement of prolactionmas. Long-term follow-up. *Clin Endo crinol* 1991; 34:399-406.
19. Jennings AS, Liddle GW, Orth DN. Results of treating childhood Cushing's disease with pituitary irradiation. *N Engl J Med* 1977; 297:957-962.
20. Orth DN, Liddle GW. Result of treatment 108 patients with Cushing's syndrome. *N Engl J Med* 1971; 285:243-247.
21. Snyder PJ, Fowble BF, Schatz NJ, Savino PJ, Gennarelli TA. Hypopituitarism following radiation therapy of pituitary adenoma. *Am J Med* 1986; 81:457-462.
22. Shelin GE. Conventional radiotherapy in the treatment of pituitary tumor. In: Tindall GT, Collins WF eds. *Clinical management of pituitary adenoma*. New York: Raven Press; 1979:287-314.
23. Grigsby PW, Thomas PR, Simpson JR, Fineberg BB. Long-term results of radiotherapy in the treatment of pituitary adenomas in children and adolescent. *Am J Clin Oncol* 1988; 15:1103-1110.
24. Brada M, Burchell L, Ashley S, Traish D. The incidence of cerebrovascular accidents in patients with pituitary adenoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1999; 45: 693-698.
25. Hughes, MN, Lamas KJ, Yelland ME, Tripcony LB. Pituitary adenomas: Long term results for radiotherapy alone and post-operative radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1993; 27:1035-1043.
26. Stieber VW, Deguzman A, Shaw EG. Pituitary. In : Perez CA, Brady LW, Halperin EC, Schmidt-ullrich RP. Eds. *Principles and practice of radiation oncology*. 4<sup>th</sup>ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 2004:839-859.

## Chemoradiotherapy in Patients with Locally Advanced Nasopharyngeal Cancer

■ Ekkasit Tharavichitkul, M.D.

*Department of Radiology,  
Chiang Mai University, Chiang Mai*

■ Imjai Chitapanaraux, M.D.

*Department of Radiology,  
Chiang Mai University, Chiang Mai*

■ Nantaka Pukhanphan, B.Sc.

*Department of Radiology,  
Chiang Mai University, Chiang Mai*

### ABSTRACT

#### **Objective:**

To evaluate efficacy of concurrent chemoradiation between cisplatin and carboplatin in nasopharyngeal carcinoma.

#### **Method:**

151 patients were enrolled in this study. They were randomized to treat with concurrent chemo-radiation in two arms; arm I: cisplatin 100 mg/m<sup>2</sup> concurrent in day 1, 22, 43 of radiation therapy 70Gy and adjuvant cisplatin 80 mg/m<sup>2</sup> + 5-FU 1000 mg/m<sup>2</sup> continuous infusion in 4 day monthly for 3 cycles, arm II: carboplatin 100 mg/m<sup>2</sup> weekly concurrent with radiation therapy 70Gy and adjuvant chemotherapy carboplatin AUC5 + 5-FU 1000 mg/m<sup>2</sup> continuous infusion in 4 day for 3 cycles monthly. Overall survival and disease-free survival rate were evaluated by Kaplan-Meier method.

#### **Result:**

At median time of follow up 24.5 months (range 3 to 60). Seventy-one patients (47.0%) and Eighty patients (53.0%) were randomized in arm I and II, respectively. The Median age of patients was 49 years (range 16 to 70). The 3-yr disease-free survival were 68.7% in arm I and 65.1% in arm II ( $p=0.9$ ). Carboplatin had lower nephrotoxicity than cisplatin but higher hematologic toxicity especially thrombocytopenia.

#### **Conclusion:**

The results of two arms is not significant in term of disease-free survival and overall survival. Carboplatin has lower toxicity than cisplatin.

## INTRODUCTION

The Intergroup study 0099, the first randomized study that reported a survival benefit with the addition of chemotherapy to RT in nasopharyngeal carcinoma<sup>(1)</sup>. In that study, a significant difference in the 3-yr survival rates was observed, favoring the CRT arm (76% vs. 46%) ( $p < 0.001$ ) with fewer locoregional failures and distant metastases in the study arm. The progression-free survival rate was 24% in the radiotherapy arm versus 69% in the chemoradiotherapy arm ( $p < 0.01$ )

Unfortunately, there are some patients who suffered from toxicities of cisplatin, for example; Nephrotoxicity, severe emesis, and ototoxicity<sup>(2)</sup>.

Carboplatin, another platinum-analogue, has been shown to have similar radiosensitizing properties to those of cisplatin and it is typically associated with less renal and gastrointestinal toxicities<sup>(3-7)</sup>.

The study of carboplatin in advanced head and neck cancers indicated that the dose of 100 mg/m<sup>2</sup>/week of carboplatin was reasonably well tolerated and all treatment could be given without significant delays or dosage reduction<sup>(8)</sup>.

K. Tsuchiya et al. reported in ASCO 2003 (abstract) in result of cisplatin vs. carboplatin in concomitant chemoradiotherapy for head and neck cancers. One hundred and twenty-six patients were included in protocol. In median follow up of 34 months, there was no statistically significant difference in both 4-yr overall survival (64% vs. 64%) and disease-free survival rates (73% vs. 75%) between the two

arms. However, 4-year local control rates were statistically different between the two arms: 31% for CDDP and 0.54 for CBCDA ( $p = 0.0145$ , log-rank test). Concomitant chemoradiotherapy with weekly CBCDA gives a better local control rate for laryngeal carcinoma than that with low dose daily CDDP especially for supraglottic carcinoma in their protocol setting (31% vs. 68%,  $p = 0.0027$ )<sup>(9)</sup>. So we conducted trial to compare efficacy of carboplatin with cisplatin in locally advanced nasopharyngeal cancer.

## OBJECTIVE

- To compare the efficacy of carboplatin with cisplatin in locally advanced nasopharyngeal carcinoma in term of disease-free survival (DFS).
- To assess overall survival (OS), toxicity and compliance rate of the two chemotherapy regimen in locally advanced nasopharyngeal cancer.

## MATERIALS AND METHODS

### *Eligibility criteria*

- Age 16- 70 years
- Biopsy proven nasopharyngeal carcinoma: WHO type II or type III
- Locally advanced (T2a or more) and /or regionally advanced (N1) by AJCC 5<sup>th</sup> edition (see Appendix 1)
- Multiple lymphadenopathies or single lymphadenopathy size  $> 3$  cm
- No evidence of systemic metastasis

- ECOG status 0-2 ( see Appendix A)
- Adequate bone marrow, renal and liver function
- Able to follow up

#### *Exclusion criteria*

- Prior treatment with chemotherapy and/or radiotherapy
- Poor performance status
- Have any serious intercurrent disease, active uncontrolled infection
- Have evidence of distant metastasis

#### **Treatment scheme:**

##### *Chemotherapy schedule:*

Patients were randomized to

Arm I: Cisplatin 100mg/m<sup>2</sup> at day 1, 22, 43 concurrent with Radiotherapy then adjuvant cisplatin 80 mg/m<sup>2</sup> on day 71, 99, 127 plus 5-FU infusion 1000 mg/m<sup>2</sup> on day 71-74, 99-102, 127-130

Arm II : Carboplatin 100 mg/m<sup>2</sup> at day 1, 8, 15, 22, 19, 36 concurrent with Radiotherapy then adjuvant carboplatin at AUC 5 on day 71, 99, 127 plus 5-FU infusion 1000 mg/m<sup>2</sup> on day 71-74, 99-102, 127-130

##### *Follow up after completion of therapy*

- ECOG performance status and clinical examination at 3-4 months interval for the first 2 years, 6 months interval for the 3-5 years.
- Time of disease progression and site of disease progression must be recorded.

- Record late toxicity using RTOG/EORTC (see Appendix C) toxicity criteria.

#### **Statistical analysis**

- The intent-to-treat patients was all eligible patients who was included in this study
- Treatment response, disease-free survival and overall survival was evaluated by Kaplan-Meier methods<sup>(10)</sup>.
- The significant of difference between the survival curve was calculated by using the log-rank test and a P-value of < 0.05 (statistically significant)<sup>(11)</sup>.
- Late effects were recorded if they occurred or persisted for more than 6 months after complete chemo-radiation and were graded by RTOG/EORTC criteria.

#### **RESULTS**

From August 1999 to January 2003, 151 patients were enrolled in this study. The detail of patient characteristics were listed in Table 1. Patients who were treated with chemoradiotherapy were averaged 44 years (range 16 to 69) in cisplatin arm and 50 years (range 16 to 70) in carboplatin arm. Eight patients were excluded from treatment due to reject treatment during radiation therapy. Then 143 patients can be evaluated. 67.5% were male. 27.8% had WHO II, 72.2% had WHO III.

Characteristic	Cisplatin	Carboplatin
Total patients	71 (41.0%)	80 (53.0%)
Median age	44 (16-69)	50 (16-70)
Sex		
Male	43	59
Female	28	21
ECOG		
0	43	54
1	27	26
2	1	0
T stage		
T1	7	25
T2a	9	4
T2b	13	17
T3	16	6
T4	26	28
N stage		
N0	12	13
N1	25	21
N2	20	21
N3a	6	15
N3b	8	10

**Table 1.** Patients characteristic (N = 151)**Efficacy:**

After completion of concurrent chemoradiation and adjuvant chemotherapy the median follow-up was 24.4 months (range : 3 to 60).

- 100 Patients had no evidence of disease at the point of analysis (cisplatin arm : 46 (70.8%), carboplatin arm: 54 (69.2%))
- 20 Patients died during follow up (cisplatin arm: 9 (13.8%), carboplatin arm: 11 (14.1%))
- 10 Patients had local recurrence (cisplatin arm: 2 (3.1%), carboplatin arm: 8 (10.3%))
- 15 Patients had distant metastasis (cisplatin arm: 7 (10.8%), carboplatin arm : 8 (10.3%))
- One patient in cisplatin arm died during radiation therapy due to side effect (severe mucositis and fatigue).

**Treatment time:**

- 143 patients received protocol specified radiation dose of tumor at 70Gy.
- the median treatment time 49 days (range 45 to 85).
- in cisplatin arm 50 day.
- in carboplatin arm 49 day.

**Toxicity and compliance****ACUTE TOXICITY****In cisplatin arm:**

The most common non-hematologic toxicities in patients receiving chemoradiotherapy were mucositis and emesis. One patients (1.5%) had grade 3 mucositis and 18 patients (27.7%) had grade 2 emesis. Three patients (4.6%) had

grade 3-4 nephrotoxicity. Two hematologic toxicity emerged in cisplatin arm. There was 1 patient (1.5%) developing grade 3 leukopenia. No grade 3-4 thrombocytopenia occurred. Grade 3-4 anemia was shown in 6 patients (9.2%).

#### ***In carboplatin arm:***

Non-hematologic toxicities in patients receiving chemoradiotherapy were mucositis and emesis. There was 3 patients (3.8%) experiencing grade 3 mucositis. No patients had grade 3-4 nephrotoxicity. Grade 2 nausea/vomiting was 14.1% in this arm. Grade 3 leukopenia was found in 5 patients (6.4%). Grade 3-4 thrombocytopenia was occurred in 3 patients (3.9%). Two patients (2.6%) developed grade 3 anemia.

#### **Late toxicity**

In cisplatin arm : Grade 3-4 skin complication had not found. One patients (1.3%) developed grade 3-4 xerostomia. No patients developed grade 3 skin fibrosis. Two patients (3.1%) experienced grade 3 subcutaneous complication. No patient had grade 3-4 laryngeal toxicity. Two patients (3.1%) had grade 2 pharyngeal complication.

In carboplatin arm : Grade 3-4 skin complication were not found. No patients developed grade 3-4 xerostomia. One patients developed grade 3-4 skin fibrosis. One patients (1.3%) experienced grade 3 subcutaneous complication. No patient developed grade 3-4 laryngeal toxicity. No one had grade 3-4 pharyngeal complication.

#### **Compliance**

During concurrent chemoradiation course

- 38 patients (58.5%) completed 3 courses of treatment in cisplatin arm.
- 60 patients (76.9%) completed 6 courses of treatment in carboplatin arm.

During adjuvant chemotherapy course

- 21 patients (32.3%) complete 3 courses of treatment in cisplatin arm.
- 51 patients (65.4%) complete 3 courses of treatment in carboplatin arm.

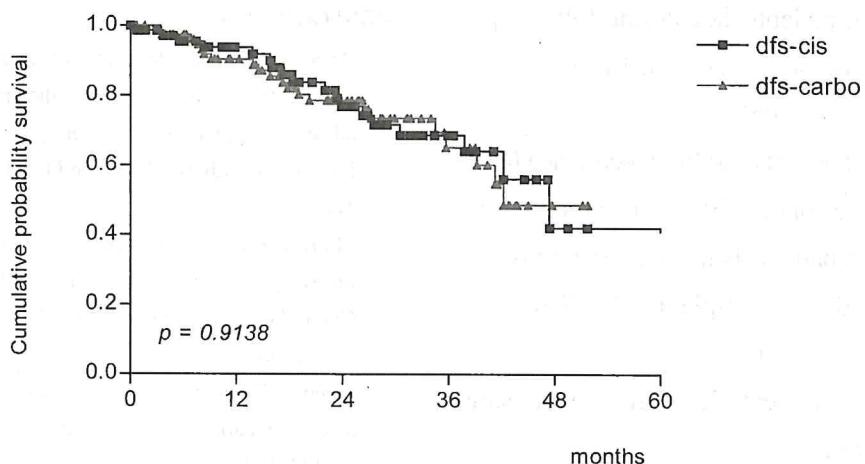
In concurrent chemoradiotherapy course: many patients could not completed treatment because of nephrotoxicity causing delayed chemotherapy schedule.

In adjuvant course: patients could not finished treatment due to nephrotoxicity and loss follow up.

When we considered patients who finished all treatment scheme, we found 72 patients could completed. There were 21 patients (32.3%) in cisplatin arm and 51 patients (65.3%) in carboplatin arm.

#### **Disease-free survival**

In all patients, the 3-year intent- to-treat disease free survival rate were 63.9% in cisplatin arm versus 69.4% in carboplatin arm ( $p=0.91$ ).

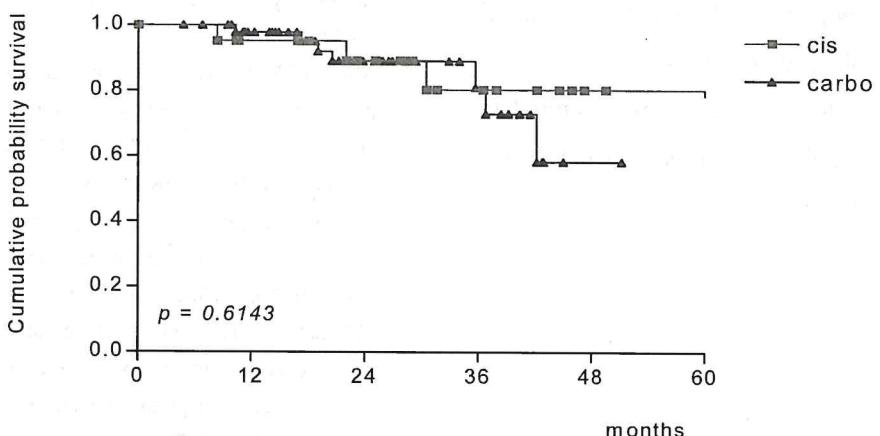


### Overall survival

In all patients, the 3-year intent-to-treat overall survival rate were 78.6% in cisplatin arm and 80.6% in carboplatin arm ( $p = 0.96$ )

Seventy-two patients could complete all schedules of treatment (21 patients (32.3%) in cisplatin arm and 51 patients (65.3%) in

carboplatin arm). The 3-year disease free survival were 73.7% in cisplatin arm and 65.3% in carboplatin arm ( $p = 0.27$ ). The 3-year overall survival were 80.7% in cisplatin arm and 81% in carboplatin arm ( $p = 0.61$ ).



### CONCLUSIONS:

From this prospective randomized study, there was 151 locally advanced nasopharyngeal carcinoma patients was included for survival analysis. Follow-up time ranged from 3 to 60 months (median time 24.5 months).

1. The efficacy of cisplatin versus carboplatin
  - 100 patients had no evidence of disease at point of analysis (70.8% of cisplatin, 69.2% of carboplatin).



- 20 patients died during follow up (13.8% of cisplatin, 14.1% of carboplatin).
- 10 patients had local recurrence (3.1% in cisplatin, 10.3% in carboplatin).
- 15 patients had distant metastasis (10.8% in cisplatin, 10.3% in carboplatin)
- 2. One patient died during due to side effects.
- 3. The 3-year disease free survival rate were 68.5% in cisplatin arm and 68.4% in carboplatin arm ( $p=0.72$ ).
- 4. The 3-year overall survival rate were 78.5% in cisplatin arm and 81.6% in carboplatin arm ( $p=0.81$ ).
- 5. Results of the chemoradiotherapy was not significant different between the two treatment groups.
- 6. Carboplatin had lower toxicity than cisplatin which caused higher compliance rate. However, carboplatin had higher thrombocytopenia than cisplatin.

#### BIBLIOGRAPHY

1. Al-Saraaf M, Le Blanc M, Shanker Giri PG et al: chemoradiotherapy vs. radiation therapy in patient with advance nasopharyngeal cancer ; phase III randomized intergroup study 0099. *J Clin Oncol* 16:1310-1317, 1998
2. Go RS, Adjai AA: Review of the Comparative Pharmacology and Clinical Activity of Cisplatin and Carboplatin . *Journal of Clinical Oncology* 17:409-422, 1999
3. Double EB, Richmond RC, O'Hara JA, et al: Carboplatin as a potentiator of radiation therapy. *Cancer Treat Rev* 12:111-124, 1985 (suppl A)
4. Coughlin CT, Richmond RC: Biologic and clinical developments of cisplatin combined with radiation : Concepts, utility, projections for new trials, and the emergence of carboplatin. *Semin Oncol* 16:31-43, 1989
5. Calais G, Alfonsi M, Bardet E, et al: Randomized trial of radiation therapy versus concomitant chemotherapy and radiation therapy for advanced-stage oropharynx carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 91:2081-2086, 1999
6. Calais G, Le Floch O: Concomitant radiotherapy and chemotherapy in the treatment of cancer of the upper Respiratory and digestive tracts. *Bull Cancer Radiother* 83:321-329, 1996
7. Muggia FM. Overview of carboplatin: Replacing complementing and extending the therapeutic horizons of cisplatin. *Semin Oncol* 16:7 – 13, 1989 (supp. 5)
8. Eisenberger M, Jacobs M. Simultaneous treatment with single-agent chemotherapy and radiation for locally advanced cancer of head and neck. *Semin Oncol* 4:41-46, 1992 (supp. 11)
9. K.Tsuchiya , T. Nishioka, H. Shirato: a randomized trial of concomitant chemoradiotherapy for Head- and –neck cancers: cisplatin (CDDP ) vs. carboplatin (CBDCA ). *Proc ASTRO meeting* 43:337, 2003 (abstr 2215)
10. Kaplan EL, Meier P. Nonparametric estimation from incomplete observations. *J Am Stat Assoc* 53:457-481, 1958
11. Fleiss JL, editor. *Statistical methods for rates and proportions* New York, NY: Wiley:138-143, 1981

## Dosimetry Characteristic of Implanted Thermoluminescence Detector

■ Somsak Wanwilairat, Ph.D

*Department of Radiology, Faculty of Medicine,  
Chiang Mai University, Chiang Mai  
e-mail: swanwila@mail.med.cmu.ac.th*

### ABSTRACT

Thermoluminescence dosimeters (TLD300) were implanted with 20 keV boron-10 ions, in order to enhance their thermal neutron sensitivity. Photon emission spectra of the TLDs were studied before and after implantation. The gamma sensitivity of the TLDs were also analyzed. It was found that the implantation slightly reduces the gamma sensitivity. The emission spectra of TLDs, however, did not change due to the implantation. It was concluded that except some crystal damage the basic thermoluminescence dosimetric properties were not effected by ions implantation. The implanted TLD can be used as a more sensitivity radiation detector.

### INTRODUCTION

#### *Thermoluminescence Dosimeter (TLD)*

Thermoluminescence dosimeters are widely used in gamma dosimetry because of their high sensitivity, small size, high dose range ( $10 \mu\text{Gy} - 10^4 \text{ Gy}$ ), dose linearity, fast analysis and the possibility to use them *in vivo*. They have been continuously used in mixed field dosimetry to measure both gamma dose and neutron dose. For their small dimensions and their tissue equivalence for most radiation, TLDs give good support in the mapping of radiation fields. In fact, they allow three dimensional determination of absorbed dose with good spatial resolution.

TLD300 has a specific TL characteristic appropriate for mixed  $n-\gamma$  field dosimetry. Its glow curve has two well separable peaks

which allow to determine dose and high LET dose simultaneously. Hoffmann and Songsiririthigul (1992) used TLD300 to measure dose in a fast neutron field from a DT generator. They compared their measurement result with TE ionization chamber, GM counter measurement and Monte Carlo calculations (MORSE-CG code). They achieved  $\pm 5\%$  accuracy for TLD300 measurement for both gamma and neutron dose which is similar to the accuracy of TE chamber and GM counter measurements. With special glow curve analysis techniques it is also possible to determine the radiation quality in high LET fields or mixed ( $n-\gamma$ ) fields. In particular  $\text{CaF}_2:\text{Tm}$  (TLD300) exhibits two well separated glow peaks, their peak height ratio gives the information about the ratio of

---

This work was supported by Thailand Research Fund (TRF).

the fast neutron to the gamma dose. In addition the thermal neutron dose can be determined either with  $^{6}\text{LiF}$  (TLD600) or possibly with a  $^{10}\text{B}$  implanted TLD300 dosimeter. Therefore in principle it should be possible to measure all dose components of a mixed field such as BNCT with a few TLDs. We propose to implant the  $\text{CaF}_2:\text{Tm}$ . TLD with  $^{10}\text{B}$  and measure its thermoluminescence dosimetry characteristics before and after the implantation.

#### ***Thermoluminescence emission spectrum***

The TL effect can generally be described as a two step process: Ionization of electrons followed by trapping at defect sites and subsequent recombination during heating at TL centers causing photon emission. The study of glow curves and optical absorption measurement give some information on the nature of the trapping configuration, but in order to understand the configuration of the TL centers and the light emission process it is necessary to measure the spectral distribution of the emitted light.

Spectral measurements on  $\text{CaF}_2:\text{Tm}$  were performed by Prodhan and Bhatt at wavelengths between 300 and 500 nm. They found peaks at 345, 445 and 470 nm and observed a shifting ratio of the 445 to 470 nm peaks with temperature. Later Jacob found a strong infrared emission near 800 nm, which was 14 times higher than the visible light for the 140°C peak and 6 times higher for the 240°C peak. They proposed to use this emission for the recording of glow curves with IR showing broad IR peaks at 650 and 795 nm

but did not show details of the line shape due to insufficient wavelength resolution.

Through recent developments in highly sensitive charge couple devices (CCD), optical spectrometers have become available, which allow, without using any expensive image intensifiers, spectra to be taken from TL chips (3 mm x 3 mm x 0.9 mm) irradiated at moderate dose levels around 10 Gy with a wavelength resolution of 1nm. The sampling time can be as low as 0.1 s allowing temperature steps of 1°C even at high heating rates of 10°C.s<sup>-1</sup>. Now, very high resolution spectra can be taken at relatively simple instrument.

#### **MATERIALS AND METHODS**

##### ***CaF<sub>2</sub> : Tm thermoluminescence dosimeter***

$\text{CaF}_2:\text{Tm}$  dosimeter obtained as single crystals, extruded rods and hot pressed chips. The conventional chips of size 3x 3x 0.9 mm<sup>3</sup> were used. The glow curve for  $\text{CaF}_2:\text{Tm}$  consists of several overlapping peaks, with a low temperature peak near 140°C (peak 1) and a higher temperature complex of peaks near 240°C (peak 2). The glow curve for this material has been subject of several efforts to obtain kinetic parameters for the individual TL peaks and deconvolution program are now available.

##### ***Implantation***

An ion implanter with a hot cathode Neilson ion source was used for  $^{10}\text{B}$  implantation.  $\text{BF}_3$  gas was feed into ion source chamber which electrons from a hot cathode oscillating under magnetic and electric field causing

discharge of  $\text{BF}_3$  gas in low pressure chamber. The ion beam from Neilson ion source was extracted by a 20 kV extraction voltage. The BF ion current was measured by a Faraday cup. The implanting current was 2-4  $\mu\text{A}$  at 20 keV kinetic energy.

The implanting dose varied from  $10^{16}$  ions/TLD to  $10^{17}$  ions/TLD. The implanted current and ions dose were shown in Table 1.

TLD300	BF current ( $\mu\text{A}$ )	Implant dose (ions)
#1	0.8	$4 \times 10^{16}$
#2	0.8	$2 \times 10^{17}$
#3	3.8	$2 \times 10^{17}$

**Table 1.**  $^{10}\text{BF}$  beam current and ion implant dose for each TLD300 chips.

#### Gamma calibration

The  $^{10}\text{B}$  implanted TLDs were exposed in Cobalt-60 gamma field with doses of about 40-60 Gy. The emission spectra were taken

using the in house high resolution spectrometer which constructed by M.W.Rhodes [2000]. The high resolution spectrometer, using low cost CCD arrays, makes it possible to identify line of different width with a resolution of 1.3 nm.

#### RESULTS

##### *Sensitivity of implanted TLDs*

Before implantation the TLD300 chips were exposed with 39.3 cGy in a  $^{60}\text{CO}$  field. Their glow curves were read out using a Harshaw TL reader. The height of peak1 and peak2 were recorded. Then the TLDs were implanted with 20 keV  $^{10}\text{BF}$  ions dose range  $4 \times 10^{16}$  to  $2 \times 10^{17}$  ions/TLD. Recalibration with 39.3 cGy in  $^{60}\text{CO}$  field, the height of peak1 and peak2 were recorded again. From peak height of the glow curve we found the sensitivity of implanted TLDs were reduced to about 91% of the pre-implant value (Table 2).

TLD300	Gamma	Before implantation.		After implantation.	
	dose (cGy)	Peak1(nA)	Peak2 (nA)	Peak1 (nA)	Peak2 (nA)
#1	39.3	1.744	567.6	1.545	544.60
#2	39.3	1.543	508.1	1.388	471.00
#3	39.3	1.535	514.5	1.303	478.00

**Table 2.** Peak height signal of TLDs before and after implantation.

#### TL emission Spectra

After the gamma calibration measurement, the implanted TLDs were exposed with doses of about 40-60 Gy in the  $^{60}\text{CO}$  field. The emission spectra were read out using the high resolution spectrometer. The

resulting spectra are shown in Fig.1 and Fig 2. The emission spectra clearly show that the material characteristics, spectral peak position and peak width, were not effected by the implantation procedure.

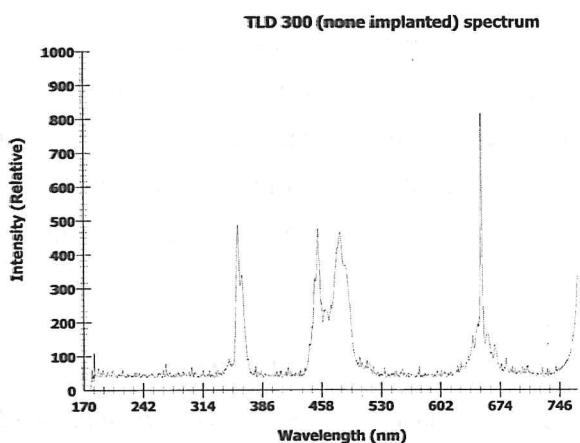


Fig 1. TLD300 (without  $^{10}\text{B}$  ion implanted) wavelength spectrum at  $140^\circ\text{C}$ .

Figure 1 show spectra of the non implanted TLD taken at the temperatures corresponding to the first dosimetric peak (at  $140^\circ\text{C}$ ). The main spectral peaks show up at 356 nm, 455 nm, 482 nm, 650 nm and 795 nm.

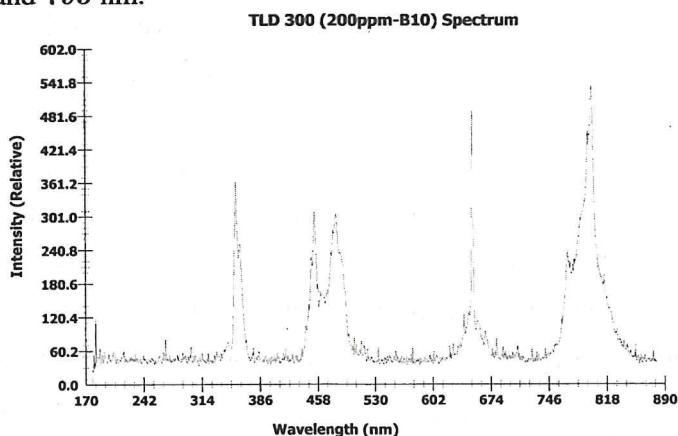


Fig 2. TLD300 (with  $2 \times 10^{17} \text{ }^{10}\text{BF}$  ions implanted) wavelength spectrum at  $140^\circ\text{C}$ .

Figure 2 show spectra of implanted TLD taken at the same temperatures as non implanted TLD (Fig 2). The luminescence spectral peaks of the implanted TLD show up at the same position as the non implanted TLD. The  $^{10}\text{BF}$  implantation does not affect the luminescence characteristics of the dosimeters.

## CONCLUSION

Ion implanting techniques can be used to modify solid state dosimeters. The implantation damages some luminescence structures and

slightly reduces the radiation sensitivity of implanted TLDs. The emission spectra of the crystal dosimeter show that the light emitting process in the crystal is not affected. Therefore in principle it is possible to use the implanted TLD for fast and thermal neutron measurements.

## REFERENCE

1. Hoffmann, Wand Songsiriritthigul, P. Radiat. Prot. Dosim. 44.(1992)301-304.
2. M.W. Rhodes, S.Wanwilairat, T. Vilaithong and W. Hoffmann. Rev. Sci. Instrum. 71.(2000).2053-2057



## DNA microarrays; การประยุกต์ใช้ในการวิจัยโรคมะเร็ง

■ ธรรมรัตน์ ภารสมบัติ ว.ท.ม.

หน่วยรังสีรักษาและมะเร็งวิทยา ภาควิชารังสีวิทยา  
คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

■ นิสา ชราพันธุ์ Ph.D.

หน่วยรังสีรักษาและมะเร็งวิทยา ภาควิชารังสีวิทยา  
คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

### บทคัดย่อ

DNA microarrays หรือ gene chip เป็นเทคโนโลยีใหม่ที่กำลังมีบทบาทมากในการศึกษาด้านอนุชีววิทยา จากโครงการ Human Genome ทำให้เทคนิคนี้มีการพัฒนาไปอย่างรวดเร็ว มีการนำมาประยุกต์ใช้ศึกษาในสาขาต่าง ๆ รวมทั้งงานด้านเทคโนโลยีชีวภาพ การเกษตร และวิทยาศาสตร์สุขภาพ รายงานนี้จึงได้นำเสนอหลักการพื้นฐานของ DNA microarrays และการประยุกต์ใช้ในการวิจัยทางด้านชีววิทยาโรคมะเร็งในແร็งต่าง ๆ ทั้งการตรวจวินิจฉัย การศึกษา path way ที่เกี่ยวข้องกับโรคมะเร็ง การทำนายผลการรักษาและการพยากรณ์โรค รวมไปถึงสารก่อมะเร็ง

### บทนำ

ในปัจจุบันเทคโนโลยีทางรังสีรักษาได้มีการพัฒนาไปอย่างรวดเร็วเมื่อการนำเอาเครื่องมือและเทคนิคต่าง ๆ มาใช้เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของการรักษา เทคโนโลยีด้านอนุชีววิทยาที่เข่นกันมีการคิดค้นเทคโนโลยีใหม่ ๆ ขึ้นมาเพื่อใช้ในการศึกษาทางด้านนี้เป็นจำนวนมาก เครื่องมือที่ใช้ในการศึกษาทางด้าน genetic ได้มีการพัฒนาไปอย่างรวดเร็ว หนึ่งในนั้นคือ DNA microarray หรือ DNA chip หรือ Gene chip ด้วยศักยภาพที่เหนือกว่าวิธีการเดิมจึงทำให้มีการนำเอาเทคนิคนี้มาใช้อย่างแพร่หลายในงานด้านต่างๆรวมไปถึงการศึกษาวิจัยโรคมะเร็ง

### DNA microarrays คืออะไร

DNA microarray<sup>(1,2)</sup> เป็นเทคนิคที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์การแสดงออกของยีนจำนวนมาก ในคราวเดียวกัน การทำงานของ DNA microarray ใช้หลักการพื้นฐานเหมือนการศึกษาทางด้าน genomic ทั่วไป นั่นคืออาศัยคุณสมบัติพื้นฐานของ DNA ในการจับกันได้ (hybridize) ของสาย DNA ที่เป็นเบสคู่สัมกัน โดยจะทำการตรึงสาย DNA ที่เป็นเบสคู่สัมกับยีนที่ต้องการศึกษา (DNA probe) ไว้

บนพื้นผิวของแผ่นค้าจุน DNA ที่นำมาตรึงนี้อาจเป็นสาย Genomic DNA, cDNA หรือสาย Oligonucleotide ของยีนที่ต้องการจะศึกษาได้ จากนั้นจะทำการ hybridize ยีนที่อยู่บนแผ่นค้าจุนด้วย DNA หรือ cDNA ของตัวอย่างที่ต้องการศึกษาที่ติดสลากด้วยสารเรืองแสง (fluorescence) แล้วทำการอ่าน (scan) แผ่นสไลด์ DNA microarray ด้วยเครื่อง DNA microarray scanner เพื่อนำผลที่ได้ไปวิเคราะห์ต่อไป

## การศึกษาทาง Genetic ด้วย DNA microarray สามารถแบ่งลักษณะการศึกษาได้เป็น 2 แบบคือ

1. ศึกษาความผิดปกติของตัวยีนเอง เช่น การเกิด mutation, deletion, SNPs และการเกิด Polymorphism ต่าง ๆ เป็นต้น ซึ่งความผิดปกติเหล่านี้ บางอย่างสามารถนำมาใช้เป็นตัวบ่งชี้ (marker) ในการวินิจฉัยโรคต่างๆ ได้

2. ศึกษาการแสดงออกของยีน (gene expression) เพื่อดูแบบแผนการแสดงออกของยีนที่สนใจ โดยเปรียบเทียบการแสดงออกของยีนในสภาวะที่แตกต่างกัน เช่น สภาวะปกติเทียบกับสภาวะที่เป็นโรค เปรียบเทียบผลของยาที่ใช้ในการรักษาโรค ต่อการแสดงออกของยีนในตัวอย่างที่ต้องการศึกษา เป็นต้น ทำให้เข้าใจถึงกลไกการเกิดโรคต่าง ๆ ในสิ่งมีชีวิต และนำความรู้ที่ได้ไปใช้ในการวางแผนการรักษาหรือคิดค้นยาที่มีประสิทธิภาพในการรักษามากขึ้น

ขั้นตอนในการศึกษาด้วยเทคนิค DNA Microarray แบ่งออกได้เป็น 3 ขั้นตอนใหญ่ ๆ ดังแสดงในรูปที่ 1 คือ

1. การเตรียมสไลด์ DNA microarray
2. การเตรียมตัวอย่างที่ต้องการตรวจ
3. การอ่านผลและวิเคราะห์

### 1. การเตรียมสไลด์ DNA microarray

เป็นการเตรียม DNA probe เพื่อนำไปตรึงไว้บนผิวแผ่นค้าจุน ซึ่งปกติที่ไปนิยมใช้เป็นแผ่นสไลด์ แก้ว แต่ก็มีชนิดที่เป็นแผ่นในลอน แผ่น nitro-cellulose หรือแผ่นพลาสติก ฯลฯ ดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้นว่า DNA ที่นำมาทำเป็น probe อาจใช้ DNA, cDNA หรือ oligonucleotide ขึ้นอยู่กับความเหมาะสมและลักษณะของงานที่นำไปประยุกต์ใช้โดยรวมแล้ว probe เหล่านี้จะเป็นชิ้นส่วนของยีน

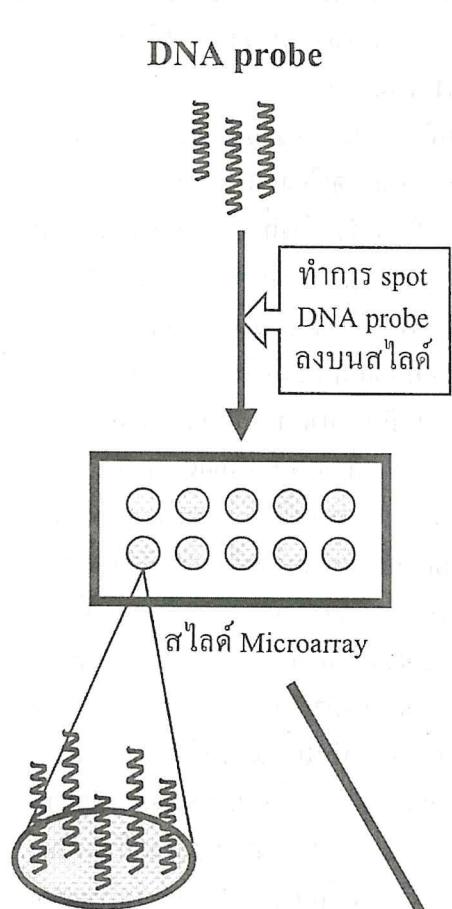
ต่าง ๆ ในกลุ่มของยีนที่ต้องการจะศึกษา หรือมีความสัมพันธ์กับยีนที่ต้องการจะศึกษา

วิธีการตรึง DNA probe เหล่านี้ลงบนแผ่นค้าจุนทำได้หลายวิธี แต่ละวิธีก็จะให้ประสิทธิภาพในการตรึงไม่เท่ากัน สามารถแบ่งเป็นวิธีใหญ่ ๆ ได้ 2 วิธี คือ

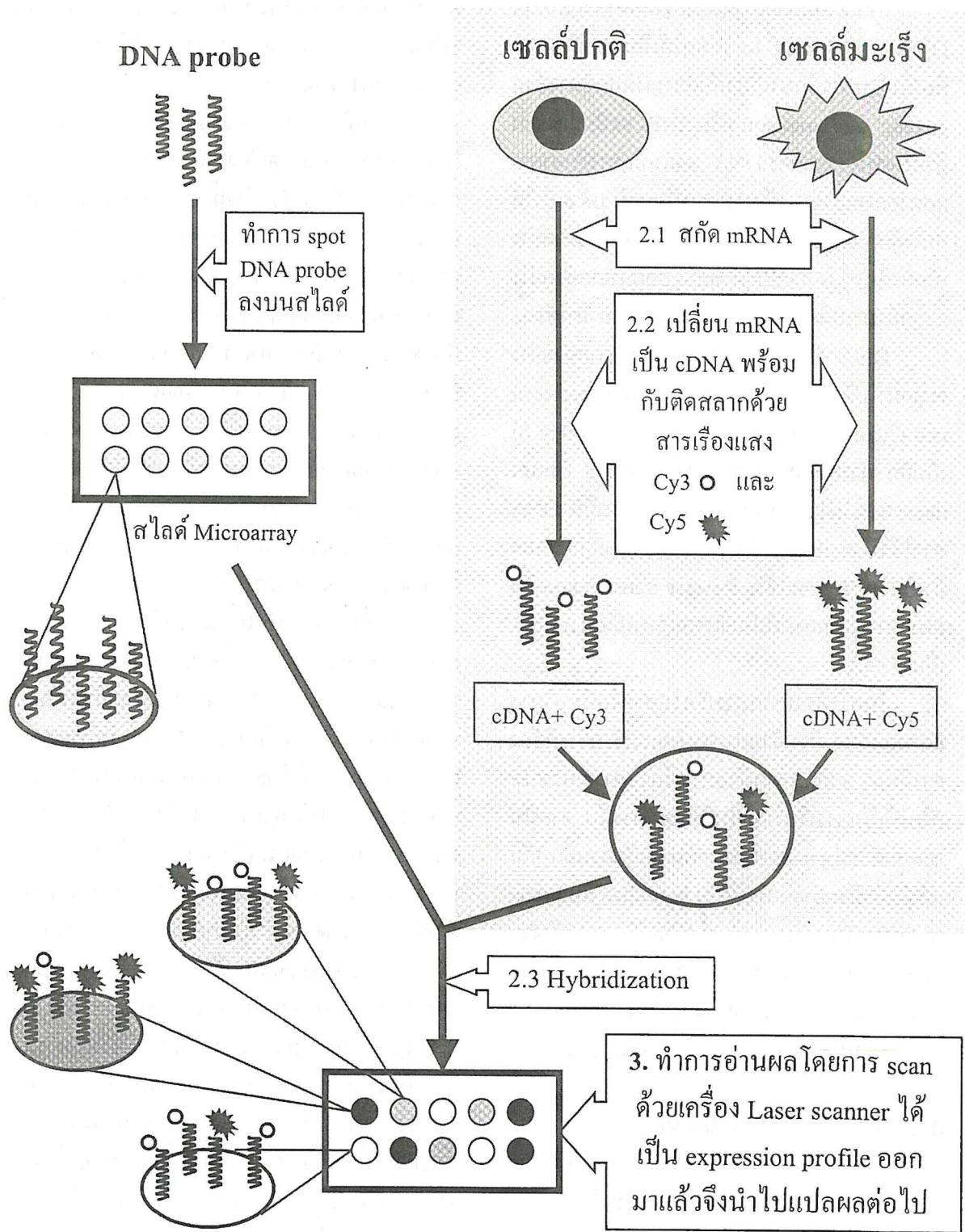
1. วิธีสังเคราะห์สาย DNA ลงบนแผ่นสไลด์ โดยตรง ได้แก่ การใช้เทคนิค Photolithography และวิธีทางเคมีทำการสังเคราะห์สาย DNA probe ลงใบปนแผ่นสไลด์โดยตรง วิธีนี้สามารถตรึงสาย DNA ลงใบปนแผ่นสไลด์ได้เป็นจำนวนมาก เป็นหมื่นจุดขึ้นไป สไลด์ที่ได้มีคุณภาพสูง แต่วิธีนี้มีขั้นตอนการทำที่ยุ่งยากและมีค่าใช้จ่ายสูง

2. วิธีหยด DNA probe ที่ทำการสังเคราะห์ไว้แล้วลงบนแผ่นสไลด์ ซึ่งสามารถแบ่งได้เป็น 2 แบบ คือ แบบที่มีการจุ่ม DNA probe ที่สังเคราะห์ไว้แล้วลงบนแผ่นสไลด์ ตัวเข็มที่บรรจุ DNA probe จะแตะลงใบปนผิวของแผ่นสไลด์โดยตรง อีกแบบคือการฉีด DNA probe จากปลายเข็มลงใบปนแผ่นสไลด์ โดยไม่มีการสัมผัสกันระหว่างตัวเข็มกับแผ่นสไลด์ วิธีตรึง DNA probe ด้วย 2 วิธีนี้มีข้อดี ข้อเสียแตกต่างกันแต่ทำได้ง่ายกว่าวิธีสังเคราะห์ DNA probe ลงใบปนแผ่นสไลด์โดยตรง และมีค่าใช้จ่ายน้อยกว่าวิธีแรก

## 1. การเตรียมสไลด์ Microarray



## 2. การเตรียมตัวอย่าง



รูปที่ 1 ผังแสดงขั้นตอนการทำงานของ DNA Microarray

## 2. การเตรียมตัวอย่างที่ต้องการตรวจ

การเตรียมตัวอย่างที่ต้องการศึกษาด้วยเทคนิค DNA microarray แบ่งออกได้เป็น 2 ลักษณะ คือ ถ้าเป็นการศึกษาเกี่ยวกับความผิดปกติทางด้าน genetic เช่น mutation หรือ SNPs จะนิยมเตรียมตัวอย่างที่ใช้ในรูปของ DNA แต่ถ้าเป็นการศึกษาการแสดงออกของยีน เพื่อทำการเปรียบเทียบตัวอย่างที่สนใจกับตัวอย่างอ้างอิง ก็จะใช้ mRNA ของตัวอย่าง เป็นตัวศึกษา โดย mRNA ที่สกัดออกมาจากตัวอย่าง จะถูกนำมาเปลี่ยนเป็น cDNA ก่อนที่จะนำมาใช้งาน

DNA หรือ mRNA ที่สกัดออกมาจากตัวอย่าง จะถูกนำไปติดสลากด้วยสารเรืองแสง (fluorescence) เช่น Cyanine 3 (Cy 3) และ Cyanine 5 (Cy 5) เป็นต้น การติดสลากสามารถทำได้หลายวิธี ทั้งแบบ direct และ indirect labelling ถ้าตัวอย่างเป็น DNA อาจใช้วิธี Nick translation, PCR labelling ฯลฯ ถ้าเป็น mRNA จะใช้วิธี Reverse transcription ติดสลากสารเรืองแสงลงไปในขั้นตอนการเปลี่ยน mRNA เป็น cDNA

ในการติดสลากสารเรืองแสงเพื่อศึกษาการแสดงออกของยีน ตัวอย่างอ้างอิงและตัวอย่างที่ต้องการศึกษา จะติดสลากด้วยสารเรืองแสงคนละชนิด เพื่อให้เกิดการเรืองแสงในสีที่แตกต่างกัน จากนั้น จะผสมตัวอย่างทั้งสองเข้าด้วยกัน ในสัดส่วนที่เท่ากัน แล้วจึงนำตัวอย่างผสมที่ได้ไป hybridize กับ probe บนแผ่น microarray slide ที่เตรียมไว้ ภายหลังจากขั้นตอนการ Hybridization เสร็จสิ้นลง microarray slide ที่ได้จะถูกนำไปอ่านด้วยเครื่อง Microarray scanner เพื่ออ่านผลแล้วนำไปวิเคราะห์ต่อไป

## 3. การอ่านและการวิเคราะห์ผล

DNA microarray slide ที่ผ่านขั้นตอนการ Hybridization แล้ว จะถูกนำมาอ่านด้วยเครื่อง confocal laser scanner เพื่อตรวจดูการเรืองแสง ของสารเรืองแสงในแต่ละจุดบนแผ่นสไลด์ โดยทั่วไป

เครื่อง scanner จะมีแหล่งกำเนิดเลเซอร์อยู่ 2 ชุด คือ green laser และ red laser ซึ่งมีช่วงความยาวคลื่นที่เหมาะสมกับสารเรืองแสง Cy 3 (สีเขียว) และ Cy 5 (สีแดง) ตามลำดับ

ผลที่ได้จากการอ่าน จะอยู่ในรูปของ Expression profile แสดงจุดเรืองแสงบนแผ่นสไลด์ โดยแต่ละจุดคือ DNA ตัวอย่างที่จับกับ probe บนแผ่นสไลด์ สีของแต่ละจุดที่มองเห็น แสดงถึงสัดส่วนปริมาณของตัวอย่างที่จับกับ probe ชนิดนั้นบนแผ่นสไลด์ ถ้าตัวอย่างชนิดใหม่ปริมาณมากกว่าก็จะจับกับ probe ชนิดนั้นได้มากกว่าอีกตัวอย่างหนึ่ง ซึ่งปริมาณของตัวอย่างมีความสัมพันธ์โดยตรงกับระดับการแสดงออกของตัวอย่างนั้น ๆ ตัวอย่างเช่น ทำการติดสลากตัวอย่างอ้างอิงด้วยสารเรืองแสงสีเขียว และตัวอย่างที่จะศึกษาด้วยสารเรืองแสงสีแดง เมื่อนำตัวอย่างทั้งสองมาผ่านขั้นตอนการต่าง ๆ จนได้ expression profile ออกมา แล้วได้จุดเรืองแสงบนแผ่นสไลด์ ที่เป็นสีเขียวหรืออกไปในทางเป็นสีเขียว แสดงว่าการแสดงออกของยีนชนิดนั้นในตัวอย่างที่จะศึกษามีน้อยกว่าตัวอย่างอ้างอิง ในทางตรงกันข้าม ถ้าจุดเรืองแสงเป็นสีแดงหรือออกไปทางสีแดง แสดงว่าการแสดงออกของยีนชนิดนั้นในตัวอย่างที่จะศึกษามีมากกว่าตัวอย่างอ้างอิง แต่ถ้าจุดเรืองแสงเป็นสีเหลืองซึ่งเกิดจากการรวมกันของแสงสีเขียวและสีแดงในอัตราส่วนที่เท่ากัน แสดงว่ามีการแสดงออกของยีนในตัวอย่างที่จะศึกษากับตัวอย่างอ้างอิงใกล้เคียงกันหรือเท่ากัน

expression profile ที่ได้จะถูกนำไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ต่าง ๆ ในลำดับต่อไป เพื่อให้ได้ข้อมูลการแสดงออกของยีนที่แท้จริง ซึ่งโปรแกรมที่นำมาใช้วิเคราะห์มีหลายรูปแบบด้วยกัน ขึ้นอยู่กับว่าต้องการทราบข้อมูลและนำข้อมูลที่ได้ไปใช้ในการศึกษาเกี่ยวกับอะไร โปรแกรมที่สำคัญอันหนึ่งคือ Microarray Informatics เป็นโปรแกรมที่ช่วยในการจัดการข้อมูลที่มีจำนวนมาก สามารถวิเคราะห์โดยเชื่อมจากฐานข้อมูลภายนอกได้



## การประยุกต์ใช้เทคนิค DNA Microarray ใน การศึกษาทางด้าน Cancer Biology

จากความสามารถในการตรวจสอบการแสดงออกของยีนได้คร่าวๆ มาก ๆ ของเทคนิค DNA microarray จึงมีผู้สนใจที่จะนำเทคนิคนี้มาศึกษาเกี่ยวกับโรคมะเร็งในด้านต่าง ๆ เป็นจำนวนมาก<sup>(3,4,5)</sup> ทั้งนี้เพราะเป็นที่ทราบกันดีว่า โรคมะเร็งเกิดจากความผิดปกติในจีโนมของมนุษย์ ทำให้ยืนต่าง ๆ มีการแสดงออกที่ผิดปกติไป การศึกษาเกี่ยวกับยีนที่ผิดปกติในสมัยก่อนทำได้ค่อนข้างยาก ทำได้คร่าว ๆ ไม่กี่ยีน ต่อมาภายหลังจากการศึกษาต่าง ๆ ทำให้เกิดสมมุติฐานที่ว่า การเกิดโรคมะเร็งไม่ได้เกิดมาจากการความผิดปกติของยีนใดยีนหนึ่งเพียงอย่างเดียว แต่เป็นผลมาจากการทำงานที่ผิดปกติของทั้งระบบที่เกี่ยวข้อง ซึ่งประกอบด้วยยีนหลายยีนที่ทำงานสัมพันธ์กัน ดังนั้นเทคนิคทางด้าน microarray จึงมีความเหมาะสมสมกับการศึกษาเกี่ยวกับโรคมะเร็ง เป็นอย่างมาก ทำให้เห็นรูปแบบการทำงานของยีนทั้งระบบ อันนำไปสู่ความเข้าใจรูปแบบกลไกการทำงานของยีนต่าง ๆ ที่ผิดปกติไป ซึ่งเป็นผลทำให้เกิดเป็นเซลล์มะเร็งขึ้น

ตัวอย่างการประยุกต์ใช้เทคนิค microarray ใน การศึกษาเกี่ยวกับโรคมะเร็ง ได้แก่

### การวิเคราะห์หา Mutation, Polymorphism และ Tumor marker

การศึกษา mutation และ polymorphism ต่าง ๆ ในสมัยก่อนนิยมใช้วิธี Single-strand conformation polymorphism (SSCP) และ Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) ซึ่งมีวิธีการทำค่อนข้างยุ่งยาก แต่ในปัจจุบันเทคโนโลยีต่าง ๆ ได้มีการพัฒนาสูงขึ้น เทคนิค DNA microarray จึงเป็นอีกทางหนึ่งที่นำมาใช้ในการศึกษาทางด้านนี้ อันเป็นผลเนื่องมาจากการความสามารถในการศึกษา yin

ได้คร่าวๆ มาก ๆ นั่นเอง ตัวอย่างของการศึกษานี้ได้แก่ การศึกษาของ Wang และคณะ<sup>(6)</sup> ใช้ oligonucleotide microarray ตรวจหา SNPs ในบริเวณ 5' untranslated region ของยีน RAD 51 ในกลุ่มตัวอย่างที่มี mutation ของยีน BRCA1/2 การเกิด SNPs ในบริเวณนี้มีความเกี่ยวข้องกับการเพิ่มความเสี่ยงในการเป็นมะเร็งเต้านม และพบว่าความเสี่ยงของการเป็นมะเร็งรังไข่ในกลุ่มตัวอย่างที่มี mutation ของยีน BRCA2 จะน้อยกว่า นอกจากนี้ Hacia และคณะ<sup>(7)</sup> ได้ทำการศึกษา mutation ของยีน BRCA1 โดยใช้ oligonucleotide microarray และพบว่ามี mutation เกิดขึ้นบน exon 11 ของยีนนี้ จะเห็นได้ว่า เทคนิค microarray สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการตรวจหาความผิดปกติต่าง ๆ ของยีนได้เหมือนกับเทคนิคอื่น ๆ

Nishizuka และคณะ<sup>(8)</sup> ทำการศึกษาเกี่ยวกับ marker gene ที่จะใช้ในการแยก colon cancer ออกจาก ovarian cancer ใน ovarian mass และใน peritoneal carcinomatosis ซึ่งทำการแยกออกจากกันได้ค่อนข้างยาก โดยทำการทดลองทาง marker gene ของ colon cancer และ ovarian cancer ซึ่งคัดเลือกมาจากยีนที่สนใจจำนวน 9,706 ยีน ด้วยวิธี cDNA microarray พบว่า โปรตีน villin และ moesin มีแนวโน้มว่าจะใช้เป็น tumor marker ของ colon cancer และ ovarian cancer ได้ ตามลำดับ และจากการทดสอบสมมุติฐานนี้ด้วยเทคนิค Protein lysate array และ Tissue microarray พบว่า สามารถใช้ villin เป็น protein marker สำหรับ colorectal carcinoma ได้ดีในระดับหนึ่ง ส่วน moesin ยังมีข้อจำกัดในการใช้เป็น marker สำหรับ ovarian adenocarcinoma

Tanwar และคณะ<sup>(9)</sup> ทำการศึกษา gene expression profile ของ glioblastoma multiforme (GBM) ในตัวอย่าง 19 ราย เพียงกับเนื้อสมองปกติโดยใช้เทคนิค cDNA microarray พบว่า

สามารถใช้ระดับการแสดงออกของโปรตีน YKL-40 เป็น marker ในการตรวจสอบการเกิด glioma และใช้แบ่ง grade ได้อีกด้วย นอกจากนี้ยังมีอีกหลายงานวิจัยที่ใช้เทคนิค microarray ในการตรวจหา tumor marker ต่าง ๆ เช่น คณะของ Mok<sup>(10)</sup> และ Dhanasekaran<sup>(11)</sup> ซึ่งทำการตรวจหาใน ovarian cancer และ prostate cancer ตามลำดับ

### การหา Pathway และ Metastasis ของโรคมะเร็ง

นอกจากจะใช้เทคนิค microarray ในการหา polymorphysm แล้ว ยังมีการนำเทคนิคนี้มาใช้ในการศึกษากลไก และ pathway ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคมะเร็ง เช่น การศึกษา tumor suppressor gene หรือ transcription factor ของเซลล์มะเร็งต่าง ๆ ตัวอย่างการศึกษา ได้แก่ การศึกษาการตอบสนองของยีน p53 เมื่อเซลล์ได้รับการกระตุ้นจากรังสีและสารเคมีเพื่อต่อต้านการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับยีน p53 และยีนที่เกี่ยวข้อง โดย Zhao และคณะ<sup>(12)</sup> หรือการศึกษาของ Louro และคณะ<sup>(13)</sup> ที่ทำการศึกษาเพรียบเทียบการแสดงออกของยีน GLI และ c-MYC ในกลไกการควบคุมยีนที่เกี่ยวข้องใน epithelial model ของการเกิด malignant transformation เป็นต้น

Metastasis ของโรคมะเร็งเป็นอีกหัวข้อหนึ่งที่มีผู้สนใจใช้เทคนิค microarray ทำการศึกษาเป็นจำนวนมากอีกด้วย เช่น การศึกษา expression profile ของ nonmetastatic และ metastatic medulloblastoma โดย MacDonald และคณะ<sup>(14)</sup> พบว่ามีการแสดงออกของยีนที่แตกต่างกันจำนวน 85 ยีน ซึ่งยีน platelet-derived growth factor receptor alpha (PDGFRA) และยีนในกลุ่ม RAS/mitogen-activated protein kinase (MAPK) ที่พบใน metastatic medulloblastoma มีการทำงานที่สูงขึ้น และจากการตรวจสอบด้วยเทคนิค Immunohistochemistry ได้ผลยืนยันว่ามีการแสดงออกที่เพิ่มมากขึ้นจริง และจากการศึกษาทาง In vitro ของ

PDGFRA และ MAPK พบว่า PDGFRA และ MAPK ทำให้เกิดการ migration ของ medulloblastoma มากขึ้น

Schmelz และคณะ<sup>(15)</sup> ได้ทำการศึกษากลไกที่เกี่ยวข้องกับการเกิด metastasis ของ testicular germ cell tumor โดยใช้เทคนิค microarray ทำการเปรียบเทียบการแสดงออกของยีนที่ได้จาก testicular tumor tissue เทียบกับในเนื้อเยื่อปกติ โดยแบ่ง testicular tumor ออกเป็น seminomas และ non-seminomas พบว่า ใน testicular tumor tissue ทั้งสองชนิดมีการแสดงออกของยีนที่คล้ายกัน มีทั้งแบบที่เป็น downregulation และ upregulation โดยยีนที่เกิด downregulation เป็นยีนที่เกี่ยวข้องกับการเกิด apoptosis, protein turnover, chemokines, hormones และการเกิด detoxification ส่วนยีนที่เกิด upregulation จะเกี่ยวข้องกับกระบวนการ cell cycle regulation และ chromatin organization เป็นต้น

### การจำแนกชนิดของโรคมะเร็ง (Classification)

ประโยชน์อีกประการหนึ่งของเทคนิค DNA microarray ที่นำมาใช้ คือ การจำแนกมะเร็งชนิดต่าง ๆ เช่น การศึกษาของ Golub และคณะ<sup>(16)</sup> ซึ่งใช้ oligonucleotide microarray ศึกษาการแสดงออกของยีนจำนวน 6,817 ยีนในผู้ป่วย acute leukemia จากผลของ expression profile ที่ได้สามารถแยกผู้ป่วยโดยดูจากการแสดงออกของยีนออกมายได้เป็น 2 กลุ่ม คือ acute myelogenous leukemia (AML) และ acute lymphocytic leukemia (ALL) จากผลที่ได้ Golub และคณะ จึงใช้ข้อมูลที่ได้เป็นตัวช่วยในการจำแนกชนิด acute leukemia ที่ไม่ทราบชนิดได้ Perou และคณะ<sup>(17)</sup> ใช้เทคนิค microarray ในการจำแนกชนิด breast cancer เป็น subtype ต่าง ๆ โดยอาศัย expression profile เป็นตัวช่วย นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่ใช้

เทคนิค microarray ในการจำแนกมะเร็งชนิดต่าง ๆ ไม่ว่าจะเป็น bladder cancer, breast cancer, lung cancer, leukemia และ lymphoma ซึ่ง Dyrskjot และคณะ<sup>(18)</sup> ได้รวมรวมไว้ แสดงให้เห็นว่าเทคนิค microarray สามารถนำมาใช้ในการจำแนกมะเร็งชนิดต่าง ๆ ได้ดี

#### การทํานายผลการรักษาและพยากรณ์โรค

ตัวอย่างการศึกษา การตอบสนองต่อการรักษาโรคมะเร็งโดยใช้เทคนิค DNA microarray เช่น Li และคณะ<sup>(19)</sup> ทำการศึกษายืน 12,558 ยีนเพื่อติดต่อการแสดงออกของยีนที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อได้รับยา genistein ในการรักษา prostate cancer พบว่า มียีนเกิดการแสดงออกที่เปลี่ยนแปลงไปจำนวน 832 ยีน โดย 11 ยีน เป็นการเปลี่ยนแปลงแบบ down regulation ได้แก่ MMP-9, Protease M, uPAR, VEGF, Neuropilin, TSP, BPGF, LPA, TGF-b2, TSP-1 และ PAR-2 และพบว่ามีส่องยีนที่เกิดการเปลี่ยนแปลงแบบ up regulation ได้แก่ connective tissue growth factor และ connective tissue activation peptide ซึ่งยืนต่าง ๆ เหล่านี้เกี่ยวข้องกับการเกิด angiogenesis, tumor cell invasion และ metastasis เมื่อนำผลที่ได้จากการตรวจไปศึกษาด้วยวิธี RT-PCR, Western blot และ Zymographic analysis ก็ได้ผลสอดคล้องกับการศึกษาด้วยเทคนิค microarray นั่นคือ genistein ทำให้เกิด down regulation ต่อการเกิด transcription และ translation ของยีนที่ควบคุมการเกิด angiogenesis, tumor cell invasion และ metastasis ของ prostate cancer

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาถึง drug sensitivity และ drug resistance ในมะเร็งต่าง ๆ อีกด้วย เช่น การศึกษาการต้อยา doxorubicin ในเซลล์มะเร็งของ Kudoh และคณะ<sup>(20)</sup> และการศึกษาการต้อยา cisplatin ในผู้ป่วย ovarian cancer ของ Sakamoto และคณะ<sup>(21)</sup> เป็นต้น

ตัวอย่างการศึกษาการพยากรณ์โรค ได้แก่ การศึกษาของ Alzadeh และคณะ<sup>(22)</sup> ทำการศึกษา diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) ซึ่งเป็น subtype หนึ่งของ non - Hodgkin's lymphoma จากการศึกษาด้วยเทคนิค microarray พบว่า จาก expression profile ของ DLBCL สามารถแบ่ง DLBCL ออกໄไปเป็น phenotype ใหม่ได้ 2 ชนิด คือ activated peripheral-blood B-cell (AB) และ germinal center B-cell (GCB) และเมื่อต่อตัวการรอดชีวิตที่เวลา 5 ปี ของผู้ป่วยที่เป็น DLBCL พบว่า มีค่าประมาณ 52% โดยคิดเป็น subtype GCB-DLBCL ประมาณ 76% และ subtype AB-DLBCL ประมาณ 16% ซึ่งผู้ป่วย DLBCL ชนิด AB-DLBCL จะมีความเสี่ยงในการเสียชีวิตสูงกว่าผู้ป่วยที่เป็น GCB-DLBCL นอกเหนือ Beer และคณะ<sup>(23)</sup> ได้ใช้ expression profile ของ lung adenocarcinoma ที่ได้จากเทคนิค microarray มาใช้ในการทํานายอัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วยในระยะต้นด้วยเช่นกัน

#### การพัฒนาสารก่อมะเร็ง

นอกจากจะใช้เทคนิค microarray ในการศึกษาต่าง ๆ ข้างต้นแล้ว ยังได้มีการนำมาประยุกต์ใช้กับการศึกษาเกี่ยวกับการหาสารก่อมะเร็ง<sup>(24)</sup> และใช้ตรวจสอบการได้รับสารก่อมะเร็งในร่างกาย<sup>(25)</sup> อีกด้วย

#### สรุป

จากตัวอย่างการประยุกต์ใช้เทคนิค microarray ในการศึกษาโรคมะเร็งดังที่กล่าวมา จะเห็นได้ว่า เทคนิคนี้สามารถตอบคำถามและนีคัญภาพในการนำมาใช้ในการศึกษาเกี่ยวกับโรคมะเร็ง ในด้านต่าง ๆ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ หน่วยรังสีรักษา และมะเร็งวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัย เชียงใหม่จึงได้นำมาใช้ในห้องปฏิบัติการ Radiation Biology แต่เนื่องจากค่าใช้จ่ายในการปฏิบัติการยังมีราคาค่อนข้างสูง และข้อมูลการศึกษา



ต่าง ๆ ยังมีอยู่ เทคนิคนี้จึงยังคงถูกจำกัดอยู่ในการวิจัยเป็นส่วนใหญ่ ในอนาคตถ้ามีการศึกษาทางด้านนี้มากขึ้น และเทคโนโลยีต่าง ๆ ได้รับการพัฒนาขึ้น dür ใช้ microarray นี้ จะเป็นประโยชน์อย่างมากในการนำมาใช้ในการวินิจฉัย และวางแผนการรักษาโรคมะเร็งต่าง ๆ ได้เป็นอย่างดี เพื่อประโยชน์สูงสุดต่อผู้ป่วยมะเร็ง

#### เอกสารอ้างอิง

- วีระพงศ์ ลุติตานนท์. DNA microarray and expression bioinformatics: วัสดุ จันทร์ทิพย์ และ วีระพงศ์ ลุติตานนท์. ชีวสารสนเทศศาสตร์. สถาบันบัณฑิตวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีไทย. สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ. (2544) หน้า 45-55
- Friend SH, Stoughton RB, The magic of microarrays. Scientific American. February 2002;46-53
- Somasundaram K, Mungamuri SK, Wajapeyee N. DNA microarray technology and its applications in cancer biology. *Appl Geno Prot.* 2002;1(4):209-218
- Ramaswamy S, Golub TR. DNA microarrays in clinical oncology. *J Clin Oncol.* 2002;20(7):1932-1941
- Pusztai L, Ayers M, Stec J, et al. Clinical application of cDNA microarrays in oncology. *The Oncologist.* 2003;8:252-258
- Wang WW, Spurdle AB, Kolachana P, et al. A single nucleotide polymorphism in the 5'untranslated region of RAD51 and risk of cancer among BRCA1/2 mutation carriers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2001;10:955-60
- Hacia JG, Brody LC, Chee MS, et al. Detection of heterozygous mutations in BRCA1 using high-density oligonucleotide arrays and two-color fluorescence analysis. *Nat Genet.* 1996;14:441-7
- Nishizuka S, Chen ST, Gwdry FG, et al. Diagnostic markers that distinguish colon and ovarian adenocarcinomas: identification by genomic, proteomic, and tissue array profiling. *Cancer Res.* 2003;63:5243-5250
- Tanwar MK, Gilbert MR, Holland EC. Gene expression microarray analysis reveals YKL-40 to be a potential serum marker for malignant character in human glioma. *Cancer Res.* 2002;62:4364-8
- Mok SC, Chao J, Skates S, et al. Prostasin, a potential serum marker for ovarian cancer: identification through microarray technology. *J Natl Cancer Inst.* 2001;93:1458-64
- Dhanasekaran SM, Barrette TR, Ghosh D, et al. Delineation of prognostic biomarkers in prostate cancer. *Nature.* 2001;412:822-6
- Zhao R, Gish K, Murphy M, et al. Analysis of p53-regulated gene expression patterns using oligonucleotide arrays. *Genes Dev.* 2000;14:981-93
- Louro ID, Bailey EC, Li X, et al. Comparative gene expression profile analysis of GLI and c-MYC in an epithelial model of malignant transformation. *Cancer Res.* 2002;62:5867-5873
- MacDonald TJ, Brown KM, LaFleur B, et al. Expression profiling of medulloblastoma: PDGFRA and the RAS/MAPK pathway as therapeutic targets for metastatic disease. *Nat Genet.* 2001;29:143-152
- Schmelz HU, Port M, Albers P, et al. Differential gene expression in testicular carcinoma – preliminary results. *Proc Am Soc Clin Oncol.* 2003;22:900
- Golub TR, Slonim DK, Tamayo P, et al. Molecular classification of cancer. *Science.* 1999;286:531-7
- Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature.* 2000;406:747-52
- Dyrskjot L. Classification of bladder cancer by microarray expression profile: towards a general clinical use of microarrays in cancer diagnostics. *Expert Rev Mol Diagn.* 2003;3(5):635-647
- Li Y, Sarker FH. Down-regulation of invasion and angiogenesis-related genes identified by cDNA microarray analysis of PC3 prostate cancer cells treated with genistein. *Cancer Letters.* 2002;186:157-164
- Kudoh K, Ramanna M, Ravatn R, et al. Monitoring the expression profiles of Doxorubicin-induced and Doxorubicin-resistant cancer cells by cDNA microarray. *Cancer Res.* 2000;60:4161-6
- Sakamoto M, Kondo A, Kawasaki K, et al. Analysis of gene expression profiles associated with cisplatin resistance in human ovarian cancer cell lines and tissues using cDNA microarray. *Hum Cell.* 2001;14:305-15

22. Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature*. 2000;403:503-511
23. Beer DG, Kardia SL, Huang CC, et al. Gene-expression profiles predict survival of patients with lung adenocarcinoma. *Nat Med*. 2002;8(8):816-24
24. Afshari CA, Nuwaysir EF, Barrett JC. Application of complementary DNA microarray technology to carcinogen identification, toxicology, and drug safety evaluation. *Cancer Res*. 1999;59:4759-4760
25. Lampe JW, Stepaniants SB, Mao M, et al. Signatures of environmental exposures using peripheral leukocyte gene expression: tobacco smoke. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2004;13(3):445-453

# Effect of topical vitamin E on radiation induced skin alteration in head and neck cancer patients

## Supported by The Ratchadapiseksompotch Fund

### Year 2003, Chulalongkorn University

■ Asavametha, N M.D., Suwannalai, T M.D.

*Division of Radiation Oncology,*

*Department of Radiology, Faculty of Medicine,*

*Chulalongkorn University*

■ Puvanbanditsin, P M.D.

*Division of Dermatology,*

*Department of Medicine, Faculty of Medicine,*

*Chulalongkorn University*

■ Shoosanglertwijit, J M.Sc.

*Drug Production Unit, Department of Pharmacy,*

*King Chulalongkorn Memorial Hospital*

#### บทคัดย่อ

**วัตถุประสงค์ :** การศึกษานี้ทำเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิตามินอีชนิดทาภายในอกเทียบกับยาหลอก (placebo) ในการลดปฏิกิริยาของผิวหนังที่เกิดจากการฉายรังสี (ionizing radiation) ในกลุ่มผู้ป่วยโรคมะเร็งบริเวณคีรังและลำคอ และประโยชน์ของการนำไปใช้ในทางคลินิก

**สถานที่ที่ทำการศึกษา :** หน่วยรังสีรักษา ภาควิชารังสีวิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

**รูปแบบการวิจัย :** การศึกษาเชิงทดลอง

**วิธีการศึกษา :** ทำการศึกษาตั้งแต่ 1 มีนาคม 2545 ถึง 31 กรกฎาคม 2546 มีผู้ป่วยที่ได้รับการประเมินทั้งหมด 29 คน ศึกษาโดยเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิตามินอีชนิดทาภายในอกกับยาที่ไม่มีวิตามินอี (ยาหลอก) ในผู้ป่วยคนเดียวกัน แบ่งการรายงานบริเวณใบหน้าและลำคอ ส่วนที่ได้รับการฉายรังสี ออกเป็น 2 ข้าง ซ้าย-ขวา โดยทำการสูมเลือก ฉะนั้น แพทย์และผู้ป่วยจะไม่ทราบชนิดของยาที่ทา ให้ผู้ป่วยเริ่มทายาทั้งสองชนิดภายในสัปดาห์แรกของการฉายรังสี ทاทุกวัน 2 ครั้ง ต่อวัน จนกระทั่งฉายรังสีไปได้ 50 Gy

การประเมินสภาพผิวหนังใช้เกณฑ์การประเมินทางคลินิก (CTC version 2.0) โดยผู้ประเมินคนเดียวกัน ทำการประเมินตั้งแต่สัปดาห์แรกของการฉายรังสีและทุกสัปดาห์ในระหว่างการฉายรังสีจนกระทั่งฉายรังสีถึง 50 Gy (ประมาณ 5 สัปดาห์)

**ผลการศึกษา :** การเปลี่ยนแปลงของผิวหนัง ในบริเวณที่รักษาด้วยการฉายรังสี (ionizing radiation) ซึ่งทาด้วยวิตามินอีชนิดทาภายในอก และยาหลอกเมื่อประเมินโดยใช้เกณฑ์ทางคลินิก (CTC version 2.0) พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p = 1.00$ )

**บทสรุป :** จากผลการศึกษาดังกล่าว ไม่สามารถสรุปได้ว่าโดยแท้จริงแล้วคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ของวิตามินอี สามารถลดการบาดเจ็บของเนื้อเยื่อผิวหนังที่เกิดจากการฉายรังสี ชนิด ionizing radiation ได้หรือไม่ แต่จากการประเมินโดยใช้เกณฑ์ทางคลินิกอาจสรุปเบื้องต้นได้เพียงว่า วิตามินอีชนิดทาภายในอกไม่สามารถทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของผิวหนังจาก ionizing radiation ได้แตกต่างจากยาหลอก และไม่สามารถนำมาใช้ให้เกิดประโยชน์กับผู้ป่วยในทางคลินิกได้



## ABSTRACT

### ***Purpose:***

This study was initiated to evaluate the effect of topical vitamin E on the reduction of ionizing radiation induced skin reaction in head and neck cancer patients compared to placebo and the reliability of the application in clinical practice.

### ***Setting:***

Division of Radiation Oncology, Department of Radiology, King Chulalongkorn Memorial Hospital

### ***Research design:***

Prospective randomized controlled trial

### ***Patients and Methods:***

The study started from December 1, 2002 to July 31, 2003. There were 29 eligible patients. The applications of vitamin E cream and placebo were done in the same patients on each side of the face and neck areas that were irradiated, left / right. The application of both cream were randomized and without naming the drugs on the tube, colored tape were used to suggest the drug applications for preventing any bias. The drug applications have been done starting from the 1<sup>st</sup> week of the initiation of radiation, applied everyday, 2 times per day until the radiation dose reached 50 Gy.

The skin was evaluated by the same person in the 1<sup>st</sup> week of radiation and then weekly during irradiation period until the dose of radiation reached 50 Gy.

### ***Results:***

The results show no significant statistical difference of the skin reaction to ionizing radiation of irradiated areas that were applied with topical vitamin E compared to placebo, evaluated under the same clinical criteria (CTC version 2.0) ( $p = 1.00$ )

### ***Conclusion:***

From the data, it cannot be concluded whether or not the anti-free radical effect of vitamin E can reduce tissue injury from ionizing radiation. However, from the clinical criteria, it may be initially concluded that the topical vitamin E cream does not make any difference of skin alteration caused by ionizing radiation when compared to the placebo; and there is no benefit of topical vitamin E applications in clinical practice.

## INTRODUCTION

The collected data show that from the year 1998 to 2002, there was a rise in number of cancer patients treated at the Division of Radiation Therapy, Department of Radiation, King Chulalongkorn Memorial Hospital. The incidence is about 250 to 400 patients per year with an increasing annual trend.

Recently, there are many therapeutic options for cancer treatment such as surgery, radiation, chemotherapy or combined modalities of treatments. For head and neck cancer, we use the high radiation dose to control the disease in the curative condition. However, the higher the radiation dose is used, the more radiation side effects occur.

From basic radiation biology, we know that water is the most abundant substance in irradiated tissue. And water is the substance with which an ejected electron is most likely to interact. The interaction causes the formation of reactive oxygen species such as superoxide radical ( $O_2^-$ ), hydroxyl radical ( $HO^-$ ), hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) etc. These molecules carry an unpaired orbital electron in the outer shell, and they are therefore very reactive. These free radicals cause tissue damage especially for rapid dividing tissue such as the skin more than slowly dividing tissue.<sup>(1)</sup>

When the skin is irradiated, the ionizing radiation injures and kills actively proliferating cells in the basal cell layer of the epidermis. These differentiated basal cells are no longer dividing and the remaining basal cells undergo cornification and shed at an increased rate. The

non-proliferating basal cells are stimulated and their cell cycles are shortened. Subsequent peeling of the skin is defined as dry desquamation. If the basal layer has been repaired prior to desquamation, the skin surface remains dry and the patients may experience dry, flaking skin and pruritus in the treated area. If new cell proliferation does not occur and the basal cell does not recover, moist desquamation with exposed dermis and oozing of serum occurs.<sup>(1)</sup> This side effect increases the risk of infection, discomfort, and pain. Without proper management, the complication possibly necessitated the interruption of treatment plan to allow for healing. This can compromise the final outcome of cancer therapy.

Regarding the skin care during the radiation treatment, various topical agents were used to reduce skin reaction such as aloe vera, corn starch, steroid cream, etc.<sup>(2,8,11,14,15,16,17,18,19)</sup> But no definite conclusion that which agents should be used as the standard of care for reducing skin damage from ionizing radiation. This study is performed with the purpose to find topical agent that can solve this problem.

Vitamin E acts as a free radical scavenger that prevents tissue damage from excessive free radical molecules. In the past, many studies tried to evaluate this effect of topical vitamin E and its efficacy in reducing skin hyperpigmentation from sunlight (ultraviolet radiation). The results suggested that topical vitamin E can reduce hyperpigmentation of the skin from ultraviolet radiation. No study about the effect of this agent in relation to ionizing



radiation. However, from basic radiation biology, both the ultraviolet and ionizing radiations can cause free-radical formations, so this study hypothesized that topical vitamin E may reduce tissue injury from ionizing radiation as it acted in the ultraviolet trials.

In the concern of the safety dose of vitamin E, the Academy of Sciences reported that, the daily tolerable upper intake level for adult is 1,000 mg of vitamin E (1,500 IU of natural vitamin E or 1,000 IU of synthetic vitamin E). However, no information about the upper most concentration of topical vitamin E is suggested.<sup>(12)</sup> But the collected data from the topical vitamin E in the ultraviolet trials, 5% tocopherol acetate are effective and cause no serious side effects.<sup>(6,7)</sup>

The reported side effect of topical vitamin E preparation is contact dermatitis which may be directly from vitamin E or other ingredients in the cream base, for example moisturizer or preservative agents.<sup>(13)</sup>

#### POPULATIONS AND METHODS:

From December 1, 2002 to July 31, 2003 we included 32 head and neck cancer patients who were treated at The Division of Radiation therapy, Department of Radiation, King Chulalongkorn Memorial Hospital that met the inclusion criteria. These patients had been proven to have cancer by biopsy without previous surgical treatment on the head and neck regions. The patients were planned to be treated with radiation, with or without mask. The radiation therapy was given alone or

combined with chemotherapy. The total radiation dose must be at least 50 Gy. Also, the patients had to have good performance status (EGOG 0,1 or 2). There must be no skin rash or ulcer at the irradiated areas. The cancer had no involvement of the skin of the irradiated regions. The patients were mature and could decide to enter the study by themselves. Their informed-consents were completely written. The exclusion criteria were that the patients who had cancer other than head and neck region. The patients who had inflammatory or connective tissue disorder of the skin or the ones with complicated medical disease were excluded. Patients with mental incompetence or psychological disorder must be excluded.

**Radiation therapy Equipment:** The used radiation machine was Linear Accelerator with 6&10 MV photon energy or Cobalt-60 machine. Electron beam therapy may be used for posterior aspect of the treatment field to limit the dose to the spinal cord. Selection of appropriate electron energy will depends on the thickness of the neck and the depth of the disease. Brachytherapy was not permitted in the study. Treatment distance minimum 80 SSD/SAD was allowed. Immobilization devices such as plastic mask could be used. Simulation of the initial field and any planned boost fields were required. Appropriate immobilization devices should be used. Conventional fractionation was used. Radiation treatment was continued until the dose reached 50 Gy.

**Drug therapy:** The drugs used in this study were produced in cream base form: vitamin E

cream and placebo. Both of them contained almost the same ingredients which were moisturizers that protect skin hydration and reduce transepidermal water loss, except vitamin E that was not contained in the placebo. The production of the drug was controlled by the pharmacist of the Drug Production Division, Department of Pharmaceutical King Chulalongkorn Memorial Hospital.

**Treatment:** The applications of vitamin E cream and placebo were done in the same patients by divided their face and neck areas that were irradiated into 2 sides, left / right. The drug applications were done during the 1<sup>st</sup> week of the initiation of radiation, they were applied every day, 2 times per day until the radiation dose reached 50 Gy. The application of both creams were randomized without naming the drugs on the tubes. Colored tapes were used to suggest the drug applications for preventing bias. Regarding the out-patients, the drugs were applied by the patients themselves. For the admitted cases, the nurses in the admission units applied the drugs for them. Both groups of the patients were randomized with the same blind technique.

The skin evaluation was done by the same person from the 1<sup>st</sup> week of treatment and then weekly until the 5<sup>th</sup> week of irradiation (total dose 50 Gy). The skin was evaluated using the common toxicity criteria version 2.0, the standard criteria for evaluation of the side effects caused by radiation treatment.

#### Common toxicity criteria version 2.0

Grade 0	Normal skin
Grade 1	Faint erythema or dry desquamation
Grade 2	Moderate to brisk erythema or patchy moist desquamation, mostly confined to skin folds and skin crease, moderate edema
Grade 3	Confluent moist desquamation, 1.5 cm.diameter; not confined to skin folds, pitting edema
Grade 4	Skin necrosis or ulceration of full thickness dermis; may include bleeding not induced by minor trauma

\* The test for the agreement of skin evaluation between the two observers, and analyzed by SPSS program version 2.0 was done. The results show that for the interobserver test, the agreement was moderate; however for intraobserver test there was a good agreement.

The final outcome was analyzed: the degree of skin change between the irradiated skin that applied with vitamin E cream versus the area applied by the placebo. The comparison was done during each week and between the weeks of radiation treatment.

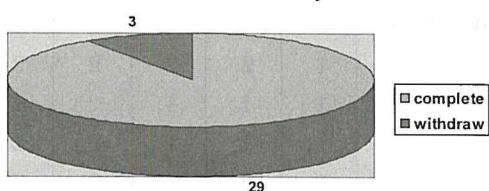
The treatment was stopped when the patients wanted to withdraw or stop radiation treatment due to any cause such as severe medical or surgical conditions. If the patients had an allergy to the topical drugs (vitamin E cream or placebo) they were not allowed to continue using that drugs and were given proper treatment.

## RESULTS:

**I. Characteristics of the patients:** 32 patients were recruited. Three of them were withdrew from the study (2 from the patients' preference, 1 because of drug allergy). (Table 1 and Figure 1). The remaining 29 patients received complete treatment, 8 were admitted patients and 11 were out patients. (Table 2)

Treatment	Number of the H&N cancer patients
Complete treatment	29
Withdraw	3
<b>Total</b>	<b>32</b>

**Table 1:** The number of head and neck cancer patients recruited in the study



**Figure 1:** The number of head and neck cancer patients recruited in the study

Patients	Number of patients
Admitted cases	18
OPD cases	11

**Table 2:** The number of head and neck cancer patients who received complete treatment

**II. Characteristics of the head and neck cancer patients who received complete treatment:**

21 male and 8 female patients were recruited; their age ranged from 20 to 80 years. The patients had good performance status. Most patients had stage 3 and 4 disease. Their most common histology was squamous cell carcinoma.

ECOG	Number of patients
0	0
1	7
2	22
3	0
4	0
<b>Total</b>	<b>29</b>

**Table 3:** ECOG performance of the patients

Stage	Number of patients	Percentage (%)
1	3	10.35
2	3	10.35
3	11	37.29
4	12	41.38
<b>Total</b>	<b>29</b>	<b>100.00</b>

**Table 4:** Stage of the head and neck cancer patients who received complete treatment

Histology	Number of patients	Percentage (%)
SCCA		
: well diff.	6	20.96
: moderate diff	5	17.24
: poorly diff.	2	6.90
: not specific	4	13.79
Undifferentiated	10	34.48
Lymphoma	1	3.45
Sarcoma	1	3.45
<b>Total</b>	<b>29</b>	<b>100.00</b>

**Table 5:** Histology of cancer

### Clinical evaluation of radiation dermatitis and statistical analysis

**Comparison in each week:** There was no difference of skin alterations between the irradiated skin that applied with vitamin E cream *versus* those applied with placebo (Table 6). The data were analyzed by Non-parametric test (Wilcoxon Signed Rank Test)  $p = 1.00$

**Comparison between each week:** There was no difference of skin alterations between the irradiated skin that applied with vitamin E cream *versus* those applied with placebo (Table 7). The data were analyzed by Non-parametric test (Friedman Test)  $p = 1.00$

Patients' number	Grading of RT dermatitis									
	Wk1		Wk2		Wk3		Wk4		Wk5	
	L	R	L	R	L	R	L	R	L	R
1	0	0	0	0	1	1	1	1	2	2
2	0	0	0	0	1	1	1	1	2	2
3	0	0	0	0	1	1	1	1	2	2
4	0	0	0	0	0	0	1	1	2	2
5	0	0	1	1	1	1	2	2	2	2
6	0	0	0	0	1	1	1	1	2	2
7	0	0	0	0	1	1	1	1	2	2
8	0	0	0	0	0	0	1	1	2	2
9	0	0	0	0	1	1	2	2	2	2
10	0	0	0	0	1	1	1	1	2	2
11	0	0	0	0	1	1	1	1	2	2
12	0	0	0	0	1	1	2	2	2	2
13	0	0	0	0	1	1	2	2	2	2
14	0	0	0	0	1	1	1	1	2	2
15	0	0	0	0	1	1	1	1	2	2
16	0	0	0	0	1	1	1	1	2	2
17	0	0	0	0	1	1	2	2	3	3
18	0	0	0	0	1	1	1	1	2	2
19	0	0	1	1	1	1	2	2	2	2
20	0	0	1	1	1	1	2	2	2	2
21	0	0	0	0	1	1	1	1	2	2
22	0	0	1	1	1	1	1	1	2	2
23	0	0	0	0	1	1	1	1	2	2
24	0	0	0	0	1	1	1	1	2	2
25	0	0	0	0	1	1	1	1	2	2
26	0	0	0	0	1	1	1	1	2	2
27	0	0	0	0	1	1	1	1	2	2
28	0	0	1	1	1	1	1	1	2	2
29	0	0	0	0	1	1	2	2	3	3

**Table 6:** Grading of skin alteration from ionizing radiation in each week

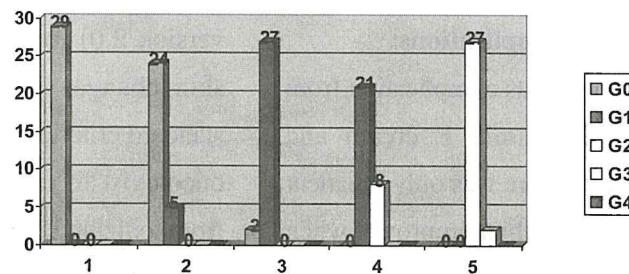


Figure 2: Grading of skin alteration from ionizing radiation in each week

H & N cancer Patient	Difference of grading of radiation dermatitis				
	Week 1	Week 2	Week 3	Week 4	Week 5
1	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0
13	0	0	0	0	0
14	0	0	0	0	0
15	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0
17	0	0	0	0	0
18	0	0	0	0	0
19	0	0	0	0	0
20	0	0	0	0	0
21	0	0	0	0	0
22	0	0	0	0	0
23	0	0	0	0	0
24	0	0	0	0	0
25	0	0	0	0	0
26	0	0	0	0	0
27	0	0	0	0	0
28	0	0	0	0	0
29	0	0	0	0	0

Table 7: The difference of grading of skin alteration from ionizing radiation between 1<sup>st</sup> to 5<sup>th</sup> weeks



### Complication of drug applications:

There was no serious complication from the applications of vitamin E cream and placebo in this study. There was only 1 patient who had mild skin rash which improved when the drug application was stopped.

### Discussions:

The severity of skin alteration from ionizing radiation depends on many factors such as total dose of ionizing radiation, condition of skin of each patients, the surgical treatment that disrupts the blood supply of the irradiated skin or combination chemotherapy etc. If the skin damage is severe, it increases the risk of infection, discomfort, and pain to the patient and possibly necessitate the interruption of treatment plan to allow for healing. This can compromise the final outcome of cancer therapy. Therefore, the most effective treatment with the least complication is the mainstay of treatment. So this study was initiated to find out the effective topical agent that can reduce the severity of skin damage from ionizing radiation, the common complication of radiation treatment, especially in the head and neck cancer that require high radiation dose to control the disease for curative aim.

The comparison of the irradiated areas in the same patient lets the homogeneity of the studied regions and decreases factors that may affect the skin reaction to radiation. So, any difference that occurs should be the true difference and reliable.

This study used the clinical criteria (CTC

version 2.0) for evaluation of the severity of skin change. This clinical criteria are the standard criteria, accepted among the radiation oncologist to evaluate the skin complication from ionizing radiation. The criteria are graded into 5 levels, 0 to 4, depending on the findings. The evaluation was made by looking and touching. We did not use a colorimeter, the equipment that is used by dermatologists to evaluate the skin color. Technically, a colorimeter reports the level of skin color by number. So the difference can be sensitively demonstrated and may detect the difference that cannot be demonstrated by the use of clinical criteria. The reason that we did not use this equipment is, if the difference was detected by the colorimeter it did not make any clinical difference, since it has no clinical importance and made no difference for treatment. Therefore, in clinical practice, a radiation oncologist uses the clinical criteria which are easy, comfortable and give accurate information for evaluating the skin complication that is caused from radiation treatment.

The results of this study show that the skin reaction, evaluated by clinical criteria (CTC version 2.0) comparing the areas applied with vitamin E cream *vs.* placebo, had no statistical significant difference by Non parametric test (Wilcoxon Sign Rank Test and Friedman Test),  $p = 1.00$ .

From the data, it cannot be concluded whether the anti-free radical effect of vitamin E can reduce tissue injury from ionizing radiation or not. But from the clinical criteria,



it may be initially concluded that topical vitamin E cream cannot make the difference of skin alteration caused by ionizing radiation when compared with the placebo and there is no benefit of topical vitamin E applications in clinical practice.

*Limitation of the study:*

This study excluded patients who were previously treated by surgical treatment to prepare the most homogeneity of the study area. Because the blood supply of surgical regions will be disrupted, causing the difference of the skin at this area from the normal skin that may cause the false positive result. So, the number of recruited patients was small when compared with the incidence of the head and neck cancer patients. This small number of cases might have prevented the difference to be demonstrated.

The one factor that affected the reliability of this study is the right of drug applications. We tried to control this factor in the admitted cases that the nurse would apply the drug for the patients and the close observation could be done. But for the OPD cases, the reliability mainly depended on the compliance of the patients and we tried to control the reliability by close follow-up.

The follow-ups were made until the radiation dose reached 50 Gy. Higher

radiation dose may demonstrate the clearer differences, but at the radiation level higher than 50 Gy different radiation technique is used because of the difference in disease extension. This would make the difference in the study area. Therefore, this study was limited the skin evaluation at the radiation dose of 50 Gy.

**Suggestion for further work:**

Although this study cannot demonstrate the difference of skin alteration from ionizing radiation between the areas applied by vitamin E cream versus placebo, we observed that the degree of skin change was not severe. Most of the skin changes were grade 1 and 2. Few cases had grade 3 skin complication. No serious complication was demonstrated. From the data, we hypothesized that moisturizing agent that was the ingredients of cream base of both drugs might decrease the severity of skin damage, probably by reducing the transepidermal water loss or from other mechanism. Therefore, the study compared the application of this moisturizer versus no topical treatment on the irradiated skin could prove this hypothesis. If the hypothesis is proved true, we can find the effective, cheap and easily produced topical agents that can be used in clinical practice.

### Acknowledgement:

I would like to express my sincere gratitude and deep appreciation to every person associated with this research, as follows:

I gratefully acknowledgement to all my staff of the Division of Radiation Oncology, King Chulalongkorn Memorial Hospital as follow for their encouragement, assistance and patience.

Also, I sincerely thanks Ratchadapisek-

sompotch Fund of Faculty of Medicine Chulalongkorn University for being the sponsor for this research.

And, I pass my appreciation to all the technicians, nurses and associated people who participate so well in the study.

Finally, I would like to offer my special thanks to all my patients who were very cooperative and taught me so much.

### REFERENCES

- Ellen Sitton. Early and late radiation-induced skin alteration : mechanism of skin change. *Oncology Nursing Forum* 1992; 19 : 801-807
- Ellen sitton. Early and late radiation-induced skin alteration : Nursing care of irradiated skin. *Oncology Nursing Forum* 1992; 19 : 907-912
- Trevithick, J.R., et. al. Reduction of sunburn damage to skin by topical application of vitamin E acetate following exposure to ultraviolet B radiation : effect of delaying application or of reducing concentration of vitamin E acetate applied. *Scanning Microscopy* 1993; 17 : 1296-1281
- Trevithick, J.R., et .al. Topical tocopherol acetate reduces post-UVB, sunburn associated erythema, edema and skin sensitivity in hairless mice. *Arch.Biochem.Biopsy* 1992 ; 296 : 575-582
- Darr, D., Dunston et al. Effectiveness of antioxidant (vitamin C and E) with and without sunscreen as topical photoprotectants. *Acta.Derm.Venerol (Stock)* 1996 ;74 : 264-268
- Bissett, D.L. et al. Photoprotective effect of superoxide scavenging antioxidant against ultraviolet radiation-induced chronic skin change in the hairless mouse. *Photodermatol.Photoimmunol.Photomed.*1990 ; 7 : 56-62
- Chalisa Savansan. The effect of topical vitamin C, vitamin E and indomethacin on Uvb-induced erythema. A thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement for the Degree of Master of Science in Medicine : 1998
- Stewate, m.s.. et. al. Antioxidant nutrient protect against UVB-induced oxidative damage to DNA of mouse keratinocytes in culture. *J.invest.Dermatol.*1996; 106 : 1086-1089
- Frayer,M.J. 1993. Evidence for the photoprotective effect of vitamin E. *Photochem. Photobiol.* 58:304-312
- Chan,A.C. 1992. Partners in defense, vitamin E and vitamin C. *Can.J. Physiol. Pharmacol.* 71:725-731
- <http://www.lef.org/prod-hp/abstracts/php-ab426.html>
- Leslie S. Baumann, MD, and James Spencer MD, MS. 1999. The Effect of Topical Vitamin E on the Cosmetic Appearance of Scar. *Dermatolol Surg*; 25:311-315
- Margolin SG, et al. Management of radiation-induced moist skin desquamation using hydrocolloid dressing. *Cancer Nurs* 1990 Apr;13 (2):71-80