

# KLINICKÁ ONKOLOGIE

## Z obsahu:

Waldenströмова makroglobulinémie – klinické projevy a přehled léčby  
včera, dnes a zítra

Kvantitatívne profilovanie génov asociovaných s dráhami vzniku  
mozgových nádorov

Hepatosplenic T-cell lymphoma presented with massive splenomegaly  
and pancytopenia – a case report





**KEYTRUDA<sup>®</sup>**  
(pembrolizumab) for Injection 100 mg

## KEYTRUDA<sup>®</sup> - IMUNOTERAPIE PRO VAŠE PACIENTKY S TRIPLE- NEGATIVNÍM KARCINOMEM PRSU. 1

### Zkrácená informace o léčivém přípravku

**Název přípravku:** KEYTRUDA<sup>®</sup> 25 mg/ml koncentrát pro infuzní roztok. **Kvalitativní a kvantitativní složení:** Injekční lahvička se 4 ml koncentrátu obsahuje pembrolizumabum 100 mg. *Pomocné látky:* Sacharóza, histidin, polysorbát 80, monohydrát hydrochloridu-histidinu, voda pro injekci. **Indikace:** Přípravek KEYTRUDA je indikován k léčbě: 1. v monoterapii dospělých a dospívajících ve věku 12 let a starších s pokročilým (neresekovatelným nebo metastazujícím) melanomem; 2. v monoterapii k adjuvantní léčbě dospělých a dospívajících ve věku 12 let a starších s melanomem stadia IIB, IIC nebo III, kteří podstoupili kompletní resekci; 3. v monoterapii v první linii metastazujícího nemalobuněčného karcinomu plic (NSCLC) u dospělých, jejichž nádory exprimují PD-L1, se skóre nádorového podílu (TPS)  $\geq 50\%$  bez pozitivních nádorových mutací EGFR nebo ALK; 4. v kombinaci s chemoterapií pemetrexedem a platinou v první linii u metastazujícího neskvamózního NSCLC u dospělých, jejichž nádory nevykazují pozitivní mutace EGFR nebo ALK; 5. v kombinaci s karboplatinou a (nab)paklitaxelem v první linii u metastazujícího skvamózního NSCLC u dospělých; 6. v monoterapii u lokálně pokročilého nebo metastazujícího NSCLC u dospělých, jejichž nádory exprimují PD-L1 s TPS  $\geq 1\%$ , a kteří již byli léčeni nejméně jedním chemoterapeutickým režimem. Pacienti s pozitivními nádorovými mutacemi EGFR nebo ALK musí být také předtím, než dostanou přípravek KEYTRUDA, léčeni cílenou terapií; 7. v monoterapii u dospělých a pediatrických pacientů od 3 let s relabujícím nebo refrakterním klasickým Hodgkinovým lymfomem, u nichž selhala autologní transplantace kmenových buněk (ASCT), nebo byli léčeni alespoň dvěma předchozími terapiemi, přičemž ASCT není možností léčby; 8. v monoterapii u lokálně pokročilého nebo metastazujícího uroteliálního karcinomu u dospělých, kteří již byli léčeni chemoterapií obsahující platinu; 9. v monoterapii u lokálně pokročilého nebo metastazujícího uroteliálního karcinomu u dospělých, u kterých není chemoterapie obsahující cisplatinu vhodná a u kterých nádory vykazují expresi PD-L1 s kombinovaným pozitivním skóre (CPS)  $\geq 10$ ; 10. v monoterapii nebo v kombinaci s chemoterapií platinou a fluoruracilem (5-FU) v první linii u metastazujícího nebo neresekovatelného recidivujícího skvamózního karcinomu hlavy a krku (HNSCC) u dospělých, jejichž nádory exprimují PD-L1 s CPS  $\geq 1$ ; 11. v monoterapii u recidivujícího nebo metastazujícího HNSCC u dospělých, jejichž nádory exprimují PD-L1 s TPS  $\geq 50\%$ , a kteří podstupují nebo podstoupili chemoterapii obsahující platinu; 12. u dospělých v kombinaci s axitinibem v první linii u pokročilého renálního karcinomu (RCC); 13. v kombinaci s lenvatinibem v první linii u pokročilého RCC u dospělých; 14. v monoterapii k adjuvantní léčbě dospělých s RCC se zvýšeným rizikem recidivy nebo po nefrektomii, nebo po nefrektomii a resekci metastatických lézí; 15. Nádory MSI-H/dMMR. *Kolorektální karcinom (CRC), v monoterapii pro dospělé s MSI-H nebo dMMR CRC:* - v první linii metastazujícího CRC, - po předchozí kombinované léčbě založené na fluoropyrimidinu u neresekovatelného nebo metastazujícího CRC; *Nádory kromě CRC, v monoterapii k léčbě následujících MSI-H nebo dMMR nádorů u dospělých s:* - pokročilým nebo recidivujícím endometriálním karcinomem, u kterých došlo k progresi onemocnění při nebo po předchozí léčbě založené na platině v jakémkoli režimu léčby a kteří nejsou kandidáty pro kurativní chirurgickou léčbu nebo radioterapii, - neresekovatelnými nebo metastazujícími nádory žaludku, tenkého střeva nebo žlučových cest, u kterých došlo k progresi onemocnění během nebo po alespoň jedné předchozí léčbě; 16. u kombinaci s chemoterapií na bázi platinu a fluoropyrimidinu v první linii k léčbě pacientů s lokálně pokročilým neresekovatelným nebo metastazujícím karcinomem jícnu nebo HER-2 negativním adenokarcinomem gastroezofageální janky u dospělých, jejichž nádory exprimují PD-L1 s CPS  $\geq 10$ ; 17. v kombinaci s chemoterapií v neoadjuvantní léčbě a následně po chirurgické léčbě v monoterapii v adjuvantní léčbě u dospělých s lokálně pokročilým nebo časným stadiem triple-negativního karcinomu prsu (TNBC) s vysokým rizikem recidivy; 18. v kombinaci s chemoterapií u lokálně rekurentního neresekovatelného nebo metastazujícího TNBC u dospělých, jejichž nádory exprimují PD-L1 s CPS  $\geq 10$  a kteří dosud nebyli léčeni chemoterapií pro metastatické onemocnění; 19. v kombinaci s lenvatinibem u pokročilého nebo rekurentního endometriálního karcinomu u dospělých, u nichž došlo k progresi onemocnění během předchozí léčby terapií obsahující platinu v jakémkoli režimu nebo po ní a kteří nejsou kandidáty na chirurgický zákrok nebo ozařování; 20. v kombinaci s chemoterapií s nebo bez bevacizumabu u perzistentního, recidivujícího nebo metastazujícího karcinomu děložního hrdla u dospělých, jejichž nádory exprimují PD-L1 s CPS  $\geq 1$ . **Dávkování a způsob podání:** Doporučená dávka přípravku KEYTRUDA u dospělých je 200 mg každé 3 týdny nebo 400 mg každých 6 týdnů. Doporučená dávka přípravku KEYTRUDA v monoterapii u pediatrických pacientů ve věku od 3 let výše s cHL nebo pacientů od 12 let výše s melanomem je 2 mg/kg tělesné hmotnosti (bw - bodyweight) (až do maximální dávky 200 mg) každé 3 týdny. Dávka se podává intravenózní infuzí po dobu 30 minut. Při podávání přípravku KEYTRUDA v rámci kombinace s chemoterapií je nutno přípravek KEYTRUDA podávat první. Pacienty je nutno přípravkem KEYTRUDA léčit do progresu nemoci nebo do vzniku nepříjemné toxicity (a až po maximální dobu trvání léčby, pokud je to pro indikaci specifikováno). Bly pozorovány atypické odpovědi (tj. počáteční přechodné zvětšení nádoru nebo vznik nových malých lézí během prvních několika měsíců, následované zmenšením nádoru). Klinicky stabilní pacienty s počátečními známkami progresu nemoci se doporučuje léčit dál, dokud se progres nepotvrdí. Další podrobné informace ohledně dávkování a trvání léčby v jednotlivých indikacích udává Souhrn údajů o přípravku (SPC). Dávkování přípravků v kombinaci s pembrolizumabem viz SPC pro souběžně použitá léčiva. **Zvláštní upozornění:** Vyhodnocení stavu PD-L1: Při hodnocení stavu tumoru s ohledem na PD-L1 je důležité zvolit dobře validovanou a robustní metodiku. Aby se zlepšila sledovatelnost biologických léčivých přípravků, má se přehledně zaznamenat název podaného přípravku a číslo šarže. **Imunitně zprostředkované nežádoucí účinky:** U pacientů, kterým byl podáván pembrolizumab, se vyskytly nežádoucí účinky související s imunitou, včetně závažných a fatálních, většina z nich byla reverzibilní a zvládla se přerušením podávání pembrolizumabu, podáním kortikosteroidů a/nebo podpůrnou léčbou. Mohou se vyskytnout nežádoucí účinky postihující současně více tělesných systémů, např. pneumonitida, kolitida, hepatitida, nefritida, endokrinopatie, kožní nežádoucí účinky, další nežádoucí účinky podrobně uvedeny v SPC. Pembrolizumab musí být trvale vysazen při jakémkoli imunitně zprostředkovaném nežádoucím účinku stupně 3, který se opakuje, nebo při jakémkoli imunitně zprostředkovaném nežádoucím toxicitě stupně 4, kromě endokrinopatií, které jsou zvládnuty hormonální substitucí. Pembrolizumab může být znovu nasazen po 12 týdnech po poslední dávce přípravku KEYTRUDA, pokud se nežádoucí účinek zlepšil na stupeň  $\leq 1$  a dávka kortikosteroidů byla redukována na  $\leq 10$  mg prednisonu nebo jeho ekvivalentu za den. Léčba pembrolizumabem může u příjemců transplantovaných solidních orgánů zvýšit riziko rejekce, je nutné zvážit benefit/risk. U pacientů s cHL, podstupujících alogenní transplantaci kostní dřeně, byly pozorovány případy GVHD a VOD. **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na léčivou látku nebo na kteroukoli pomocnou látku. **Interakce:** Nebyly provedeny žádné formální farmakokinetické studie lékových interakcí. Pembrolizumab se odstraňuje z oběhu katabolizací, žádné metabolické lékové interakce se nepředpokládají. Před nasazením pembrolizumabu je nutno se vyhnout podávání systémových kortikosteroidů nebo imunosupresiv, a to kvůli jejich potenciálnímu vlivu na farmakodynamickou aktivitu a účinnost pembrolizumabu. Systémové kortikosteroidy nebo jiná imunosupresiva však lze používat po nasazení pembrolizumabu k léčbě imunitně zprostředkovaných nežádoucích účinků. **Těhotenství, kojení:** Údaje o podávání pembrolizumabu těhotným ženám nejsou k dispozici. Ženy ve fertilním věku musí během léčby a nejméně 4 měsíce po poslední dávce pembrolizumabu používat účinnou antikoncepci. Není známo, zda se pembrolizumab vylučuje do lidského mateřského mléka. Je nutno se rozhodnout, zda přerušit kojení nebo vysadit pembrolizumab. **Nežádoucí účinky:** **Velmi časté ( $\geq 1/10$ ):** infekce močových cest, anémie, neutropenie, trombocytopenie, leukopenie, hypotyreóza, snížení chuti k jídlu, hypokalémie, insomnie, bolest hlavy, závrať, periferní neuropatie, dysgeuzie, hypertenze, dyspnoe, kašel, dysfonie, průjem, bolest břicha, nauzea, zvracení, zácpa, vyrážka, pruritus, alopecie, muskuloskeletální bolest, myozitida, artralgie, bolest v končetině, únava, astenie, edém, pyrexie, zvýšení ALT, AST, lipázy a kreatininu v krvi; **Časté ( $\geq 1/100$  až  $< 1/10$ ):** pneumonie, lymfopenie, febrilní neutropenie, reakce spojená s infúzí, hypotyreóza, tyreoiditida, adrenální insuficience, hypokalémie, hypokalciemie, hyponatremie, letargie, suché oko, srdeční arytmie (včetně fibrilace síní), pneumonitida, kolitida, suchá ústa, hepatitida, těžké kožní reakce, suchá kůže, erytém, vitiligo, ekzém, akneiformní dermatitida, myozitida, artritida, nefritida, akutní poškození ledvin, onemocnění podobné chřipce, zimnice, hyperkalciemie, zvýšení ALP, bilirubinu v krvi. Udána vždy nejvyšší frekvence výskytu. Přípravek KEYTRUDA, v monoterapii nebo v kombinované terapii, je nutno trvale vysadit při nežádoucích účincích stupně 4 nebo recidivujících imunitních nežádoucích účincích stupně 3, pokud není v tabulce 1 SPC uvedeno jinak. Podrobnější informace o výskytu a úpravách dávky při léčbě v monoterapii nebo v kombinaci s chemoterapií, axitinibem či lenvatinibem viz SPC přípravků. Při hematologické toxicitě stupně 4, pouze u pacientů s cHL, se přípravek KEYTRUDA musí vysadit do zlepšení nežádoucích účinků na stupeň 0 až 1. **Upozornění:** Pembrolizumab může mít mírný vliv na schopnost řídit motorová vozidla a obsluhovat stroje. Po podání pembrolizumabu byla hlášena únava. **Doba použitelnosti:** 2 roky. Z mikrobiologického hlediska má být přípravek, jakmile se naředí, použit okamžitě. Není-li použit okamžitě, chemická a fyzikální stabilita přípravku po otevření před použitím byla prokázána na dobu 96 hodin při 2 až 8 °C. **Uchovávání:** Uchovávejte v chladničce (2 až 8 °C). **Balení:** Jedna injekční lahvička 10ml se 4 ml koncentrátu obsahuje 100 mg pembrolizumabu. **Držitel rozhodnutí o registraci:** Merck Sharp & Dohme B.V., Waarderweg 39, 2031 BN Haarlem, Nizozemsko. Kontaktní e-mail: [dproc\\_czechslovak@merck.com](mailto:dproc_czechslovak@merck.com). **Registrační číslo:** EU/1/15/1024/002. **Datum poslední revize textu:** 16. 3. 2023. RČN 000024895-CZ; 000024622-CZ. Způsob výdeje: Vázán na lékařský předpis. Způsob úhrady: Léčivý přípravek je hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění (indikace 1,2,3,4,5,8,10,15-pouze MSI-H/dMMR metastazující CRC v 1. linii, 17, 18, 19) více na [www.sukl.cz](http://www.sukl.cz). Dříve než přípravek předepíšete, seznamte se prosím s úplným souhrnem údajů o přípravku.

**Reference:** 1. SPC LP Keytruda na [www.sukl.cz](http://www.sukl.cz), datum revize textu 16. 3. 2023.



Copyright © 2023 Merck & Co., Inc., Rahway, NJ, USA a přidružené společnosti. Všechna práva vyhrazena.  
Merck Sharp & Dohme s.r.o., Na Valentince 3336/4, 150 00 Praha 5, Česká republika, IČ: 028462564  
Tel.: +420 277 050 000, e-mail: [dproc\\_czechslovak@merck.com](mailto:dproc_czechslovak@merck.com), [www.MSD.cz](http://www.MSD.cz)  
CZ-0BR-00019 (2.0), květen 2023

# Obsah | Contents

## EDITORIAL

<b>Waldenströмова makroglobulinemie, monoklonální gamapatie a Dr. Kyle</b>	<b>174</b>
--	------------

## PŘEHLEDY | REVIEWS

<b>Waldenströмова makroglobulinemie – klinické projevy a přehled léčby včera, dnes a zítra</b>	<b>177</b>
--	------------

Waldenström's macroglobulinemia – clinical symptoms and review of therapy yesterday, today and tomorrow  
Adam Z., Pour L., Zeman D., Krejčí M.\*, Boichuk I., Krejčí M.\*\*, Štork M., Sandecká V., Král Z.

\*Marta, \*\*Martin

<b>Etnické rozdiely v incidencii zhubných nádorov detí</b>	<b>192</b>
--	------------

Ethnic differences in the incidence of childhood cancer

Bician P., Mego M.

<b>Skóre polygenního rizika (PRS) a jeho potenciál pro stratifikaci rizika karcinomu prsu</b>	<b>198</b>
---	------------

Polygenic risk score (PRS) and its potential for breast cancer risk stratification  
Hovhannisyan M., Kleiblová P., Nehasil P., Soukupová J., Zemánková P., Kleibl Z., Janatová M.

<b>Hypoplastická forma myelodysplastické neoplazie</b>	<b>206</b>
--	------------

Hypoplastic form of myelodysplastic neoplasm

Votavová H., Lenertová Z., Votava T., Beličková M.

## PŮVODNÍ PRÁCE | ORIGINAL ARTICLES

<b>Molekulární testování karcinomu endometria – analýza prvních zkušeností z klinické praxe</b>	<b>215</b>
---	------------

Molecular testing of endometrial carcinoma in real-world clinical practice

Bednaříková M., Hausnerová J., Minář L., Taslerová R., Vinklerová P., Ehrlichová L., Trizuljak J., Blaháková I., Princ D., Matulová K., Ovesná P., Slabý O., Weinberger V.

<b>Kvantitatívne profilovanie génov asociovaných s dráhami vzniku mozgových nádorov</b>	<b>224</b>
---	------------

Quantitative profiling of genes associated with cancer pathways in brain tumors

Majerčíková Z., Dibdiaková K., Galanda M., Galanda T., Richterová R., Kolarovszki B., Račay P., Hatok J.

## KAZUISTIKY | CASE REPORTS

- Psychological care reflecting the specifics of the course of viral infection in SARS-CoV-2 oncological patients with oxygenation disorder – a case series** 234  
Psychologická péče reflektující průběh a specifika virové infekce SARS-CoV-2 u onkologických pacientů s oxypenační poruchou – série kazuistik  
Skřivanová K., Smetana K. Jr, Korbička T., Hudec J., Jaborník M., Procházka V.
- Efekt imunoterapie u mladého pacienta s mismatch repair deficientním karcinomem rekta – kazuistika** 241  
The effect of immunotherapy in a young patient with mismatch repair-deficient rectal cancer – a case report  
Sokop T., Obermannová R.
- Hepatosplenic T-cell lymphoma presented with massive splenomegaly and pancytopenia – a case report** 246  
Hepatosplenický T-lymfom s přítomností masivní splenomegalie a pancytopenie – kazuistika  
Sukrisman L., Rajabto W., Harahap A. S., Faggidae E. S. D. E., Ham M. F., Priantono D.
- AKTUALITA Z JIHOČESKÝCH ONKOLOGICKÝCH DNŮ**
- Nová naděje pro pacienty s metastatickým uveálním melanomem** 252  
Michnová K.

## Léčba předléčených pacientů s mCRC

# Více času na zážitky

**Lonsurf®**  
trifluridin/tipiracil



## Změňte budoucnost vašich pacientů s mCRC

LONSURF® (trifluridin/tipiracil) je indikován pro léčbu dospělých pacientů s metastazujícím kolorektálním karcinomem (mCRC), kteří byli v minulosti léčeni nebo nejsou vhodnými kandidáty pro dostupné terapie zahrnující chemoterapie založené na fluoropyrimidinu, oxaliplatině a irinotekanu, anti-VEGF látek a anti-EGFR látek.

LONSURF® je vyvíjen společností Servier a Taiho, a na základě licence obchodován v příslušných teritoriích.

**TAIHO** TAIHO PHARMACEUTICAL CO., LTD.

**SERVIER**  
moved by you

### Zkrácená informace o přípravku Lonsurf®

**SLOŽENÍ\***: Lonsurf 15 mg/6,14 mg: jedna potahovaná tableta obsahuje trifluridinum 15 mg a tipiracilum 6,14 mg (jako tipiracili hydrochloridum). Lonsurf 20 mg/8,19 mg: jedna potahovaná tableta obsahuje trifluridinum 20 mg a tipiracilum 8,19 mg (jako tipiracili hydrochloridum). **INDIKACE\***: V monoterapii k léčbě dospělých pacientů s metastazujícím kolorektálním karcinomem, kteří byli v minulosti léčeni nebo nejsou vhodnými kandidáty pro dostupné terapie zahrnující chemoterapie založené na fluoropyrimidinu, oxaliplatině a irinotekanu, anti-VEGF látek a anti-EGFR látek. V monoterapii k léčbě dospělých pacientů s metastazujícím karcinomem žaludku včetně adenokarcinomu gastroesofageální jímky, kteří byli dříve léčeni alespoň dvěma režimy systémové terapie pro pokročilé stadium onemocnění. **\*\* DÁVKOVÁNÍ A ZPŮSOB PODÁNÍ\***: Dávkování: Doporučená úvodní dávka je 35 mg/m<sup>2</sup>/dávku, podávaných perorálně dvakrát denně 1. až 5. den a 8. až 12. den každého 28denního cyklu do 1 hodiny po ranním a večerním jídle. Dávka přípravku se počítá podle plochy povrchu těla a nesmí překročit 80 mg v 1 dávce. Úpravy dávky jsou možné podle individuální bezpečnosti a snášenlivosti: je povoleno snížení dávky na minimální hodnotu dávky 20 mg/m<sup>2</sup> dvakrát denně, zvýšení dávky není povoleno poté, co byla snížena. U pacientů s těžkou poruchou funkce ledvin se doporučuje úvodní dávka 20 mg/m<sup>2</sup> dvakrát denně. Na základě individuální bezpečnosti a snášenlivosti je povoleno jedno snížení dávky na minimální dávku 15 mg/m<sup>2</sup> dvakrát denně. Zvýšení dávky není povoleno poté, co byla snížena. **\*\* V případě hematologické a/nebo nehematologické toxicity mají pacienti dodržovat kritéria pro přerušování dávkování, opětovné zahájení léčby a snížení dávky viz Souhrn údajů o přípravku.** **\*\* KONTRAINDIKACE\***: Hypersenzitivita na léčivé látky nebo na kteroukoli pomocnou látku. **ZVLÁŠTNÍ UPOZORNĚNÍ\***: Útlum kostní dřeně: Před zahájením terapie, a dále v intervalech potřebných k monitorování toxicity je nutno provádět vyšetření kompletního krevního obrazu, minimálně však před každým léčebným cyklem. Léčba nesmí být zahájena, je-li absolutní počet neutrofilů < 1,5 × 10<sup>9</sup>/l, počet trombocytů < 75 × 10<sup>9</sup>/l, nebo pokud má pacient nevyřešenou klinicky významnou nehematologickou toxicitu stupně 3 nebo 4 z předchozí léčby. Stav pacienta je třeba pečlivě sledovat a, je-li to klinicky indikováno, mají být nasazena adekvátní opatření. **Gastrointestinální toxicita**: antiemetika, léky proti průjmům a další opatření mají být nasazena, je-li to klinicky indikováno, úpravy dávkování (odložení a/nebo snížení) se mají aplikovat tak, jak je třeba. **Porucha funkce ledvin**: Přípravek Lonsurf se nedoporučuje k použití u pacientů s terminálním stadiem onemocnění ledvin (s clearance kreatininu [CrCl] < 15 ml/min nebo vyžadujících dialýzu). **\*\* Pacienti s poruchou funkce ledvin mají být pečlivě monitorováni v průběhu léčby přípravkem Lonsurf®; pacienti se středně těžkou a těžkou poruchou funkce ledvin mají být častěji monitorováni kvůli hematologické toxicitě.** **Porucha funkce jater**: přípravek Lonsurf se nedoporučuje k použití u pacientů s výchozí středně těžkou nebo těžkou poruchou funkce jater. **Proteinurie**: doporučuje se sledovat proteinurii za pomoci diagnostického průzkumu pro analýzu moči před zahájením a během léčby. **Pomocné látky**: laktosa, **INTERAKCE\***: Opatrnosti je zapotřebí při používání léčivých přípravků, které jsou substráty pro nukleosidové transportéry CNT1, ENT1 a ENT2, inhibitory OCT2 a MATE1, a substráty lidské thymidin-kinázy (zidovudin). **FERTILITA\*, TĚHOTENSTVÍ A KOJENÍ\***: Nedoporučuje se. **ANTIKONCEPCE\***: Muži i ženy musí používat účinnou antikoncepci v průběhu léčby a ještě 6 měsíců po ukončení léčby. **ÚČINKY NA SCHOPNOST ŘÍDIT A OBSLUHOVAT STROJE\***: může být pozorována únava, závratě nebo malátnost. **NEŽÁDOUCÍ ÚČINKY\***: **Velmi časté**: Neutropenie, leukopenie, anémie, trombocytopenie, snížená chuť k jídlu, průjem, nauzea, zvracení, únava. **Časté**: Infekce dolních cest dýchacích, febrilní neutropenie, lymfopenie, hypalbuminemie, dysgezie, periferní neuropatie, dušnost, bolest břicha, zácpa, stomatitida, orální poruchy, hyperbilirubinémie, syndrom palmoplantární erythrodysestezie, vyrážka, alopecie, pruritus, suchá kůže, proteinurie, pyrexie, edém, zánět sliznic, malátnost, zvýšená hladina jaterních enzymů, zvýšená hladina alkalické fosfatázy v krvi, snížení tělesné hmotnosti. **Méně časté**: Septický šok, střevní infekce, plicní infekce, infekce žlučových cest, chřipka, infekce močových cest, gingivitida, herpes zoster, tinea pedis, kandidózní infekce, bakteriální infekce, infekce, neutropenická sepsis, infekce horních cest dýchacích, konjunktivitida, nádorová bolest, pancytopenie, granulocytopenie, monocytopenie, erytropenie, leukocytóza, monocytóza, dehydratace, hyperglykemie, hyperkalemie, hypokalemie, hypofosfatémie, hypernatremie, hyponatremie, hypokalcemie, dna, úzkost, insomnie, neurotoxicita, dysestezie, hyperstezie, hypostezie, synkopa, parestezie, pocit pálení, letargie, závrat, bolest hlavy, snížení zrakové ostrosti, rozostřené vidění, diplopie, katarakta, suché oči, vertigo, úsní dyskomfort, angina pectoris, arytmie, palpatace, embolie, hypertenze, hypotenze, zrudnutí, plicní embolie, pleurální výpotek, rinorea, dysfonie, orofaryngeální bolest, epistaxe, kašel, hemoragická enterokolitida, gastrointestinální krvácení, akutní pankreatitida, ascites, ileus, subilcus, kolitida, gastritida, refluxní gastritida, ezofagitida, porucha vyprazdňování žaludku, abdominální distenze, anální zánět, ulcerace v ústech, dyspepsie, gastroesofageální refluxní nemoc, proktalgie, bukní polyp, krvácení dásní, glositida, periodontální nemoc, onemocnění zubů, říhání, flatulence, zápach z úst, hepatotoxicita, biliární dilatace, olupování kůže, kopřivka, fotosenzitivní reakce, erytém, akné, hyperhidróza, puchýře, porucha nehtů, otok kloubů, artralgie, bolest kostí, myalgie, svalová a kosterní bolest, svalová slabost, svalové křeče, bolest končetin, renální selhání, neinfekční cystitida, porucha mikce, hematurie, leukocyturie, menstruační porucha, zhoršení celkového tělesného zdravotního stavu, bolest, pocit změně tělesné teploty, xeróza, diskomfort, zvýšená hladina kreatininu v krvi, elektrokardiogram: prodloužený interval QT, zvýšení IMR, prodloužení APIT, zvýšená hladina urey v krvi, zvýšená hladina laktátdehydrogenázy v krvi, pokles celkové hladiny proteinů, vzestup C-reaktivního proteinu, pokles hematokritu. **Post-marketingové zkušenosti**: hlášený případy intersticiálního plicního onemocnění. **PŘEDÁVKOVÁNÍ\* VLASTNOSTI\***: Trifluridin je antineoplastický analog nukleosidů založený na thymidinu a tipiracil-hydrochlorid je inhibitor thymidin-fosforylázy (TPázy). Po zachycení nádorovými buňkami je trifluridin fosforylován thymidin-kinázou, dále metabolizován v buňkách na substrát kyseliny deoxyribonukleové (DNA) a přímo inkorporován do DNA, čímž narušuje funkci DNA a brání proliferaci buněk. Po perorálním podání je však trifluridin rychle rozkládán TPázou a ihned metabolizován efektem prvního průchodu, proto je do složení přidán inhibitor TPázy, tipiracil-hydrochlorid. **PODMÍNKY UCHOVÁVÁNÍ\***: Nevyžaduje žádné zvláštní podmínky uchovávání. **BALENÍ\***: Balení obsahuje 20, 40 nebo 60 potahovaných tablet. Datum poslední revize textu: 12/2020. Registrační číslo: EU/1/16/1096/001-006. Držitel registračního rozhodnutí: Les Laboratoires Servier, 50 rue Carnot, 92284 Suresnes cedex, France, www.servier.com. Před předepsáním přípravku si přečtěte Souhrn údajů o přípravku. Výdej léčivého přípravku je vázán na lékařský předpis. Přípravek je hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění v indikaci kolorektální karcinom, není hrazen v indikaci karcinom žaludku, viz Seznam cen a úhrad léčivých přípravků: <http://www.sukl.cz/sukl/seznam-laciv-a-pzlu-hrazenych-ze-zdrav-pojisteni>. Přípravek k dispozici v lékárnách. Další informace lze vyžádat na adrese Servier s.r.o., Na Florenci 2116/15, 110 00 Praha 1, tel: (+420) 222 118 111, www.servier.cz

\* pro úplnou informaci si prosím přečtěte celý Souhrn údajů o přípravku

\*\* všimněte si prosím změn v informaci o léčivém přípravku Lonsurf

18LNC105CZ

# Waldenströмова makroglobulinemie, monoklonální gamapatie a Dr. Kyle

V tomto čísle Klinické onkologie se čtenáři mohou seznámit s článkem *Waldenströмова makroglobulinemie – klinické projevy a přehled léčby včera, dnes a zítra*. Toto onemocnění je ve své podstatě lymfoplazmocytární lymfom s produkcí monoklonálního imunoglobulinu M (IgM). Ve více než 90 % případů se u něj vyskytuje L265P mutace genu *MYD88*. Jan Gösta Waldenström ve své původní práci popsal dva pacienty s krvácením z nosu a ústní dutiny, lymfadenopatií, anemií, trombocytopenií a zvýšenou sedimentací. Nemoc je třeba odlišit od raritního IgM myelomu. IgM myelom nevykazuje mutaci genu *MYD88*, naopak vykazuje lytické kostní léze a také plazmocytární diferenciaci nádorových buněk s vysokou expresí CD138, cytoplazmatickým imunoglobulinem a ztrátou exprese CD20 [1].

I tak velmi vzácná nemoc je pozoruhodná svými pestrými klinickými projevy, které se s ní váží a jsou zejména důsledkem účinků monoklonálního IgM. Zahrnují syndrom hyperviskozity, hypergamaglobulinemické purpury, kryoglobulinemii, neuropatii, nemoc chladových aglutininů a další autoimunitní projevy. Jako léčba nového standardu se nyní začala uplatňovat kombinace chemoterapie a cílené léčby kombinací bendamustin a rituximab, která je velmi účinná a méně toxická než varianty léčby používané dříve. Do léčebného schématu se také dostávají nové léky, jakými jsou například bortezomib, obinutuzumab nebo ibrutinib.

Waldenströмова makroglobulinemie je také onemocněním patřícím do skupiny monoklonálních gamapatií, které jsou charakterizovány patologickou produkcí paraproteinu (kompletní molekuly monoklonálního imunoglobulinu, volných lehkých řetězců nebo vzácně těžkých řetězců). Část monoklonálních gamapatií je primárně maligních: nejčastěji se vyskytujícím zástupcem je mnohočetný myelom se všemi jeho subtypy,

dále Waldenströмова makroglobulinemie, paraprotein ale mohou produkovat i maligní buňky chronické lymfatické leukemie a low grade non-hodgkinových lymfomů vycházejících z B-linie. Dále se mohou pojít s řadou závažných onemocnění, k nimž se dostaneme blíže v závěru tohoto editoria. Diferenciální diagnostika nemocí asociovaných s monoklonální gamapatií je široká, zahrnuje mimo jiné primární AL amyloidózu, syndrom POEMS, Castlemanovu nemoc, revmatoidní onemocnění, Schnitzlerův syndrom, získaný deficit C1q, senzomotorickou neuropatii nebo capillary leak syndrom.

A konečně zde máme skupinu onemocnění monoklonální gamapatie neurčeného významu (monoclonal gammopathy of undetermined significance – MGUS). Jejich koncept vytvořil před 45 lety Dr. Robert A. Kyle, profesor Mayo Clinic. Ty pak jsou potenciálně premaligním stavem definovaným přítomností monoklonálního imunoglobulinu, limitovanou infiltrací plazmocytů v kostní dřeni a nepřítomností orgánového postižení. Termín MGUS by se měl překládat spíše jako monoklonální gamapatie neurčeného významu než nejasného významu.

Dr. Kyle ve své práci z roku 2018 uvádí, že jeho skupina studovala 1 384 pacientů, kteří byli diagnostikováni s monoklonální gamapatií od roku 1960 do roku 1994. Sledovali progresi onemocnění do mnohočetného myelomu nebo jiného typu onemocnění plazmatických nebo lymfoidních buněk (lymfomu, AL amyloidózy, makroglobulinemie, chronické lymfocytární leukemie a plazmocytomu). MGUS progredovala celkem u 147 pacientů, riziko progresu bylo 10 % v 10 letech, 18 % ve 20 letech, 28 % ve 30 letech a 36 % ve 40 letech. MGUS se vyskytuje u 3,2 % osob starších 50 let a u 5,3 % osob starších 70 let. MGUS je definován přítomností sérového monoklonálního proteinu v koncentraci  $\leq 30$  g/l,

absencí CRAB (hypercalcemia, renal failure, anemia, and bone disease) a přítomností  $< 10$  % klonálních plazmocytů v kostní dřeni. V současnosti rozdělujeme MGUS na dva hlavní subtypy, IgM a non-IgM. Zatímco IgM subtyp typicky vzniká z CD20<sup>+</sup> lymfoplazmatických buněk, které neprodělaly imunoglobulinový switch, a progreduje do lymfomu nebo Waldenströmovy makroglobulinemie, non-IgM subtyp nejčastěji vzniká ze zralých plazmatických buněk, které již prodělaly switch, a progreduje do mnohočetného myelomu [2].

Ukázalo se však, že u řady pacientů má přítomnost paraproteinu klinické konsekvence. Velmi často pak dochází k poškození ledvin a tento stav se začal označovat jako monoklonální gamapatie renálního významu (monoclonal gammopathy of renal significance – MGRS). Tento termín byl navržen mezinárodní skupinou International Kidney and Monoclonal Gammopathy Research Group v roce 2012. Tato jednotka sdružuje sekundární renální onemocnění z důvodu produkce monoklonálního imunoglobulinu secernovaného klonem B buněk nebo plazmatických buněk, aniž pacient splňuje kritéria mnohočetného myelomu. Cílem léčby MGRS je pak zastavit přirozenou progresi onemocnění ledvin. Existují doporučení zejména pro použití léků a metod osvědčených u léčby mnohočetného myelomu, např. kombinace cyklofosfamidů, dexametazonu a bortezomibu se zakončením léčby autologní transplantací periferních hematopoetických kmenových buněk [3].

MGUS často vede k rozvoji malého nebo tichého klonu B buněk, který je kompletně asymptomatický. Někdy je však klon asociovan s potenciálně závažným poškozením některého orgánu kvůli toxicitě monoklonálního imunoglobulinu nebo jiným mechanismem. Tato situace bývá pozorována, avšak mnohdy špatně rozlišena, poddiagnostikována

a podléčena. Proto byl navržen koncept monoklonálních gamapatií klinického významu (monoclonal gammopathy of clinical significance – MGCS). Účinná kontrola patologického B-buněčného klonu zpravidla vede ke zlepšení funkce postiženého orgánu. Léze bývá způsobena buď z depozice monoklonálního imunoglobulinu, nebo autoprotilátkové odpovědi, formace imunitních komplexů či aktivace komplementu [4].

Termín MGCS tedy označuje monoklonální gamapatie způsobující významnou nemoc. Často se dají rozlišit symptomy převážně neurologické, renální a kožní. Onemocnění projevující se neuropatií nejčastěji zahrnují AL amyloidózu, syndrom POEMS, kryoglobulinemii, CANOMAD (chronická ataktická neuropatie, oftalmoplegie, IgM paraprotein, chladové aglutininy a disialosylové protilátky) a DADS-M (distální získaná demyelinizující symetrická neuropatie s M proteinem). MGRS jsou onemocnění, kde monoklonální imunoglobulin způsobuje poškození ledvin. MGRS lze rozdělit na neorganizovanou a organizovanou depozita monoklonálního imunoglobulinu. Neorganizovaná depozita zahr-

nují nemoc z depozice mlg a proliferativní glomerulonefritidu s mlg depozicí. Organizovaná depozita jsou kategorizována jako fibrilární (AL amyloidóza a monoklonální fibrilární glomerulonefritida), mikrotubulární (imunotaktoidní glomerulonefritida a kryoglobulinemická glomerulonefritida) a inkluze nebo krystalová depozita (proximální tubulopatie z lehkých řetězců, krystaly střádající histiocytóza a kryokrystaloglobulinová glomerulonefritida). Kožní formy zahrnují Schnitzlerův syndrom, skleromyxedém, nekrobiotický xanthogranulom, syndrom TEMPI (teleangiectazie, elevovaný erythropoetin, monoklonální gamapatie, perinefrická tekutina, intrapulmonální shunting), kryoglobulinemie, systémový capillary leak syndrom (Clarksonova nemoc) a syndrom POEMS [5].

Léčba těchto malých, ale nebezpečných B klonů spočívá v použití cílených látek proti B buňkám a plazmatickým buňkám. Například pokud klon secernuje IgG, IgA nebo lehké řetězce, lze použít léky pro mnohočetný myelom. Tyto strategie zahrnují opakované cykly bortezomibu s alkylačním cytostatikem a dexametazonem. Protilátka anti-

-CD38 je další možností. Pokud klon koresponduje s B cell lymfomem, pak může být léčba založena na anti-CD20 protilátce. V případě asociace s IgM pak na principech léčby Waldenströmovy makroglobulinemie.

A nyní, po dočtení editorialem, se již jistě nemůžete dočkat, až se začnete do článku Dr. Kylea České republiky – prof. Zdeňka Adama – na téma, co je nového v léčbě Waldenströmovy makroglobulinemie.

*prof. MUDr. Martin Klabusay, Ph.D.*

### Literatura

1. Gertz MA. Waldenström macroglobulinemia: 2023 update on diagnosis, risk stratification, and management. *Am J Hematol* 2023; 98(2): 348–358. doi: 10.1002/ajh.26796
2. Kyle RA, Larson DR, Therneau TM et al. Long-term follow-up of monoclonal gammopathy of undetermined significance. *N Engl J Med* 2018; 378(3): 241–249. doi: 10.1056/NEJMoa1709974.
3. Alonso-Titos J, Martínez-Esteban MD, López V et al. Monoclonal gammopathy of renal significance: early diagnosis is key. *Nefrologia (Engl Ed)* 2021; 41(5): 502–513. doi: 10.1016/j.nefro.2021.11.008.
4. Ferman J, Bridoux F, Dispenzieri A et al. Monoclonal gammopathy of clinical significance: a novel concept with therapeutic implications. *Blood* 2018; 132(14): 1478–1485. doi: 10.1182/blood-2018-04-839480.
5. Dispenzieri A. Monoclonal gammopathies of clinical significance. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2020(1): 380–388. doi: 10.1182/hematology.2020000122.



Brněnské onkologické dny  
Konference pro nelékařské  
zdravotnické pracovníky

[www.onkologickedny.cz](http://www.onkologickedny.cz)

# 47. Brněnské onkologické dny

1.–3. 11. 2023

37. Konference pro nelékařské  
zdravotnické pracovníky



**UPOZORŇUJEME  
ÚČASTNÍKY  
KONFERENCE**

[více na stránkách konference](#)

Registrace aktivní účasti  
v termínu od 2. 5. 2023 do 14. 7. 2023.

Postery prezentovány POUZE v elektronické formě  
na dotykových LCD obrazovkách.



# Waldenströmova makroglobulinemie – klinické projevy a přehled léčby včera, dnes a zítra

## Waldenström's macroglobulinemia – clinical symptoms and review of therapy yesterday, today and tomorrow

Adam Z.<sup>1</sup>, Pour L.<sup>1</sup>, Zeman D.<sup>2</sup>, Krejčí M.<sup>1\*</sup>, Boichuk I.<sup>1</sup>, Krejčí M.<sup>1\*\*</sup>, Štork M.<sup>1</sup>, Sandecká V.<sup>1</sup>, Král Z.<sup>1</sup>  
\*Marta, \*\*Martin

<sup>1</sup> Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN BRNO

<sup>2</sup> Oddělení klinické biochemie, Ústav laboratorní medicíny LF MU a FN Brno

### Souhrn

**Východiska:** Waldenströmova makroglobulinemie (WM) je lymfoplazmocytární lymfom produkující monoklonální imunoglobulin typu IgM. Incidence této nemoci je nízká (0,4/100 000), takže tuto chorobu lze považovat za tzv. nemoc-sirotka. To znamená, že nové léky jsou testovány a registrovány většinou pro častější diagnózy, než je WM. **Cíl:** V tomto textu shrnujeme informace o účinnosti nových léků pro WM. **Výsledky:** Z klasických chemoterapeutik se nyní za nejúčinnější lék v kombinaci s rituximabem považuje bendamustin, který dosahuje dlouhodobější léčebné odpovědi než cyklofosfamid s rituximabem a dexametazonem. Mnoho léků používaných pro léčbu mnohočetného myelomu (MM), má dobrou účinnost také u WM. Bortezomib je vysoce účinný, ale neurotoxicita tohoto léku u WM je vyšší než u MM. Novější léky ze skupiny inhibitorů proteazomu, ixazomib a karfilzomib, s nižší neurotoxicitou jsou lépe tolerovány u WM, jak bylo prokázáno v několika studiích. Nové typy antiCD20 monoklonálních protilátek jsou přínosem obzvláště v případech intolerance rituximabu. Pět našich pacientů netolerujících rituximab ukončilo léčbu kombinací bendamustinu a obinutuzumabu. Všichni pacienti léčení touto kombinací dosáhli hlubší léčebné odpovědi po obinutuzumabu a bendamustinu, než bylo dosaženo v přechodných léčebných liniích. Registrace prvního perorálního inhibitoru Brutonovy tyrozinikázy (BTK) ibrutinibu pro monoterapii či kombinaci s rituximabem rozšířilo léčebné možnosti u pacientů refrakterních k iniciální léčbě. Nové léky ze skupiny inhibitorů BTK (akalabrutinib, zanubrutinib, vekabrutinib) byly již u této nemoci testovány a ukázalo se, že mají nižší toxicitu při srovnatelném léčebném účinku. Kardiální komplikace typu fibrilace síní byly méně časté. A nově je testován také BCL2 inhibitor venetoklax. **Závěr:** Nová antiCD20 protilátka (obinutuzumab) je přínosem pro pacienty s WM s intolerancí rituximabu stejně jako bendamustin a nové inhibitory proteazomu (ixazomib a karfilzomib) nebo nové inhibitory BTK s nižší toxicitou. Mnoho z výše zmíněných léků nemá oficiální registraci pro WM a lze je podat pouze se souhlasem plátce zdravotní péče, proto tento text přináší důkazy o jejich účinnosti.

### Klíčová slova

Waldenströmova makroglobulinemie – bendamustin – obinutuzumab – ixazomib – karfilzomib – ibrutinib

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare that they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

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

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



prof. MUDr. Zdeněk Adam, CSc.  
Interní hematologická  
a onkologická klinika  
FN Brno  
Jihlavská 20  
625 00 Brno  
e-mail: adam.zdenek@fnbrno.cz

Obdrženo/Submitted: 26. 3. 2022

Přijato/Accepted: 18. 5. 2022

doi: 10.48095/ccko2023177

## Summary

**Background:** Waldenström macroglobulinemia (WM) is a lymphoplasmocytic lymphoma with immunoglobulin M monoclonal protein. The incidence of this disease is very low (0.4/100,000), so that this disease can be regarded as an orphan's disease. It means that new drugs are often tested and registered for more frequent diseases. **Purpose:** In this review we will focus on the efficacy of the new drugs for WM. **Results:** The current treatment options for symptomatic WM patients include alkylating agent cyclophosphamide and anti-CD20 monoclonal antibodies. Therapy with rituximab and bendamustin resulted in longer therapeutic response than therapy with rituximab, cyclophosphamide and dexamethasone. Many drugs, used in multiple myeloma (MM), showed promising results in WM patients. Bortezomib is effective in WM, but its neurotoxicity is higher in WM than in MM patients. Therefore, new proteasome inhibitors, carfilzomib and ixazomib, are better tolerated as documented in several studies. New types of antiCD20 antibody (obinutuzumab) can be used in patients with rituximab intolerance. In five of our patients with WM, obinutuzumab and bendamustin reached deeper responses than therapies administered in previous lines of therapy. Oral Bruton tyrosine kinase (BTK) inhibitor ibrutinib alone and in combination with rituximab have extended the treatment options for WM patients. New BTK inhibitors (e. g. acalabrutinib, zanubrutinib, and vecabrutinib) were tested and their lower toxicity (atrial fibrillation) was documented. Moreover, the BCL2 inhibitor venetoclax is newly tested. **Conclusion:** New antiCD20 antibody (obinutuzumab) is of advantage in patients with WM with rituximab intolerance as well as bendamustin and new proteasome inhibitors (ixazomib and carfilzomib) or new BTK inhibitors with lower cardiotoxicity. Many of the abovementioned drugs do not have official registration for WM and can be administered with the consent of the health care provider only. Thus, this work brings evidence of their efficacy.

## Key words

Waldenström macroglobulinemia – bendamustin – obinutuzumab – ixazomib – carfilzomib – ibrutinib

## Úvod

Waldenströmová makroglobulinemie (WM) je choroba, která je řazena do skupiny nemocí s názvem monoklonální gamapatie, jejichž hlavním definujícím znakem je monoklonální imunoglobulin [1]. WM je definována morfologickou přítomností lymfoplazmocytárního lymfomu v kostní dřeni (příp. i extramedulárně) a biochemickým nálezem monoklonálního imunoglobulinu typu IgM (M-IgM). WM vzniká z monoklonální gamapatie nejistého významu (monoclonal gammopathy of undetermined significance – MGUS) typu IgM (MGUS-IgM) postupnou transformací, podobně jako mnohočetný myelom (MM) vzniká transformací z MGUS-IgG či MGUS-IgA nebo z MGUS lehkých řetězců [1].

U pacientů s MGUS-IgM byly prokázány dva rizikové faktory pro transformaci do WM: abnormální poměr volných lehkých řetězců (free light chain – FLC) a koncentrace M-IgM > 15 g/l. Tyto faktory byly asociovány s 55% progresí po 20 letech. V případě jednoho rizikového faktoru to bylo 41 %, zatímco u pacientů bez těchto rizikových faktorů jen 19 % [2].

Názory na počty transformací MGUS do symptomatické formy WM se liší; jedna z posledních prací uvádí, že po 10 letech bylo 38 % transformací z MGUS-IgM do symptomatické formy

WM [3]. Tyto studie jsou argumentem, proč by osoby s MGUS-IgM měly být sledovány s cílem včas odhalit transformaci do symptomatické krevní nemoci vyžadující léčbu třeba i s pomocí FDG-PET/CT, jak popsali Sandecká et al. [4].

## Diskriminace pacientů s WM

Dle morfologické klasifikace patří WM do skupiny chorob nazvaných „low grade“ lymfoproliferace neboli též nízké agresivní lymfoproliferace, podobně jako chronická B-lymfocytární leukemie či folikulární lymfom, ale WM je podstatně vzácnější než tyto dvě jmenované nemoci. Proto často registrační studie nových léčiv WM opomíjejí, a tak lze na WM pohlížet jako na tzv. nemoc-sirotku (orphan disease), o kterou v registračních studiích nových léků není zájem. A pacienti s WM právem mohou mít pocit, že jsou diskriminováni, když potenciálně účinné léky jsou testovány a registrovány pro pacienty s chorobami sice ze stejné skupiny, ale s vyšší incidencí. A proto přinášíme tento přehled účinnosti nových léků u pacientů s WM. Jejich úhradu lze pro léčbu pacientů s WM získat pouze se souhlasem plátce zdravotní péče, zatímco pro jiné nemoci ze skupiny lymfoproliferací jsou již Státním ústavem pro kontrolu léčiv schválené; proto jsme v tomto textu ponechali více citací dokladujících pravdivost prezentovaných faktů.

## Epidemiologická data

Incidence WM byla v USA stanovena na 4,1 na 1 mil. obyvatel u bělošské populace, u Afroameričanů je méně častá – 1,8 na 1 mil. obyvatel [5]. Pokud údaje o incidenci u bělošské populace v USA přeneseme na ČR, tak by to bylo 40 nově diagnostikovaných pacientů ročně. Uvedený počet odpovídá naší zkušenosti, tj. poměr pacientů s MM k počtu pacientů s WM) je přibližně 10 : 1.

Medián přežití pacientů s WM souvisí s věkem, pacienti mladší 70 let mají medián přežití > 10 let, pacienti ve věku 70–79 let mají medián přežití kolem 7 let [6]. Tab. 1 ilustruje vliv věku, v němž byla stanovena diagnóza na prognózu, a také počet úmrtí z jiných příčin v různých věkových kategoriích. Grafické znázornění lze nalézt v citované publikaci [6].

## Příznaky nemoci

Svou morfologickou podstatou, lymfoplazmocytárním lymfomem, patří tato nemoc do skupiny nízké agresivních CD20+ B-lymfoproliferací a sdílí s nimi i příznaky uvedené v levém sloupci tab. 2. Choroba pravidelně infiltruje kostní dřeň, ale může také postihnout uzliny, příp. způsobit hepato/splenomegalii a jen výjimečně infiltruje mozek či jiné parenchymatózní orgány [7,8]. Expanze lymfoplazmocytárního lymfomu v kostní dřeni vede k cytopenii a pro-

**Tab. 1. Přežití pacientů v závislosti na věku, v němž byla stanovena diagnóza a zahájena léčba [6].**

Celá analyzovaná kohorta měla medián sledování 7 let, medián celkového přežití (OS) celé kohorty byl 7 let a pětileté a desítileté přežití bylo 62 a 39 %. V podskupině s datem stanovení diagnózy v letech 1991–2000 byl medián sledování 13 let, medián OS v této podskupině byl 6 let. Pro podskupinu s datem stanovení diagnózy v letech 2001–2010 byl medián sledování 5 let a medián OS 8,2 roku. Délka života od stanovení diagnózy byla v obou podskupinách zásadně ovlivněna věkem, v němž byla stanovena diagnóza a zahájena léčba, jak ilustrují data. Tato analýza mimo jiné potvrdila prodloužení OS vlivem nových v posledních letech dostupných léků. Zásadní vliv věku stanovení diagnózy na prognózu WM zde uvádíme proto, aby mladší pacienti nebyli stresováni údajem OS platným pro celou skupinu pacientů, neboť tato podskupina má podstatně příznivější prognózu.

Statistické charakteristiky souboru	Věková kategorie pacientů při stanovení diagnózy (roky)				
	20–49	50–59	60–69	70–79	80+
medián přežití pacientů, u nichž byla diagnóza WM stanovena v letech 1991–2000	nedosažen	12	7	5	3
medián přežití pacientů, u nichž byla diagnóza WM stanovena v letech 2001–2010	nedosažen	13	10	6	4
počet úmrtí na WM v průběhu 5 let od stanovení diagnózy	6 %	6 %	10 %	11 %	16 %
počet úmrtí z jiné příčiny než WM v průběhu 5 let od stanovení diagnózy	11 %	13 %	17 %	33 %	48 %

WM – Waldenströмова makroglobulinemie

**Tab. 2. Příznaky Waldenströmovy makroglobulinemie.**

Příznaky vznikající vlivem expanze masy patologických buněk v kostní dřeni či jinde a vlivem cytokinů produkovaných těmito buňkami	Příznaky vznikající fyzikálními či imunologickými vlastnostmi M-IgM
B-symptomy – systémová zánětlivá reakce vyvolaná maligním onemocněním, febrilie či subfebrilie, noční pocení, úbytek hmotnosti, zvýšené hodnoty zánětlivých markerů, zvýšený CRP, ale často normální prokalcitonin	hyperviskozita, hypergamaglobulinemická purpura (epistaxe, krvácení z dásní, únava, bolesti hlavy)
anemie chronických chorob, příp. pancytopenie	neuropatie – v důsledku poškození nervových vláken M-IgM
lymfadenopatie	nemoc chladových aglutininů.
hepatosplenomegalie	kryoglobulinemie
zcela výjimečně infiltrace extralymfatického orgánu (CNS, plíce)	další autoimunitní projevy M-Ig uvedené v citovaných publikacích, viz tab. 3.

CRP – C-reaktivní protein, M-IgM – monoklonální imunoglobulin typu IgM

dukce cytokinů patologickými buňkami k B-symptomům neboli k systémové zánětlivé reakci organismu. Takže nemoc je často diagnostikována v rámci hledání příčiny febrilií či subfebrilií nejasného původu dle publikovaných guidelines pro jejich diagnostiku.

Tvorba M-IgM však této lymfoproliferaci přidává další rozměry. Vlivem tvorby M-IgM jsou projevy této nemoci podstatně pestřejší, než je tomu u ostatních chorob ze skupiny low grade lymfomů. Některé příznaky vyvolané monoklonál-

ním imunoglobulinem lze odvodit od jeho fyzikálních vlastností (kryoglobulinemie, hyperviskozita). V důsledku hyperviskozity dochází ke krvácení z nosu a z dásní. Retinální krvácení pak může být příčinou poruchy zraku, ale hyperviskozitou mohou být postiženy i mozkové funkce.

Další příznaky nemoci mohou být způsobeny imunologickou vazbou M-IgM na tělu vlastní antigeny. V těchto případech WM způsobuje autoimunitní poškození organismu, jak je popsáno v české, slo-

venské a zahraniční literatuře [9,10]. Práci analyzujících četnost protilátkové aktivity monoklonálního imunoglobulinu je velmi málo, vybrali jsme z nich práci dánských autorů (tab. 3). M-IgM má mnohem častěji vlastnosti autoprotilátky než M-IgG nebo M-IgA.

Pro chirurgy je důležité vědět o této nemoci, že často bývá provázena krvácivými projevy. Na jejich etiopatogenezi se podílí jak hyperviskozita, tak interakce M-IgM s trombocyty a proteiny koagulační kaskády, čímž dochází k projevům

**Tab. 3. Frekvence autoimunitní poškození orgánů a tkání monoklonálním imunoglobulinem typu IgM v souboru 57 pacientů s Waldenströmovou makroglobulinémií [9].**

Manifestace protilátkové aktivity s monoklonálním imunoglobulinem typu IgM	Počet manifestních autoimunit				Celkem	Frekvence
	> 1 současných autoimunitních projevů		jen 1 autoimunitní projev			
	ženy	muži	ženy	muži		
Coombs pozitivní autoimunitní hemolytická anemie	4	2	1	2	9	16 %
revmatoidní artritida s pozitivním revmatoidním faktorem	3	2	1	3	9	16 %
žaludeční vředy s protilátkami proti parietálním buňkám	5	2	0	0	7	12 %
antifosfolipidový syndrom s IgM protilátkami proti kardiolipinu	4	2	0	0	6	11 %
imunitní trombocytopenická purpura s antitrombocytárními protilátkami	4	1	0	0	5	9 %
IgG antinukleární protilátky	2	2	0	1	5	9 %
senzomotorická periferní neuropatie (MAG pozitivní)	2	3	0	0	5	9 %
thyreoiditida s protilátkami proti thyreoglobulinu	1	2	0	0	3	5 %
hemolytická anemie s chladovými aglutininy	2	0	1	0	3	5 %
iridocyklitida	2	0	0	0	2	4 %
Sjögrenův syndrom s protilátkami typu SSA nebo SSB	2	0	0	0	2	4 %
systémový lupus erythematosus	1	0	0	0	1	2 %
biliární cirhóza s protilátkami proti mitochondriím	1	0	0	0	1	2 %
temporální artritida	1	0	0	0	1	2 %
glomerulonefritida s protilátkami proti bazální membráně	0	1	0	0	1	2 %
myelopatie (séronegativní)	0	1	0	0	0	1 %
myastenia gravis	1	0	0	0	1	2 %
celkový počet manifestací	35	18	3	6	62	
celkový počet pacientů s průkazem autoimunity	12	8	3	3	29	

MAG – myelin-asociovaný glykoprotein

získané von Willebrandovy choroby, k trombocytopenii či k jiným poruchám hemostázy. Takže komplexní vyšetření hemostázy by mělo obsahovat u těchto pacientů i analýzu funkce trombocytů.

Koagulopatie těchto pacientů nám občas bránila provést trepanobiopsii pro riziko krvácení. Léčebná plazmaferéza s náhradou odebrané plazmy pacienta konzervami mražené plazmy a albuminu tuto koagulopatii často odstranila, a pak jsme bez problémů provedli trepanobiopsii.

### Stanovení diagnózy

Mezinárodní klasifikace nemocí definuje diagnózu WM (MKN-10 kód C88.0) následovně: přítomnost M-IgM, infiltrace

kostní dřeně lymfoplazmocytárním lymfomem, tj. klonálními lymfocyty, lymfoplazmocytoidními buňkami a plazmocytů. Typický imunofenotyp je CD19, CD20 a negativní CD5, CD10 a CD23. Tento typ lymfomu není tvořen jen jedním morfologickým typem buněk, proto stanovit diagnózu z aspirátu kostní dřeně se obvykle nedaří. Stanovení diagnózy lymfoplazmocytární infiltrace kostní dřeně dle Owena také neobsahuje žádné procentové kritérium patologických buněk v kostní dřeni na rozdíl od MM [11]. To zdůrazňujeme, protože v publikacích z Mayo Clinic byla a je stále používána definice vyžadující 10% podíl patologických buněk v kostní dřeni [12]. Toto procentové kritérium však ne-

bylo skupinou zvanou International Workshop on Waldenström Macroglobulinaemia a skupinou European Myeloma Network akceptováno [13].

Definice dle Owena také neobsahuje hraniční koncentraci M-IgM na rozdíl od MM, protože koncentrace M-IgM nekoreluje s mírou infiltrace kostní dřeně. Koncentrace M-IgM mj. závisí na poměru klonálních lymfocytů, lymfoplazmocytů a plazmocytů. Pokud je více patologických plazmocytů a méně patologických lymfocytů, tvoří se více M-IgM, pokud je více patologických lymfocytů a méně patologických plazmocytů, tvoří se méně M-IgM.

A proto se setkáváme s pacienty, kteří mají masivní infiltrace kostní dřeně a jen

**Tab. 4. Klinické jednotky spojené s monoklonálním imunoglobulinem typu IgM dle doporučení pro diagnostiku a léčbu z roku 2021 [12].**

	Monoklonální imunoglobulin typu IgM	Příznaky nádorové masy, infiltrace kostní dřeně (anemie) nebo lymfadenopatie	Infiltrace kostní dřeně	Symptomy způsobené monoklonálním IgM
MGUS-IgM	+	–	–	–
asymptomatická (doutnající) Waldenströmová makroglobulinemie	+	–	+	–
poruchy související s IgM • chladové aglutininy • typ II kryoglobulinu, neuropatie • amyloidóza z lehkých řetězců • další velmi vzácné poruchy způsobené vazbou M-IgM na antigeny lidského těla	+	–	±	+
symptomatická Waldenströmová makroglobulinemie	+	+	+	±

MGUS – monoklonální gamapatie nejistého významu

nevelkou koncentrací M-IgM a naopak. Na rozdíl od mnohočetného MM u WM není přímá závislost koncentrace M-IgM na míře infiltrace v kostní dřeni [11]!

Uvádí se i možnost transformace MGUS-IgM do MM typu IgM, ale tyto případy jsou podstatně vzácnější a odlišit tyto dvě jednotky není zcela jednoduché, jak popisují Elba et al. [14]. Diagnózy připadající u úvahu při průkazu IgM uvádí tab. 4.

Termín asymptomatická (doutnající) WM se používá pro případy, kdy v kostní dřeni je jednoznačná infiltrace odpovídající lymfoplazmocytárnímu lymfomu a nejsou přítomny příznaky nemoci, které by zhoršovaly kvalitu života člověka, a není nutná léčba. Termín symptomatická WM znamená, že tato nemoc již snižuje kvalitu života člověka a je třeba ji léčit.

Jak již bylo výše uvedeno, pacienti s aktivní nemocí mají občas závažné koagulační problémy, protože M-IgM může interferovat s koagulační kaskádou, a pak je provedení trepanobiopsie spojeno s určitým rizikem. A v této situaci je přínosné flowcytometrické vyšetření kostní dřeně [15].

Se stanovením diagnózy souvisí dnes i podrobnější molekulárně biologické vyšetření, které bylo ale v časopise Klinická onkologie i v další české

literatuře opakovaně podrobně diskutováno, a proto jen na tyto publikace odkazujeme [16,17].

V databázi PubMed je do roku 2022 pouze jedna práce zaměřená na analýzu zobrazení WM metodou PET/CT s využitím fludeoxyglukózu (FDG). Před zahájením léčby podstoupilo toto vyšetření celkem 35 pacientů. Kombinované PET/CT zobrazení detekovalo pozitivní nálezy u 83 % pacientů se symptomatickou chorobou, zatímco konvenční CT nacházelo patologické nálezy pouze u 20 % vyšetřených. Abnormální signál z kostní dřeně byl ale detekován jen u 43 % pacientů. Autoři této práce uzavírají, že FDG-PET/CT může pomoci upřesnit množství patologické tkáně [18]. Fakt, že jen necelá polovina pacientů měla zvýšenou akumulaci FDG v kostní dřeni, i když u nich byla histologicky prokázána její infiltrace, se vysvětluje nízkou proliferační rychlostí patologických buněk, která je spojená s nízkou FDG aviditou.

Aktivita nemocí se hodnotí dle vývoje celkového a monoklonálního imunoglobulinu. Obě metody informují o vývoji koncentrace monoklonálního imunoglobulinu, ale dle našich pozorování se progresse výrazněji odráží v dynamice zvyšování celkového IgM (stanovený nefelometrií) než v dynamice zvyšování monoklonálního IgM (stanovený elektroforézou a následnou denzitometrií). Proto u těchto pacientů sledujeme jak vývoj koncentrace monoklonálního IgM, tak i vývoj koncentrace polyklonálních imunoglobulinů IgG, IgM a IgA stanovených nefelometrií.

S progresí či ústupem nemoci souvisí také vývoj koncentrace hemoglobinu. U pacientů, u nichž byla vstupně zvýšená hodnota CRP (jako projev zánětlivé reakce vyvolané lymfoplazmocytárním lymfomem), lze i na CRP pohlížet jako na ukazatel aktivity choroby [19].

Vývoj poměru FLC je u této choroby trochu přehlízený ukazatel, ale dle citovaných publikací [20] i vlastních zkušeností taktéž odráží vývoj aktivity nemoci. Poměr FLC je obsažen i v prognostickém indexu pro transformaci MGUS-IgM do symptomatické formy WM [2].

### Léčba

IgM gamapatie se pomalu kontinuálně vyvíjí z MGUS-IgM přes asymptomatickou formu do symptomatické formy WM, která již vyžaduje léčbu. A tak bylo nutno řešit otázku, kdy je optimální zahájit léčbu? Odpovědi na tuto otázku byly opakovaně publikovány [12,13,19,21]. Současná platná doporučení pro zahájení léčby jsou uvedena v tab. 5.

**Tab. 5. Indikace pro zahájení léčby Waldenströmovy makroglobulinemie dle „European Myeloma Network recommendations on diagnosis and management of patients with rare plasma cell dyscrasias“ [13,21] a dle doporučení České myelomové skupiny [19].**

#### Klinické indikace pro léčbu

horečka způsobená nemocí, noční pocení, úbytek hmotnosti, patologická únava neboli projevy systémové zánětlivé reakce  
lymfadenopatie, která je buď symptomatická nebo tzv. „bulky“ ( $\geq 5$  cm v max. rozměru)

hyperviskozita

symptomatická hepatomegalie a/nebo splenomegalie

symptomatická organomegalie nebo infiltrace orgánu či tkáně

periferní neuropatie způsobená Waldenströmovou makroglobulinemií

#### Laboratorní indikace pro léčbu

symptomatická kryoglobulinemie

anemie způsobená chladovými aglutininy

imunitní hemolytické anemie a/nebo trombocytopenie

amyloidóza z lehkých řetězců způsobená Waldenströmovou makroglobulinemií

nefropatie způsobená Waldenströmovou makroglobulinemií

anemie, hemoglobin  $\leq 100$  g/l

thrombocytopenie, počet trombocytů  $< 100 \times 10^9/l$

Někteří pacienti s výrazně zvýšenou hodnotnou M-IgM a infiltrací kostní dřene přesahující 30 % nemusí mít žádné symptomy a roky nevyžadují léčbu, a to i při koncentraci celkové bílkoviny kolem 100 g/l. Naopak pacienti s nízkou koncentrací monoklonálního imunoglobulinu a minimální infiltrací kostní dřene mohou již vyžadovat léčbu, protože monoklonální imunoglobulin poškozuje tělo nemocného (neuropatie, amyloidová depozita, anemie s chladovými aglutininy, kryoglobulinemie). Symptomatická hyperviskozita je vzácná při koncentraci celkového IgM  $< 40$  g/l, obvykle se začíná manifestovat až při koncentraci IgM  $> 40$  g/l. Příznaky nemoci zůstávají v průběhu času stejné a jsou zachyceny již ve starších citovaných publikacích českých a slovenských autorů evidovaných v databázi medvik.cz, zatímco názory na optimální léčbu se rychle mění a cílem tohoto textu je hlavně nastavit zrcadlo vývoji názorů na léčbu z pohledu roku 2022.

#### Léčba v minulých letech

Prvním lékem, dnes již nepoužívaným, byl chlorambucil (Leukeran) a posléze

i další alkylační cytostatika a později jejich kombinace. Na přelomu tisíciletí se krátkodobě dostaly do popředí kombinace fludarabinu s cyklofosfamidem, které nás lékaře zpočátku fascinovaly vysokým počtem léčebných odpovědí, ale po prvním nadšení začaly přicházet zprávy o vysoké frekvenci hematologických komplikací (dlouhodobý dřevňový útlum, vysoká frekvence vzniku myelodysplastického syndromu s přechodem do akutní myeloidní leukemie). Tyto pozdní hematologické komplikace vedly k opuštění kombinace fludarabinu s cyklofosfamidem, přesněji řečeno k nedoporučení používat tuto kombinaci v první nebo druhé linii léčby. Kombinace fludarabinu s cyklofosfamidem dnes může být zvažována pouze u velmi pokročilých forem nemoci, když již není v nabídce jiný lék s nižší toxicitou. Každopádně dnes nelze nabízet kombinaci fludarabinu s cyklofosfamidem pacientům v rámci první či druhé linie léčby. Intenzivní léčebné režimy používané pro léčbu agresivních lymfomů přestaly být v této indikaci také používány, protože byly zbytečně toxické [19,22,23].

#### Přínos antiCD20 protilátek pro léčbu WM

Z pohledu imunofenotypu patologických buněk patří lymfoplazmocytární lymfom, morfologický podklad WM, do skupiny, kterou nazýváme CD20 pozitivní lymfoproliferace. A proto je rituximab dnes již standardní součástí léčby této nemoci. Díky nepřítomnosti dlouhodobé toxicity a absenci myelosupresivního působení je součástí všech léčebných kombinací používaných pro léčbu WM.

Rituximab samotný však nedosahuje dostatečné léčebné odpovědi. Počet léčebných odpovědí (minimální odpověď (minimal response – MR) a parciální odpověď (partial response – PR)) dosahuje  $< 55$  % a je podstatně horší, než jsou výsledky kombinovaných režimů. Autoři metaanalýzy publikovaných dat dospěli k závěru, že počet léčebných odpovědí je vyšší v dvojkombinacích než v monoterapii rituximabem (73 vs. 44 %) [24].

Rituximab má dokonce nižší počet léčebných odpovědí než alkylační cytostatika chlorambucil nebo kladribin. Proto samotný rituximab je doporučován autory z Mayo Clinic pouze pro pacienty

s periferní neuropatií způsobenou monoklonálním imunoglobulinem IgM, kteří ale při komplexním vyšetření nemají symptomatickou formu WM [25].

Podání antiCD20 protilátek, jako je rituximab, je spojené s rizikem dočasného vzestupu koncentrace monoklonálního imunoglobulinu, aniž by to znamenalo progresi. Tomuto fenoménu se říká IgM-flare. Dočasný vzestup koncentrace M-IgM může zvýšit viskozitu séra. Při kombinaci rituximabu s chemoterapií je tento fenomén méně výrazný, ale také jej u našich pacientů pozorujeme [26].

Proto se někdy v případech vyšší koncentrace celkové bílkoviny a M-IgM přidávají antiCD20 monoklonální protilátky až od 2. cyklu léčby. Na zvažení je udržovací léčba rituximabem, i když ne zcela ve všech studiích byla přínosem [27].

Rituximab v kombinaci s cyklofosfamidem byl dlouho zlatým standardem, v druhém desetiletí tohoto století byl považován za optimální kombinaci dosahující maximálního efektu při minimálních nežádoucích účincích.

Rituximab a cyklofosfamid dosahují celkové četnosti odpovědi (overall response rate – ORR) 83 % při minimální toxicitě a 2leté bezpříznakové přežití (progression free survival – PFS) je 67 % a 2leté tumor specifické přežití je 90 % [28]. Recentní analýza 72 pacientů z Mayo Clinic léčených kombinací rituximab, cyklofosfamid a dexametazon popisuje ORR 83 %, medián PFS byl 35 měsíců a medián celkového přežití (overall survival – OS) byl 95 měsíců [29].

Rituximab je používán již více než 20 let. Byl schválen pro klinickou praxi úřadem Food and Drug Administration (FDA) v listopadu roku 1997 a úřadem European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (EMA) v červnu roku 1998.

Pro pacienty s WM je rituximab standardně používán s cyklofosfamidem, nyní již bez nutnosti schvalování revizními lékaři [28,29].

V dalších letech byly testovány protilátky s jiným cílem, s navázaným toxinem nebo bez něj, a probíhaly snahy o optimalizaci antiCD20 monoklonální protilátky s cílem zvýšit její vazebnou kapacitu na CD20 antigen nebo zvýšit aktivitu této protilátky.

Ofatumumab byl syntetizován tak, aby se vázal na nový membránový epitop a aby ve srovnání s rituximabem vedl k výraznější, na komplementu závislé cytotoxicitě [30]. Ale i přes vyšší vazebnou kapacitu nebyla v rámci srovnávací studie u pacientů s folikulárním lymfomem prokázána superiorita ofatumumabu nad rituximabem.

Nicméně podání ofatumumabu se objevilo v doporučení pro léčbu WM z roku 2016 [31] a v odborné literatuře je několik publikací, které pozitivně hodnotí použití této látky u pacientů s WM a pro léčbu pacientů s touto nemocí ji doporučují [32,33].

Další testovanou látkou byl obinutuzumab. Obinutuzumab byl schválen úřadem FDA v listopadu 2013 a evropským úřadem EMA v květnu 2014 v kombinaci s chlorambucilem pro léčbu dříve neléčených pacientů s chronickou B-lymfocytární leukémií. V únoru roku 2016 byl na základě studie GADOLIN úřadem FDA schválen také obinutuzumab v kombinaci s bendamustinem, a to pro léčbu refrakterních folikulárních lymfomů [34]. Opět byl tedy schválen lék pro dvě relativně časté nemoci ze skupiny tzv. low grade lymfoproliferací, zatímco WM zase zůstala stranou zájmu těchto studií jako nemoc-sirotek, i když se předpokládá efekt pro celou skupinu těchto low grade lymfoproliferací.

Obinutuzumab je typ II anti-CD20 protilátky s nižší cytotoxicitou závislou na komplementu, ale s větší intenzitou buněčné cytotoxicity závislé na protilátce. In vitro je obinutuzumab účinnější než rituximab [35]. Srovnávací studie rituximabu, ofatumumabu a obinutuzumabu provedené in vitro a na xenograftovém modelu uvádějí, že z těchto tří antiCD20 monoklonálních protilátek je nejúčinnější právě obinutuzumab [36].

V případě chronické lymfocytární leukémie (CLL) a folikulárního lymfomu je na rozdíl od WM již hodně klinických studií publikovaných in extenso, které popisují úspěšné použití obinutuzumabu. Pro rozhodování o léčbě jsou vždy nejdůležitější velké srovnávací studie, a proto stručně uvedeme jejich výsledky.

V rámci randomizované studie fáze II GAUSS byla srovnána monoterapie obinutuzumabem a rituximabem. V tomto

prvním randomizovaném srovnání byla testována monoterapie obinutuzumabem anebo rituximabem u 175 nemocných s relabujícími indolentními lymfomy po předchozí léčbě kombinovanými režimy s rituximabem. Pacienti dostali v týdenních intervalech čtyři infuze buď rituximabu v dávce 375 mg/m<sup>2</sup>, nebo obinutuzumabu (celková dávka 1 000 mg). Po ukončení těchto čtyř aplikací dostávali pacienti s léčebnou odpovědí stejnou účinnou látku v rámci udržovací léčby ve 2měsíčních intervalech po dobu 2 let. V podskupině pacientů s folikulárním lymfomem (n = 149) byla ORR o 11 % vyšší po obinutuzumabu než po rituximabu (44,6 vs. 33,3 %; p = 0,08). Tento výsledek byl zřetelný v celé skupině pacientů, v níž nezávislý panel hodnotitelů prokázal vyšší ORR po obinutuzumabu (44,6 %) než po rituximabu (26,7 %) (p = 0,01). Vyšší ORR se však nepromítla do prodloužení PFS [37].

V klinické studii GALLIUM bylo randomizováno 1 202 pacientů s folikulárními lymfomy do skupiny léčené standardní chemoterapií buď s klasickou dávkou rituximabu, nebo s klasickou dávkou obinutuzumabu. Obinutuzumab byl v této studii podáván v 1. cyklu 1., 8. a 15. den v dávce 1 000 mg a pak vždy 1. den dalšího cyklu. Rituximab byl podáván v standardní dávce 375 mg/m<sup>2</sup> 1. den každého cyklu. První hodnocení, které bylo provedeno při mediánu sledování 34,5 měsíce, prokázalo, že chemoterapie v kombinaci s obinutuzumabem měla lepší výsledky, nižší riziko progresu a nižší riziko úmrtí než chemoterapie v kombinaci s rituximabem. Tříleté PFS při použití obinutuzumabu a rituximabu bylo 80,0 vs. 73,3 % [38].

Stejně tak další analýza stejné studie publikovaná s mediánem sledování 41,1 měsíce prokázala, že PFS bylo delší ve skupině s obinutuzumabem a chemoterapií ve srovnání se skupinou léčenou rituximabem a chemoterapií. Studie GALLIUM tedy již prokázala signifikantní prodloužení PFS při podání obinutuzumabu, ale prodloužení PFS se v této studii nepromítlo do signifikantních rozdílů v OS [39,40].

Další publikace pozitivní hodnocení obinutuzumabu u low grade lymfomů (folikulární lymfom) jen potvrdily [41–44].

**Tab. 6. Klinické studie, které měly za cíl srovnat účinnost obinutuzumabu a rituximabu v monoterapii nebo v kombinaci s chemoterapií.**

Studie, autor	Diagnóza	Počet pacientů	Léčba	ORR	CR	PFS
GAUSS Sehn et al. 2015 [37]	relabující indolentní lymfomy	175	obinutuzumab monoterapie	44,6 %	41,9 %	bez rozdílu
			rituximab monoterapie	33,3 %	22,7 %	bez rozdílu
GALLIUM Marcus et al. 2016, 2017 [38,40] Hidemann et al. 2018 [39]	neléčené folikulární lymfomy	1 202 chemoterapie CVP nebo CHOP nebo bendamustin (použit v 51 %)	obinutuzumab + chemoterapie	88,5 %	23,8	3leté PFS 80 %
			rituximab + chemoterapie	86,9 %	19,5	3leté PFS 73,3 %
CLL-11 Goede et al. 2014 [45]	chronická lymfatická leukemie	781	obinutuzumab + chlorambucil		20,7	medián PFS 26,7 měs.
			rituximab (500 mg/m <sup>2</sup> ) + chlorambucil		7,0 %	medián PFS 15,2 měs.
GOYA Vitolo et al. 2016 [46]	DLBCL	1 418	obinutuzumab + CHOP	bez rozdílu	bez rozdílu	bez rozdílu
			rituximab + CHOP			

CR – kompletní odpověď, CVP – cyklofosfamid, vinkristin, prednison, CHOP – cyklofosfamid, adriamycin, vinkristin, prednison, DLBCL – difúzní velkobuněčný lymfom, ORR – celkový počet léčebných odpovědí, PFS – přežití bez progresu

Do skupiny low grade lymfomů patří také CLL, u ní byl také srovnáván obinutuzumab s rituximabem v rámci německé studie CLL-11. V této studii byla použita pro pacienty s CLL vyšší dávka rituximabu 500 mg/m<sup>2</sup>, nikoliv standardní dávka 375 mg/m<sup>2</sup>. Obinutuzumab byl použit v klasické dávce 1 000 mg pro jedno podání. Lepší výsledky měla skupina léčená obinutuzumabem a chlorambucilem ve srovnání se skupinou léčenou rituximabem a chlorambucilem [45].

Obinutuzumab byl pochopitelně také testován u difúzního velkobuněčného lymfomu (diffuse large B-cell lymphoma – DLBCL) v rámci studie GOYA. Ve skupinách léčených obinutuzumabem + chemoterapií anebo rituximabem + chemoterapií nebyly u pacientů s DLBCL zaznamenány signifikantní rozdíly [46, 47]. Ke stejným závěrům dospěly studie publikované zatím jen ve formě abstraktů [48].

Z výše uvedených výsledků klinických studií vyplývá, že obinutuzumab je účinnější než rituximab ve skupině low grade lymfomů, ale tato přednost, zřetelná

velmi dobře u folikulárního lymfomu a CLL, se nepotvrdila ani ve skupině pacientů s DLBCL, ani ve skupině pacientů s lymfomem marginální zóny [49]. Výsledky uvedených srovnávacích studií uvádí tab. 6.

K dubnu 2022 byla zveřejněna pouze jedna metaanalýza vyhodnocující role antiCD20 protilátek u pacientů s ne Hodgkinskými lymfomy s následujícími závěry:

- kombinace obinutuzumab + chemoterapie signifikantně zlepšuje PFS ve srovnání s kombinací rituximab + chemoterapie;
- kombinace ofatumumabu a chemoterapie dosahuje nižší ORR než rituximab a chemoterapie;
- 90Y-ibritumomab tiuxetan ve srovnání s rituximabem + chemoterapií zvyšuje ORR [50].

V roce 2019 byla zveřejněna i ekonomická analýza použití obinutuzumabu u pacientů s folikulárním lymfomem v USA. Autoři této analýzy dospěli k závěru, že použití obinutuzumabu s chemoterapií je efektivní i z po-

hledu vynaložených nákladů a dosažených výsledků [51]. Tato analýza má však platnost pouze pro zemi, v níž byla provedena.

Protože WM se svým biologickým chováním patří do stejné kategorie CD20 pozitivních low grade lymfoproliferací jako folikulárním lymfom či CLL, je velmi pravděpodobné, že kombinace s obinutuzumabem budou dosahovat vyššího počtu léčebných odpovědí s delším trváním, jak to prokázaly klinické studie v případě CLL anebo folikulárního lymfomu (tab. 3). Naše první zkušenost [52] by tomu nasvědčovala. V březnu 2022 ukončilo tuto léčbu již pět našich pacientů s WM, kteří netolerovali rituximab. Konstatovali jsme, že ve všech případech bylo dosaženo hlubší léčebné odpovědi než v předchozích liniích léčby, a doufáme, že se to projeví i delším intervalem PFS. To činí kombinaci obinutuzumab + bendamustin velmi atraktivní pro pacienty s WM, kteří netolerují rituximab. Výsledky první klinické studie, v níž byl použit pro léčbu WM obinutuzumab v kombinaci s dalším lékem, byly publikovány až v roce 2021 [53].



Tab. 7. Pacienti, kteří netolerovali rituximab a byla pro ně použita kombinace obinutuzumab + bendamustin.

Pacient, rok narození, věk a rok při zahájení léčby WM	Předchozí linie léčby, počet cyklů, léčebná odpověď	Datum léčby kombinací obinutuzumab + bendamustin + dexametazon, počet cyklů, léčebná odpověď
muž, nar. 1954, 66 let (2020)	<b>1. linie:</b> 3–10/2019 RCD; rituximab s narůstající intolerancí jen do 3. cyklu, od 4. do 8. cyklu jen CD bez rituximabu; efekt: PR <b>2. linie:</b> 7/2020 až 1/2021 8 cyklů bendamustin + dexametazon; efekt: PR	6/2021 až 3/2022 8 cyklů obinutuzumab + bendamustin + dexametazon; efekt: VGPR
žena, nar. 1950, 71 let (2021)	<b>1. linie:</b> 12/2020 až 5/2021 rituximab + bendamustin + dexametazon; pro intoleranci rituximabu od 2. do 4. cyklu jen bendamustin + dexametazon, 4. cyklem léčba ukončena; efekt: MR	6/2021 až 2/2022 8 cyklů obinutuzumab + bendamustin + dexametazon; efekt: PR
žena, nar. 1941, 78 let (2019)	<b>1. linie:</b> 9/2019 až 3/2020 RCD; pro alergii od 3. do 7. cyklu bez R, pouze cyklofosamid + kortikoidy; efekt: PR	8/2021 až 3/2022 8 cyklů obinutuzumab + bendamustin + dexametazon; efekt: CR
žena, nar. 1950, 56 let (2006)	<b>1. linie:</b> 5/2006 až 8/2006 2× R-Flu-Cy s intolerancí R; <b>2. linie:</b> 11/2012 až 6/2013 8× CVD; efekt: PR <b>3. linie:</b> 7/2017 až 11/2017 5× bendamustin + dexametazon; efekt: PR	1/2020 až 8/2020 8 cyklů obinutuzumab + bendamustin + dexametazon; efekt: VGPR
žena, nar. 1964, 49 let (2013)	<b>1. linie:</b> 7–10/2013 R-CHOP, intolerance rituximabu; od 2. do 4. cyklu jen CHOP, 4. cyklem léčba ukončena; efekt: PR <b>2. linie:</b> 11/2018 až 3/2019 5× bendamustin a dexametazon; efekt: PR	5/2020 až 12/2021 8 cyklů obinutuzumab + bendamustin + dexametazon; efekt: VGPR

CR – kompletní remise, MR – minimální odpověď, PR – partiální remise, RCD – rituximab, cyklofosamid, dexametazon, R-CHOP – rituximab, cyklofosamid, adriamycin, vinkristin, prednison, R-Flu-Cy – rituximab, fludarabin, cyklofosamid, VGPR – velmi dobrá partiální remise, WM – Waldenströmova makroglobulinemie

Monoklonální protilátka rituximab přispěla ke zlepšení léčby WM. Novější alternativa obinutuzumab dosáhla v případech folikulárního lymfomu a CLL větší počet odpovědí i delšího PFS. Spekuluje se, že určitý vliv na to bude mít vyšší kumulativní dávka obinutuzumabu ve srovnání s kumulativní dávkou rituximabu. Klasické schéma léčby obinutuzumabu má v prvním cyklu tři aplikace po 1 000 mg v týdenních intervalech a teprve v dalších cyklech následuje jedna aplikace obinutuzumabu na cyklus. Rituximab se podává 1× za cyklus ve standardní dávce 375 mg/m<sup>2</sup>, vyjma studie CLL-11, kdy byla použita dávka 500 mg/m<sup>2</sup> [54].

Každopádně v uvedeném dávkování je obinutuzumab velmi účinným lékem pro low grade CD20 pozitivní lymfoproliferace.

Na našem pracovišti jsme použili obinutuzumab se souhlasem plátce zdra-

votní péče u pěti pacientů s WM, kteří netolerovali rituximab. Pozitivním překvapením bylo, že u všech pěti pacientů bylo dosaženo hlubší léčebné odpovědi než v předchozích liniích léčby. Předchozí léčebné linie, jejich efekt a efekt léčby obinutuzumabem a bendamustinem ilustruje tab. 7 a sledované laboratorní výsledky pak tab. 8.

Obinutuzumab tedy představuje užitečnou alternativu rituximabu v případě intolerance rituximabu nebo je alternativou při časně progresi po režimu obsahujícím rituximab.

#### Bendamustin

Zlatým standardem je trojkombinace antiCD20 protilátka (rituximab) + alkylační cytostatikum + dexametazon. Výsledky klinických studií z posledních let prokázaly, že použití bendamustinu místo klasického alkylačního cytostatika

cyklofosfamidu u pacientů s WM prodlouží PFS, a tím i OS.

Tento fakt chceme doložit výčtem klinických studií, které k tomuto závěru vedly, protože bendamustin je možné podat pacientům s WM jen se schválením revizního lékaře.

#### Bendamustin u dříve léčených pacientů

První zkušenosti s léčbou WM bendamustinem byly publikovány již v roce 2011. Šlo o 24 pacientů s relapsem WM či onemocněním refrakterním na iniciační léčbu. Všichni tito již dříve léčení pacienti dostávali 2 dny po sobě bendamustin (90 mg/m<sup>2</sup>) a rituximab podávaný ve 4týdenních intervalech. Medián podaných cyklů byl 5. Celková ORR u této předléčené populace byla 83 % (20/24). Medián PFS byl 13,2 měsíce. Prolongovaná myelosuprese byla častější u těch pacientů, kteří byli v rámci předchozí léčby

**Tab. 8. Vývoj laboratorních parametrů při léčbě kombinací obinutuzumab + bendamustin + dexametazon. Uvedené laboratorní hodnoty byly změřeny před zahájením této léčby a po jejím ukončení.**

	Před léčbou M-IgM, příp. IgM (g/l)	Po léčbě M-IgM příp. IgM (g/l)	Hb před léčbou (g/l)	Hb po léčbě (g/l)	CRP před léčbou (mg/l)	CRP po léčbě (mg/l)	K/L před léčbou	K/L po léčbě	Léčebná odpověď
muž, nar. 1954	M-IgM 16	M-IgM 1,5	116	136	6	4,4	12,5	1,31	VGPR
žena, nar. 1950	M-IgM 12,8	M-IgM 2,8	115	134	4,1	3,9	2,27	3,9	PR
žena, nar. 1941	M-IgM 9,3	M-IgM S. fix neg.	118	151	41	6,9	1,68	1,22	CR
žena, nar. 1950	M-IgM 8,6 IgM 17	M-IgM S. fix poz. IgM 2,25	85	130	28	3,6	0,4	0,36	VGPR
žena, nar. 1964	M-IgM 8,9 IgM 10,9	M-IgM S. fix poz. IgM 0,29	101	118	16	3,8	48,1	3,8	VGPR

CR – kompletní remise, CRP – C-reaktivní protein, Hb – hemoglobin, IgM – celková koncentrace všech imunoglobulinů IgM (monoklonálního i nemonoklonálního) stanovená metodou nefelometrie, K/L – poměr koncentrace volných lehkých řetězců kappa/lambda v séru, M-IgM – monoklonální imunoglobulin typu IgM stanovený elektroforézou a denzitometrií, neg. – negativní, poz. – pozitivní, PR – parciální remise, S. fix – imunofixační elektroforéza v séru, VGPR – velmi dobrá parciální remise

vystavení fludarabinu nebo kladribinu. Treon et al. prokázali, že bendamustinem v kombinaci s rituximabem lze získat vysoký počet léčebných odpovědí i u předléčených nemocných [55].

K podobným závěrům o vysokém počtu odpovědí u předléčených nemocných dospěla italská studie z roku 2015. Zahrnula 71 pacientů s mediánem věku 72 let, s relabovaným či refrakterním WM (medián dvě linie předchozí léčby). Kombinace rituximab + bendamustin dosáhla PR u 74,6 % pacientů a podíl pacientů s PR + MR byl 80,2 %. Roční a 3leté PFS bylo 80 % a 60 %. Autoři této studie prokázali, že bendamustin je vhodným lékem i pro starší pacienty [56].

#### **Bendamustin u dříve neléčených pacientů**

U nově diagnostikovaných pacientů se začal bendamustin testovat v rámci klinických studií o něco později. Závěry francouzské studie byly zveřejněny v roce 2019. Celkem 69 dříve neléčených pacientů s WM bylo léčeno kombinací bendamustin + rituximab. ORR po 18 měsících od léčby byla 97 % a 2leté PFS dosáhlo 87 %. Jak mutace MYD 88, tak CXCR4 neměly vliv na počet léčebných odpovědí [57].

Ve stejném roce 2019 potvrdila vysoký počet léčebných odpovědí také skupina East German Lymphoma Study Group. Šlo velkou studií, do níž bylo zahrzeno 293 pacientů s WM léčených rituximabem a bendamustinem. ORR byla 91,4 % a 5leté přežití 78 %. Medián PFS byl 65,3 měsíce [58].

#### **Srovnávací studie kombinace**

##### **rituximab + bendamustin s jinými režimy**

Základem pro rozhodování o léčbě jsou srovnávací studie. První zprávy o excelentním výsledku kombinace rituximab + bendamustin vplynuly v roce 2013 (tedy před 9 lety) z německé studie. V prospektivní randomizované studii byla léčba bendamustinem a rituximabem srovnávána s režimem rituximab + cyklofosfamid, doxorubicin, vinkristin a prednison (R-CHOP) ve skupině pacientů s low grade lymfomy. Jednu podskupinu tvořilo 41 pacientů s WM, z nichž 22 dostalo bendamustin a 19 pacientů dostalo R-CHOP. V obou podskupinách počet léčebných odpovědí dosáhl 95 %, ale medián PFS byl signifikantně delší ve skupině léčené bendamustinem. Medián PFS ve skupině léčené R-CHOP byl 36 měsíců, za-

tímco ve skupině léčené bendamustinem nebyl v době hodnocení dosažen ( $p < 0,001$ ). V době analýzy byly prokázány jen čtyři (18 %) relapsy ve skupině léčené rituximabem + bendamustinem, zatímco ve skupině léčené R-CHOP bylo v té době již prokázáno 11 relapsů (58 %). To jsou výsledky jen pro jednu podskupinu WM, ale lepší výsledky měli všichni pacienti této studie léčení rituximabem s bendamustinem. Pacienti léčení bendamustinem měli nejen lepší léčebnou odpověď a menší počet relapsů, ale i tolerance léčby byla v této skupině podstatně lepší. Po bendamustinu není alopecie, byla menší hematologická toxicita a méně infekcí, ale i menší počet neuropatií [59]. Tato práce iniciovala další ověření.

O pár let později, v roce 2017, bylo z Dana-Farber Cancer institutu v USA zveřejněno závěrečné hodnocení studie, která u pacientů s WM srovnávala tři režimy – rituximab s bendamustinem vs. rituximab, cyklofosfamid a dexametazon, příp. rituximab, bortezomib a dexametazon. Všechny režimy měly vysoký počet léčebných odpovědí, ale riziko progresu po léčbě bylo menší u pacientů léčených kombinací bendamustin + ri-

tuximab nebo bortezomib + dexametazon + rituximab ve srovnání s léčbou rituximabem a cyklofosfamidem neboli v režimu bendamustin s rituximabem bylo dosaženo delší léčebné odpovědi než při léčbě rituximabem s cyklofosfamidem a dexametazonem [60].

Největší srovnávací analýza je z Mayo Clinic, její výsledky shrnuje tab. 9.

Do této studie bylo zařazeno 160 pacientů, z nichž 60 bylo léčeno kombinací rituximab + bendamustin, z toho 43 pacientů mělo relabující nemoc a jen 17 mělo rituximab s bendamustinem jako iniciační léčbu. Celkem 100 pacientů bylo léčeno kombinací rituximab + cyklofosfamid + dexametazon, 50 z nich v rámci iniciační léčby a 50 v rámci léčby relabující nemoci.

U pacientů dříve neléčených dosáhla léčba kombinací rituximab + bendamustin ORR 93 %, zatímco léčba kombinací rituximab + cyklofosfamid + dexametazon dosáhla ORR 96 %. Dvouletého PFS dosáhlo z dříve neléčené skupiny pacientů 88 % po kombinaci s bendamustinem vs. 61 % po kombinaci s cyklofosfamidem ( $p = 0,07$ ).

U podskupin již dříve léčených pacientů byla ORR 95 % po bendamustinu s rituximabem vs. 87 % po kombinaci rituximabu s cyklofosfamidem a dexametazonem ( $p = 0,45$ ). Medián PFS ve skupině s bendamustinem byl 58 měsíců, zatímco ve skupině s cyklofosfamidem jen 32 měsíců. Dvouleté PFS bylo 66 % po bendamustinu vs. 53 % po režimu s cyklofosfamidem ( $p = 0,08$ ). Tyto výsledky byly nezávislé na statusu MYD88 [61]. A tato fakta doplnila metaanalýza používaných režimů z roku 2016 [62]. Proto byl v letech 2021 a 2022 pro pacienty s WM preferován režim bendamustin + rituximab.

Pouze v případě infiltrace centrálního nervového systému a výskytu Bing Neel syndromu je preferována léčba pronikající přes hemoencefalickou bariéru [19]. Dle prvních zpráv překonává hemoencefalickou bariéru ibrutinib. Při léčbě ibrutinibem byl při zobrazovacích vyšetřeních prokázán rychlý ústup symptomů a infiltrace nervového systému [63].

Účinek kombinace bendamustin + rituximab lze zvýšit ještě přidáním bortezomibu, ale zvýší se tak i toxicita léčby [64,65].

**Tab. 9. Srovnávací studie kombinace rituximab + cyklofosfamid + dexametazon vs. rituximab + bendamustin. Léčené výsledky jsou lepší jak u dříve neléčených pacientů, tak u pacientů s relapsem nemoci. Celkem bylo léčeno 60 pacientů bendamustinem a rituximabem a 100 pacientů kombinací cyklofosfamid + rituximab + bendamustin [61].**

	ORR (%)	2leté PFS (%)		Medián PFS (měsíce)
BR (primoléčba)	93	88	$p = 0,07$	neuveden
RCD (primoléčba)	96	61		neuveden
BR (další linie)	95	66	$p = 0,08$	58
RCD (další linie)	87	53		32

BR – bendamustin + rituximab, PFS – přežití bez progresu, RCD – rituximab + cyklofosfamid + dexametazon

#### Použití léků u WM, které se standardně používají pro léčbu MM *Thalidomid a lenalidomid*

Nové léky, které v klinických studiích prokázaly přínos pro pacienty s MM, jsou také účinné u WM. Při léčbě kombinací rituximab + thalidomid byla ORR 72 %, ale závažnou komplikací této léčby byla neuropatie [66], a proto další studie testovaly lenalidomid.

Ve studii prováděné v USA s kombinací rituximab + lenalidomid byla ORR 50 %, ale PR byla dosažena jen u 25 % [67]. Ve studii z Francie dosáhl lenalidomid v monoterapii ORR pouze 29 % a taktéž k nežádoucím účinkům patřila anemie [68].

Imidy thalidomid a lenalidomid mají potenciál u části pacientů přinést v kombinaci s rituximabem léčebnou odpověď. Mají však potenciál zhoršit subklinickou neuropatii, která nebývá u pacientů s WM zřídka, a prohlubují anemii. Imidy určitý efekt u WM mají, ale jiné léky jsou účinnější.

#### *Bortezomib*

Bortezomib má potenciál dosáhnout léčebné odpovědi nejen u MM, ale také u WM. Téměř před 12 lety na to poukázali Dimopoulos et al. [69,70]. Klinické studie, které s tímto lékem proběhly, prokázaly ORR v rozmezí 81–96 %. Bortezomib byl použit jak ve schématu s aplikací 2x týdně první 2 týdny ve 3týdenním intervalu, tak i s aplikací 1x týdně [71–73]. Při léčbě bortezomibem mutace CXCR4 snižuje počet léčebných odpovědí [74].

Kombinace rituximab + bortezomib podávaná 1x týdně u dříve neléčených nemocných vedla k parciální remisi u 23 z 26 pacientů a roční PFS bylo 79 % [75]. Skupina The European Myeloma Network použila podobný protokol (kombinace bortezomib + rituximab + dexametazon) taktéž u dříve neléčených nemocných. První cyklus proběhl bez rituximabu s cílem snížit riziko IgM-flare. ORR byla 85 %, medián PFS byl 42 měsíců a 3leté OS bylo 81 % [76].

Periferní neuropatie byla v průběhu léčby diagnostikována u 46 %. Kombinace bortezomib + rituximab + dexametazon je tedy také alternativou pro léčbu relapsu, ale je třeba pečlivého sledování a vyhodnocování míry neuropatie, která po zahájení léčby nastupuje docela časně [76].

Kombinace s bortezomibem byla taktéž testována u pacientů s nemocí chladových aglutininů, počet léčebných odpovědí zde však byl jen 32 % [77], a to je podstatně slabší výsledek než při léčbě nemoci chladových aglutininů kombinací rituximab + bendamustin s ORR 78 %, PR 53 % a dobou trvání léčebné odpovědi > 88 měsíců [78]. Bortezomibový režim se ale osvědčil u pacientů se získaným von Willebrandovým syndromem [79,80].

Bortezomib je tedy účinný, ale u pacientů s WM je provázen nepřehlednou neuropatií. Jeho účinnost byla potvrzena již ve velkém počtu publikací

(z důvodu místa je nelze všechny citovat). Spolu s okolností, že generické preparáty zlevnily léčbu, tyto kombinace představují reálnou možnost i pro naše pacienty.

#### **Karfilzomib**

Dalším z této skupiny je karfilzomib. Na rozdíl od bortezomibu nepatří do spektra jeho nežádoucích účinků neuropatie, a přitom má u WM docela vysokou účinnost. Při léčbě kombinací karfilzomib + dexametazon + rituximab bylo u dříve neléčených pacientů dosaženo ORR 87 %, PR 10 % a velmi dobré parciální remise (very good partial remission – VGPR) 10 %. Po 2 letech 65 % léčených zůstávalo bez progresu nemoci. Periferní neuropatie nebo kardiomyopatie při léčbě postihly jen 3 % léčených [81].

V další retrospektivní analýze profitovalo z karfilzomibu šest ze šesti pacientů s WM [82]. Karfilzomib v kombinaci s antiCD20 monoklonální protilátkou je tedy také účinný režim pro pacienty s WM [83], ale pro naše pacienty je hůře dostupný než bortezomib.

#### **Ixazomib**

Nejmladší zástupce této skupiny léků si ponechává stejnou výhodu jako karfilzomib (absence neurotoxicity), navíc k jeho přednostem patří perorální podávání. A tak není divu, že v souvislosti s WM je mu věnováno hodně pozornosti. Perorální inhibitor proteazomu ixazomib při kombinaci s dexametazonem a rituximabem v souboru 26 pacientů dosáhl ORR 96 %, PR 77 % a VGPR 19 %. Medián PFS byl 40 měsíců. Medián intervalu k dosažení léčebné odpovědi byl jenom 8 týdnů. Tato studie ukazuje, že u WM by ixazomib v budoucnu mohl být často používaným lékem [84].

V roce 2022 byly zveřejněny první výsledky evropské studie s ixazomibem a rituximabem, tentokrát u relabujících pacientů. Pacienti dostali osm cyklů kombinace rituximab + ixazomib. ORR dosáhla 71 %, což je u předléčených pacientů dobrý výsledek, a ve 14 % případů se jednalo o VGPR. Medián trvání léčebné odpovědi byl 36 měsíců [85] a u pacienta s nemožností dojíždět na infuzní léčbu byl účinný i ixazomib v mo-

noterapii. Citované publikace naznačují, že pro pacienty s WM může být ixazomib optimálním inhibitorem proteazomu s dobrou účinností, ale i tolerancí a že bychom jej měli zvažovat i u našich pacientů [86].

#### **Ibrutinib**

Dalším lékem, který přinesl pokrok pro léčbu MR, je ibrutinib. Farmakodynamiku a farmakokinetiku velmi podrobně popsali Mihályová a Ďuraš [87]. Pro naše pacienty s WM sice nepředstavuje lék první volby, ale při recidivě nemoci může být účinnou zbraní. Uvedeme několik dat o jeho účinnosti.

V rámci klinické studie dostávalo ibrutinib 63 relabujících či refrakterních pacientů. U této skupiny pacientů bylo dosaženo PR 73 % a ORR činila 90,5 %. Dvouleté PFS a OS bylo 69,1 a 95,2 %. Medián do dosažení léčebné odpovědi byl jen 4 týdny [88]. Nejčastější nehematologické toxicity byly průjem, krvácení a fibrilace síní (10,7 %) [89]. Ibrutinib je však třeba podávat dlouhodobě, protože po jeho přerušení dochází k rychlému vzestupu M-IgM [90]. Pacienti s nemutovaným genem *MYXD* mají nižší počet ORR [91].

V multicentrické studii, která zahrnovala 31 pacientů refrakterních na režim s rituximabem, byla v rámci druhé linie použita léčba ibrutinibem. ORR byla 90 % a parciální remise dosáhlo 71 %. Osmnáctiměsíční PFS dosáhlo 86 % a po 18 měsících od zahájení léčby žilo 97 % léčených [92]. Z této studie vyplývá, že právě pacienti refrakterní na iniciální léčbu či s relapsem v krátkém intervalu od ukončení léčby první linie jsou vhodnými kandidáty této léčby.

U dříve neléčených 30 nemocných dosáhl ibrutinib v monoterapii PR 80 % a přitom nebyl zjištěn rozdíl mezi pacienty s „wild-type“ nebo mutovaným *MYD 88*. Fibrilace síní byla popsána u 10 % léčených [93].

U dříve neléčených nemocných jiní autoři popsali ORR 100 % a PR 83 % [94].

Další informace o účinnosti ibrutinibu jsou z registrů, tedy informací přicházejících ne z klinických studií, ale z reálného života. Při hodnocení 80 pacientů léčených ibrutinibem bylo dosaženo ORR 91 % a 18měsíčního PFS u 82 % lé-

čených. Ovšem 21 pacientů přerušilo léčbu pro její toxicitu, opět dominovala fibrilace síní (11 % léčených). Vzestup M-IgM po ukončení léčby byl pozorován u 36 pacientů [95].

Zatím jsou zveřejněny výsledky první studie, do níž byli pozváni dříve neléčení pacienti, kteří byli randomizováni mezi skupinami léčenými kombinací rituximab + ibrutinib nebo rituximab + placebo.

Při hodnocení po 30 měsících léčby bylo PFS ve skupině rituximab + ibrutinib 82 % a ve skupině rituximab + placebo jen 28 % ( $p < 0,001$ ). Benefit kombinace ibrutinib + rituximab oproti kombinaci rituximab + placebo byl nezávislý na genotypu MYD88 nebo CXCR4. Pacienti s kombinací rituximab + ibrutinib měli oproti druhé skupině signifikantní vzestup hemoglobinu (73 vs. 41 %;  $p < 0,001$ ) [96].

Pochopitelně toxicita byla vyšší ve skupině na ibrutinibu s rituximabem než ve skupině léčené kombinací placebo + rituximabem a opět zahrnovala fibrilaci síní (12 vs. 1 %) a hypertenzi (13 vs. 4 %).

Účinnost ibrutinibu souvisí s dávkou – pacienti s dávkou  $< 97$  % plánované dávky měli kratší PFS [97]. Přerušení léčby ibrutinibem na  $> 1$  týden je spojeno se čtyřnásobným rizikem progresu. Pokud již jednou léčba ibrutinibem začne, je třeba ji podávat dlouhodobě a předpokladem léčebného úspěchu je compliance. Přerušení podávání ibrutinibu je spojeno i s dalšími nežádoucími reakcemi – horečka, noční poty, bolesti kloubů a bolesti hlavy. A proto i když je při malé efektivitě ibrutinibu plánována jiná léčba, tak by podávání ibrutinibu mělo pokračovat do zahájení další linie léčby, aby nedošlo k „rebound“ fenoménu [98]. Léčba ibrutinibem v monoterapii nebo v kombinaci s rituximabem byla prověřena i dalšími velkými studiemi a byla shledána účinnou.

Lékaři, kteří jej indikují, si ale musí být vědomi jeho nežádoucích účinků. Ibrutinib může způsobovat krvácivé komplikace, a tak je nutno pečlivě zvažovat, zda může současně probíhat antiagregační či antikoagulační léčba. Antitrombotickou léčbu je možné ponechat, ale za přísného sledování tolerance. V pří-

padě, že by pacienti brali warfarin, doporučuje se přechod na nízkomolekulární heparin nebo přímá antikoagulancia.

Dále je nutno respektovat interakce mezi ibrutinibem a dalšími léky (digoxin, dabigatran, verapamil a amiodaron). Interakce byly popsány taktéž s některými antibiotiky (makrolidy, rifampicin) a antiepileptiky. Tyto interakce mohou zvýšit toxicitu či snížit účinnost. V případě operace má být ibrutinib vysazen 3–7 dní před výkonem a zásadně nemá být podáván pacientům vyžadujícím duální či intenzivnější antikoagulační a antitrombotickou léčbu [99].

### Další inhibitory Brutonovy kinázy

Ibrutinib je prvním, ale ne posledním lékem této řady. Podobně jako u jiných lékových skupin, i zde se objevují další a další generace inhibitorů Brutonovy kinázy. První z nich je akalabrutinib (ACP-196). Tento lék byl ověřen v klinických studiích u vybraných lymfoproliferací, zatím však není pro naše pacienty dostupný, i když má již schválení pro chronickou lymfatickou leukemii a „mantle cell“ lymfom. Ve studii bylo zaznamenáno 1 % fibrilace síní, závažné krvácivé komplikace měla 3 % pacientů. Jeden pacient zemřel na intrakraniální hematoma. Zda bude fibrilace síní opravdu méně častá, prokáží až další studie [100,101].

Zanubrutinib je další z inhibitorů Brutonovy kinázy druhé generace. V randomizované studii ve srovnání s ibrutinibem neprokázal vyšší účinnost, pouze tendence k lepšímu účinku a k nižší toxicitě, hlavně kardiiovaskulární [102,103]. Z uvedených publikací je zřejmé, že v budoucnu bude používáno více preparátů z této skupiny, podobně jako jsme toho byli svědky u inhibitorů proteazomu [104,105].

### Venetoklax

A protože makroglobulinemie také výrazně exprimuje BCL-1, testuje se zde také venetoklax. Opět zde ale platí, že u WM je tento lék teprve na počátku zkoušení [107].

V této indikaci je také testován idelalisib a čeští autoři po terapii tímto lékem popsali M-IgM-flare podobně jako u rituximabu [108,109].

### Transplantace

U WM se používá již léta vysokodávkovaná chemoterapie s autologní transplantací. Tato léčebná alternativa má stále své místo u vhodných pacientů s WM podobně jako u vhodných pacientů s MM a měla by být stále zvažována v léčebném plánu těchto pacientů, jak přehledně uvedli Kyriakou [110] a Kaščák et al [111].

### Závěr

Waldenströмова makroglobulinemie je relativně vzácná nemoc, a proto i její časné rozpoznání občas činí problém. Nemoc je méně agresivní než mnohčetný myelom. V současnosti, v roce 2022, je pro iniciační léčbu upřednostňována kombinace rituximab + bendamustin před kombinací rituximab + cyklofosfamid. Na našem pracovišti používáme bendamustin v dávce 70 mg/m<sup>2</sup> a podáváme jej 1. a 15. den cyklu, což považujeme za vhodnější než 1. a 2. den cyklu. Dle počtu trombocytů a neutrofilů pak můžeme dávku 15. den upravit a vyhnout se kritické cytopenii.

V případě neúčinnosti této kombinace podáváme kombinaci rituximab + bortezomib, ale rádi bychom místo něj vyzkoušeli ixazomib či karfilzomib, protože tyto léky nejsou tak neurotoxické. Rituximab, protilátka proti antigenu CD20, je standardní součástí léčby. V textu však upozorňujeme na řešení problému při intoleranci rituximabu. Prokázali jsme velmi dobrý efekt kombinace obinutuzumab + bendamustin. Ve všech pěti případech tato kombinace dosáhla hlubší léčebné odpovědi než odpovědi v předchozích liniích.

Inhibitory Brutonovy kinázy jsou novou skupinou léků. Zatím jsme je použili jen u několika pacientů refrakterních k některé z výše uvedených terapií, protože přece jen mají své nevýhody (rebound fenomén při náhlém přerušení jejich podávání a známé nehematologické toxicity).

Nové preparáty ze skupiny inhibitorů Brutonovy kinázy měly v klinických studiích nižší toxicitu. Snad tomu bude také tak, až se dostanou do naší klinické praxe.

### Dedikace

Publikace byla vytvořena na podporu těchto aktivit: MZ ČR – RVO (FNBR, 65269705) a MOÚ: MZ ČR – RVO (MOÚ, 00209805).

### Literatura

1. Ščudla V, Minařík J, Píka T et al. Diferenciální diagnostika monoklonálních gamapatií z pohledu klinické praxe. I. maligní monoklonální gamapatie. *Int Med Praxi* 2017; 19(5): 274–278. doi: 10.36290/int.2017.060.
2. Kyle RA, Larson DR, Therneau TM et al. Long-term follow-up of monoclonal gammopathy of undetermined significance. *N Engl J Med* 2018; 378(3): 241–249. doi: 10.1056/NEJMoa1709974.
3. Varettoni M, Zibellini S, Boveri E et al. A risk-stratification model based on the initial concentration of the serum monoclonal protein and MYD88 mutation status identifies a subset of patients with IgM monoclonal gammopathy of undetermined significance at high risk of progression to Waldenström macroglobulinaemia or other lymphoproliferative disorders. *Br J Haematol* 2019; 187(4): 441–446. doi: 10.1111/bjh.16086.
4. Sandecká V, Adam Z, Krejčí M et al. Diagnostic relevance of 18F-FDG PET/CT in newly diagnosed patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS): Single-center experience. *Neoplasma* 2020; 67(4): 939–945. doi: 10.4149/neo\_2020\_191104N1137.
5. Wang H, Chen Y, Li F et al. Temporal and geographic variations of Waldenström macroglobulinemia incidence: a large population-based study. *Cancer* 2012; 118(15): 3793–3800. doi: 10.1002/cncr.26627.
6. Castillo JJ, Olszewski AJ, Kanan S et al. Overall survival and competing risks of death in patients with Waldenström macroglobulinaemia: an analysis of the Surveillance, Epidemiology and End Results database. *Br J Haematol* 2015; 169(1): 81–89. doi: 10.1111/bjh.13264.
7. Nanah A, Al Hadidi S. Bing-Neel syndrome: update on the diagnosis and treatment. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2022; 22(3): e213–e219. doi: 10.1016/j.clml.2021.09.014.
8. Píka T, Kosatíková Z, Juráňová J et al. Nekorpuskulární hyperviskózní syndromy v klinické praxi. *Int Med Praxi* 2014; 16(4): 156–158.
9. Jonsson V, Kierkegaard A, Salling S et al. Autoimmunity in Waldenström's macroglobulinemia. *Leuk Lymphoma* 1999; 34(3–4): 373–379. doi: 10.3109/10428199909050962.
10. Píka T, Flodr P, Novák M et al. Klinická problematika IgM nemonoklonálních gamapatií. *Klin Biochem Metab* 2014; 22(2): 61–64.
11. Owen RG, Treon SP, Al-Katib A et al. Clinicopathological definition of Waldenström's macroglobulinemia: consensus panel recommendations from the Second International Workshop on Waldenström's Macroglobulinemia. *Semin Oncol* 2003; 30(2): 110–115. doi: 10.1053/sonc.2003.50082.
12. Gerz MA. Waldenström macroglobulinemia: 2021 update on diagnosis, risk stratification, and management. *Am J Hematol* 2021; 96(2): 258–269. doi: 10.1002/ajh.26082.
13. Gavriatopoulou M, Musto P, Caers J et al. European myeloma network recommendations on diagnosis and management of patients with rare plasma cell dyscrasias. *Leukemia* 2018; 32(9): 1883–1898. doi: 10.1038/s41375-018-0209-7.
14. Elba S, Castellino A, Soriasio R et al. Immunoglobulin M (IgM) multiple myeloma versus Waldenström macroglobulinemia: diagnostic challenges and therapeutic options: two case reports. *J Med Case Rep* 2020; 14(1): 75. doi: 10.1186/s13256-020-02380-2.
15. Jelínek T, Bezděková R, Zátopková M et al. Current applications of multiparameter flow cytometry in plasma cell disorders. *Blood Cancer J* 2017; 7(10): e617. doi: 10.1038/bcj.2017.90.
16. Baďurová K, Gregorová J, Vlachová M et al. Waldenström macroglobulinemia. *Klin Onkol* 2021; 34(6): 428–433. doi: 10.48095/ccko2021428.
17. Sedlářková L, Sadílková L, Šedlářová K, Bešše L et al. Cytokine profiles of multiple myeloma and Waldenström mac-

- roglobulinemia. *Klin Onkol* 2014; 27(1): 18–23. doi: 10.14735/amko201418.
18. Banwait R, O'Regan K, Campigotto F et al. The role of 18F-FDG PET/CT imaging in Waldenstrom macroglobulinemia. *Am J Hematol* 2011; 86(7): 567–572. doi: 10.1002/ajh.22044.
19. Kaščák M, Hájek R, Minařík J et al. Diagnostika a léčba Waldenströmovy makroglobulinémie. *Trans Hematol Dnes* 2022; 28 (Suppl 1): S44–S74. doi: 10.48095/cctahd2022542.
20. Leleu X, Xie W, Bagshaw M et al. The role of serum immunoglobulin free light chain in response and progression in Waldenstrom macroglobulinemia. *Clin Cancer Res* 2011; 17(9): 3013–3018. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-10-2954.
21. Castillo JJ, Advani RH, Branagan AR et al. Consensus treatment recommendations from the tenth International Workshop for Waldenström Macroglobulinemia. *Lancet Haematol* 2020; 7(11): e827–e837. doi: 10.1016/S2352-3026(20)30224-6.
22. Kyle RA, Greipp PR, Gertz MA et al. Waldenstrom's macroglobulinemia: a prospective study comparing daily with intermittent oral chlorambucil. *Br J Haematol* 2000; 108(4): 737–742. doi: 10.1046/j.1365-2141.2000.01918.x.
23. Souchet L, Levy V, Ouzegdouh M et al. Efficacy and long-term toxicity of the rituximab-fludarabine-cyclophosphamide combination therapy in Waldenstrom's macroglobulinemia. *Am J Hematol* 2016; 91(8): 782–786. doi: 10.1002/ajh.24405.
24. Santos-Lozano A, Morales-Gonzalez A, Sanchis-Gomar F et al. Response rate to the treatment of Waldenstrom macroglobulinemia: a meta-analysis of the results of clinical trials. *Crit Rev Oncol Hematol* 2016; 105: 118–126. doi: 10.1016/j.critrevonc.2016.06.004.
25. Lunn MP. Neuropathies and paraproteins. *Curr Opin Neurol* 2019; 32(5): 658–665. doi: 10.1097/WCO.0000000000000726.
26. Ghobrial IM, Fonseca R, Greipp PR et al. Initial immunoglobulin M, 'flare' after rituximab therapy in patients diagnosed with Waldenstrom macroglobulinemia: an Eastern Cooperative Oncology Group Study. *Cancer* 2004; 101(11): 2593–2598. doi: 10.1002/cncr.20658.
27. Rummel MJ, Lerchenmüller C, Hensel M et al. Two years rituximab maintenance vs. observation after first line treatment with Bendamustine Plus Rituximab (B-R) in patients with Waldenström's Macroglobulinemia (MW): results of a prospective, randomized, multicenter phase 3 study. *Blood* 2019; 134 (Suppl 1): 343. doi: 10.1182/blood-2019-121909.
28. Dimopoulos MA, Anagnostopoulos A, Kyrtonis MC et al. Primary treatment of Waldenstrom macroglobulinemia with dexamethasone, rituximab, and cyclophosphamide. *J Clin Oncol* 2007; 25(22): 3344–3349. doi: 10.1200/JCO.2007.10.9926.
29. Kastritis E, Gavriatopoulou M, Kyrtonis MC et al. Dexamethasone, rituximab, and cyclophosphamide as primary treatment of Waldenstrom macroglobulinemia: final analysis of a phase 2 study. *Blood* 2015; 126(11): 1392–1394. doi: 10.1182/blood-2015-05-647420.
30. Mössner E, Brünker P, Moser P et al. Increasing the efficacy of CD20 antibody therapy through the engineering of a new type II anti-CD20 antibody with enhanced direct and immune effector cell mediated B cell cytotoxicity. *Blood* 2010; 115(22): 4393–4402. doi: 10.1182/blood-2009-06-225979.
31. Leblond V, Kastritis E, Advani R et al. Treatment recommendations from the Eighth International Workshop on Waldenström's Macroglobulinemia. *Blood* 2016; 128(10): 1321–1328. doi: 10.1182/blood-2016-04-711234.
32. Gavriatopoulou M, Kastritis E, Kyrtonis MC et al. Phase 2 study of ofatumumab, fludarabine and cyclophosphamide in relapsed/refractory Waldenström's macroglobulinemia. *Leuk Lymphoma* 2017; 58(6): 1506–1508. doi: 10.1080/10428194.2016.1233541.
33. Furman RR, Eradat HA, DiRienzo CG et al. Once-weekly ofatumumab in untreated or relapsed Waldenström's macroglobulinemia: an open-label, single-arm, phase 2 study. *Lancet Haematol* 2017; 4(1): e24–e34. doi: 10.1016/S2352-3026(16)30166-1.
34. Sehn LH, Chua N, Mayer J et al. Obinutuzumab plus bendamustine versus bendamustine monotherapy in patients with rituximab-refractory indolent non-Hodgkin lymphoma (GADOLIN): a randomised, controlled, open-label, multicentre, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2016; 17(8): 1081–1093. doi: 10.1016/S1470-2045(16)30097-3.
35. García-Muñoz R, López-Díaz-de-Cerio A, Felíu J et al. Follicular lymphoma: in vitro effects of combining lymphokine-activated killer (LAK) cell-induced cytotoxicity and rituximab- and obinutuzumab-dependent cellular cytotoxicity (ADCC) activity. *Immunol Res* 2016; 64(2): 548–557. doi: 10.1007/s12026-015-8747-9.
36. Herter S, Herting F, Mundigl O et al. Preclinical activity of the type II CD20 antibody GA101 (obinutuzumab) compared with rituximab and ofatumumab in vitro and in xenograft models. *Mol Cancer Ther* 2013; 12(10): 2031–2042. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-12-1182.
37. Sehn LH, Goy A, Offner FC et al. Randomized phase II trial comparing obinutuzumab (GA101) with rituximab in patients with relapsed CD20+ indolent B cell non-Hodgkin lymphoma: final analysis of the GAUSS study. *J Clin Oncol* 2015; 33(30): 3467–3474. doi: 10.1200/JCO.2014.59.2139.
38. Marcus RE, Davies AJ, Ando K et al. Obinutuzumab-based induction and maintenance prolongs progression-free survival (PFS) in patients with previously untreated follicular lymphoma: primary results of the randomized phase 3 GALLIUM study. *Blood* 2016; 128: 6.
39. Hiddemann W, Barbui AM, Canales MA et al. Immunotherapy with obinutuzumab or rituximab for previously untreated follicular lymphoma in the GALLIUM study: influence of chemotherapy on efficacy and safety. *J Clin Oncol* 2018; 36(23): 2395–2404. doi: 10.1200/JCO.2017.76.8960.
40. Seymour JF, Marcus R, Davies A et al. Association of early disease progression and very poor survival in the GALLIUM study in follicular lymphoma: benefit of obinutuzumab in reducing the rate of early progression. *Haematologica* 2019; 104(6): 1202–1208. doi: 10.3324/haematol.2018.209015.
41. Jamois C, Gibiansky E, Gibiansky L et al. Role of obinutuzumab exposure on clinical outcome of follicular lymphoma treated with first-line immunotherapy. *Br J Clin Pharmacol* 2019; 85(7): 1495–1506. doi: 10.1111/bcp.13920.
42. Salles GA, Morschhauser F, Solal-Céligny P et al. Obinutuzumab (GA101) in patients with relapsed/refractory indolent non-Hodgkin lymphoma: results from the Phase II GAUGUIN study. *J Clin Oncol* 2013; 31(23): 2920–2926. doi: 10.1200/JCO.2012.46.9718.
43. Cheson BD, Chua N, Mayer J et al. Overall survival benefit in patients with rituximab-refractory indolent non-Hodgkin lymphoma who received obinutuzumab plus bendamustine induction and obinutuzumab maintenance in the GADOLIN study. *J Clin Oncol* 2018; 36(22): 2259–2266. doi: 10.1200/JCO.2017.76.3656.
44. Marcus R, Davies A, Ando K et al. Obinutuzumab for the first-line treatment of Follicular lymphoma. *N Eng J Med* 2017; 377(14): 1331–1344. doi: 10.1056/NEJMoa1614598.
45. Goede V, Fischer K, Engelke A et al. Obinutuzumab as frontline treatment of chronic lymphocytic leukemia: updated results of the CLL11 study. *Leukemia* 2015; 29(7): 1602–1604. doi: 10.1038/leu.2015.14.
46. Vítko U, Trněný M, Belada D et al. Obinutuzumab or rituximab plus CHOP in patients with previously untreated diffuse large B-cell lymphoma: final results from an open-label, randomized phase 3 study (GOYA). *Blood* 2016; 128(22): 470. doi: 10.1182/blood.V128.22.470.470.
47. Sehn LH, Martelli M, Trněný M et al. A randomized, open-label, Phase III study of obinutuzumab or rituximab plus CHOP in patients with previously untreated diffuse large B-cell lymphoma: final analysis of GOYA. *J Hematol Oncol* 2020; 13(1): 71. doi: 10.1186/s13045-020-00900-7.
48. Casasnovas RO, Salles GA, Oberic L et al. Obinutuzumab versus rituximab in combination with ACVBP-14 or CHOP-14 following a PET-driven strategy in Aa-PI 1–3 DLBCL patients (< 60 years): third planned interim and final analyses of the gained trial. *Blood* 2017; 130 (Suppl 1): 190. doi: 10.1182/blood.V130.Suppl\_1.190.190.
49. Herold M, Hoster E, Janssens A et al. Immunotherapy and maintenance with obinutuzumab or rituximab in patients with previously untreated marginal zone lymphoma in the randomized GALLIUM trial. *Hemasphere* 2022; 6(3): e699. doi: 10.1097/HS9.0000000000000699.
50. Luo C, Wu G, Huang X et al. Efficacy and safety of new anti-CD20 monoclonal antibodies versus rituximab for induction therapy of CD20+ B-cell non-Hodgkin lymphomas: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep* 2021; 11(1): 3255. doi: 10.1038/s41598-021-82841-w.
51. Guzauskas GF, Masaquel A, Thuresson PO et al. Obinutuzumab plus chemotherapy followed by obinutuzumab monotherapy is cost-effective vs. rituximab plus chemotherapy followed by rituximab monotherapy for previously untreated follicular lymphoma patients in the United States. *Leuk Lymphoma* 2019; 60(7): 1668–1676. doi: 10.1080/10428194.2018.1551532.
52. Adam Z, Krejčí M, Pour L et al. Obinutuzumab v léčbě pacientky s Waldenströmovou makroglobulinémií netolerující rituximab – popis případu. *Transfuzie Hematol Dnes* 2021; 27(2): 160–165. doi: 10.48095/cctahd2021160.
53. Tomowiak C, Poulain S, Herbaux C et al. Obinutuzumab and idelalisib in symptomatic patients with relapsed/refractory Waldenström macroglobulinemia. *Blood Adv* 2021; 5(9): 2438–2446. doi: 10.1182/bloodadvances.2020003895.
54. Freeman CL, Sehn LH. A tale of two antibodies: obinutuzumab versus rituximab. *Br J Haematol* 2018; 182(1): 29–45. doi: 10.1111/bjh.15232.
55. Treon SP, Hanzis C, Tripsas C et al. Bendamustine therapy in patients with relapsed or refractory Waldenström's macroglobulinemia. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2011; 11(1): 133–135. doi: 10.3816/CLML.2011.n.030.
56. Tedeschi A, Picardi P, Ferrero S et al. Bendamustine and rituximab combination is safe and effective as salvage regimen in Waldenstrom macroglobulinemia. *Leuk Lymphoma* 2015; 56(9): 2637–2642. doi: 10.3109/10428194.2015.1012714.
57. Laribi K, Poulain S, Willems L et al. Bendamustine plus rituximab in newly-diagnosed Waldenstrom macroglobulinemia patients. A study on behalf of the French Innovative Leukaemia Organization (FILO). *Br J Haematol* 2019; 186(1): 146–149. doi: 10.1111/bjh.15718.
58. Rummel MJ, Lerchenmüller C, Hensel M et al. Two years rituximab maintenance vs. observation after first line treatment with Bendamustine Plus Rituximab (B-R) in patients with Waldenström's Macroglobulinemia (MW): results of a prospective, randomized, multicenter phase 3 study (the StiL NHL7-2008 MAINTAIN trial). *Blood* 2019; 134(8): 343.
59. Rummel MJ, Niederle N, Maschmeyer G et al. Bendamustine plus rituximab versus CHOP plus rituximab as first-line treatment for patients with indolent and mantle-cell lymphomas: an open-label, multicentre, randomised, phase 3 non-inferiority trial. *Lancet* 2013; 381(9873): 1203–1210. doi: 10.1016/S0140-6736(12)61763-2.
60. Castillo JJ, Gustine J, Meid K et al. Bendamustine and bortezomib-containing regimens produce higher response rates and more durable responses versus cyclophosphamide-based therapy in frontline Waldenstrom macroglobulinemia. *Blood* 2017; 130 (Suppl 1): 1488–1489.
61. Paludo J, Abeykoon JP, Shreders A et al. Bendamustine and rituximab (BR) versus dexamethasone, rituximab, and cyclophosphamide (DR) in patients with Waldenstrom macroglobulinemia. *Ann Hematol* 2018; 97(8): 1417–1425. doi: 10.1007/s00277-018-3311-z.

62. Santos-Lozano A, Morales-Gonzalez A, Sanchis-Gomar F et al. Response rate to the treatment of Waldenström macroglobulinemia: a meta-analysis of the results of clinical trials. *Crit Rev Oncol Hematol* 2016; 105: 118–126. doi: 10.1016/j.critrevonc.2016.06.004.
63. Castillo JJ, Itchaki G, Paludo J et al. Ibrutinib for the treatment of Bing-Neel syndrome: a multicenter study. *Blood* 2019; 133(4): 299–305. doi: 10.1182/blood-2018-10-879593.
64. Benevolo G, Ferrero S, Villivà N et al. Treatment of relapsed/refractory Waldenström macroglobulinemia patients: final clinical and molecular results of the phase II Brb (Bendamustine, Rituximab and Bortezomib) trial of the Fondazione Italiana Linfomi (FIL). *Blood* 2021; 138 (Suppl 1): 48. doi: 10.1182/blood-2021-148424.
65. Chan WLW, Chong VCL, Wee JY et al. Evaluating front line treatment regimens for Waldenström macroglobulinemia: a systematic review and meta-analysis. *Blood* 2021; 138 (Suppl 1): 1358. doi: 10.1182/blood-2021-150678.
66. Treon SP, Soumerai JD, Branagan AR et al. Thalidomide and rituximab in Waldenström macroglobulinemia. *Blood* 2008; 112(12): 4452–4457. doi: 10.1182/blood-2008-04-150854.
67. Treon SP, Soumerai JD, Branagan AR et al. Lenalidomide and rituximab in Waldenström's macroglobulinemia. *Clin Cancer Res* 2009; 15(1): 355–360. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-08-0862.
68. Fouquet G, Guidez S, Pettillon MO et al. Lenalidomide is safe and active in Waldenström macroglobulinemia. *Am J Hematol* 2015; 90(11): 1055–1059. doi: 10.1002/ajh.24175.
69. Dimopoulos MA, Chen C, Kastiris E et al. Bortezomib as a treatment option in patients with Waldenström macroglobulinemia. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2010; 10(2): 110–117. doi: 10.3816/CLML.2010.n.015.
70. Dimopoulos MA, Terpos E, Kastiris E. Proteasome inhibitor therapy for Waldenström's macroglobulinemia. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2013; 13(2): 235–237. doi: 10.1016/j.clml.2013.02.014.
71. Treon SP, Ioakimidis L, Soumerai JD et al. Primary therapy of Waldenström macroglobulinemia with bortezomib, dexamethasone, and rituximab: WMCTG clinical trial 05-180. *J Clin Oncol* 2009; 27(23): 3830–3835. doi: 10.1200/JCO.2008.20.4677.
72. Chen C, Kouroukis CT, White D et al. Bortezomib in relapsed or refractory Waldenström's macroglobulinemia. *Clin Lymphoma Myeloma* 2009; 9(1): 74–76. doi: 10.3816/CLM.2009.n.019.
73. Ghobrial IM, Xie W, Padmanabhan S et al. Phase II trial of weekly bortezomib in combination with rituximab in untreated patients with Waldenström macroglobulinemia. *Am J Hematol* 2010; 85(9): 670–674. doi: 10.1002/ajh.21788.
74. Sklaventis-Pistofidis R, Capelletti M, Liu CJ et al. Bortezomib overcomes the negative impact of CXCR4 mutations on survival of Waldenström macroglobulinemia patients. *Blood* 2018; 132(24): 2608–2612. doi: 10.1182/blood-2018-07-863241.
75. Gavriatopoulou M, Garcia-Sanz R, Kastiris E et al. BDR in newly diagnosed patients with WM: final analysis of a phase 2 study after a minimum follow-up of 6 years. *Blood* 2017; 129(4): 456–459. doi: 10.1182/blood-2016-09-742411.
76. Dimopoulos MA, Garcia-Sanz R, Gavriatopoulou M et al. Primary therapy of Waldenström macroglobulinemia (WM) with weekly bortezomib, low-dose dexamethasone, and rituximab (BDR): long-term results of a phase 2 study of the European Myeloma Network (EMN). *Blood* 2013; 122(19): 3276–3282. doi: 10.1182/blood-2013-05-503862.
77. Rossi G, Gramegna D, Paoloni F et al. Short course of bortezomib in anemic patients with relapsed cold agglutinin disease: a phase 2 prospective GIMEMA study. *Blood* 2018; 132(5): 547–550. doi: 10.1182/blood-2018-03-835413.
78. Berentsen S, Barcellini W, D'Sa S et al. Cold agglutinin disease revisited: a multinational observational study of 232 patients. *Blood* 2022; 136(4): 480–488. doi: 10.1182/blood.2020005674.
79. Kong D, Li Y, Fu C et al. Bortezomib provides favorable efficacy in type 3 acquired von willebrand syndrome related to lymphoplasmacytic lymphoma/Waldenström's macroglobulinemia. *Leuk Lymphoma* 2022; 63(2): 491–494. doi: 10.1080/10428194.2021.1992766.
80. Ojeda-Urbe M, Rimelov V, Marzullo C. Good profile of efficacy/tolerance of bortezomib or idelalisib in Waldenström macroglobulinemia associated with acquired Von Willebrand syndrome. *J Blood Med* 2020; 11: 67–72. doi: 10.2147/JBM.S233059.
81. Treon SP, Tripsas CK, Meid K et al. Carfilzomib, rituximab, and dexamethasone (CaRD) treatment offers a neuropathy-sparing approach for treating Waldenström's macroglobulinemia. *Blood* 2014; 124(4): 503–510. doi: 10.1182/blood-2014-03-566273.
82. Vesole DH, Richter J, Biran N et al. Carfilzomib as salvage therapy in Waldenström macroglobulinemia: a case series. *Leuk Lymphoma* 2018; 59(1): 259–261. doi: 10.1080/10428194.2017.1321749.
83. Chaudhry M, Steiner R, Claussen C et al. Carfilzomib-based combination regimens are highly effective front-line therapies for multiple myeloma and Waldenström's macroglobulinemia. *Leuk Lymphoma* 2019; 60(4): 964–970. doi: 10.1080/10428194.2018.1508668.
84. Castillo JJ, Meid K, Catherine A et al. Ixazomib, dexamethasone, and rituximab in treatment-naive patients with Waldenström macroglobulinemia: long-term follow-up. *Blood Adv* 2020; 4(16): 3952–3959. doi: 10.1182/bloodadvances.2020001963.
85. Kersten MJ, Amaador K, Minnema MC et al. Combining ixazomib with subcutaneous rituximab and dexamethasone in relapsed or refractory Waldenström's macroglobulinemia: final analysis of the phase I/II HOVON124/ECWM-R2 study. *J Clin Oncol* 2022; 40(1): 40–51. doi: 10.1200/JCO.21.00105.
86. Kastiris E, Dimopoulos MA. Proteasome inhibitors in Waldenström macroglobulinemia. *Hematol Oncol Clin North Am* 2018; 32(5): 829–840. doi: 10.1016/j.hoc.2018.05.011.
87. Fečková-Mihályová J, Duraš J, Zuchnická J et al. Ibrutinib v hematookologii. *Klin Farmakol Farm* 2016; 30(3): 8–14. doi: 10.36290/far.2016.022.
88. Treon SP, Tripsas CK, Meid K et al. Ibrutinib in previously treated Waldenström's macroglobulinemia. *N Engl J Med* 2015; 372(15): 1430–1440. doi: 10.1056/NEJMoa1501548.
89. Yun S, Vincelette ND, Acharya U et al. Risk of atrial fibrillation and bleeding diathesis associated with Ibrutinib treatment: a systematic review and pooled analysis of four randomized controlled trials. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2017; 17(1): 31–37. doi: 10.1016/j.clml.2016.09.010.
90. Gustine JN, Meid K, Dubeau T et al. Ibrutinib discontinuation in Waldenström macroglobulinemia: etiologies, outcomes, and IgM rebound. *Am J Hematol* 2018; 93(4): 511–517. doi: 10.1002/ajh.25023.
91. Treon SP, Xu L, Hunter Z. MYD88 mutations and response to ibrutinib in Waldenström's macroglobulinemia. *N Engl J Med* 2015; 373(6): 584–586. doi: 10.1056/NEJMc1506192.
92. Dimopoulos MA, Trotman J, Tedeschi A et al. Ibrutinib for patients with rituximab-refractory Waldenström's macroglobulinemia (iNNOVATE): an open-label sub-study of an international, multicentre, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2017; 18(2): 241–250. doi: 10.1016/S1470-2045(16)30632-5.
93. Treon SP, Gustine J, Meid K et al. Ibrutinib is highly active as first line therapy in symptomatic Waldenström's macroglobulinemia. *Blood* 2017; 130 (Suppl 1): 2767. doi: 10.1182/BLOOD.V130.SUPPL\_1.2767.2767.
94. Treon SP, Gustine J, Meid K et al. Ibrutinib monotherapy in symptomatic, treatment-naive patients with Waldenström macroglobulinemia. *J Clin Oncol* 2018; 36(27): 2755–2761. doi: 10.1200/JCO.2018.78.6426.
95. Abeykoon JP, Zanwar S, Ansell SM et al. Ibrutinib monotherapy outside of clinical trial setting in Waldenström macroglobulinemia: practice patterns, toxicities and outcomes. *Br J Haematol* 2020; 188(3): 394–403. doi: 10.1111/bjh.16168.
96. Buske C, Tedeschi A, Trotman J et al. Ibrutinib plus rituximab versus placebo plus rituximab for Waldenström's macroglobulinemia: final analysis from the randomized phase III iNNOVATE study. *J Clin Oncol* 2022; 40(1): 52–62. doi: 10.1200/JCO.21.00838.
97. Castillo JJ, Gustine JN, Meid K et al. Impact of ibrutinib dose intensity on patient outcomes in previously treated Waldenström macroglobulinemia. *Haematologica* 2018; 103(10): e466–e468. doi: 10.3324/haematol.2018.191999.
98. Castillo JJ, Gustine JN, Meid K et al. Ibrutinib withdrawal symptoms in patients with Waldenström macroglobulinemia. *Haematologica* 2018; 103(7): e307–e310. doi: 10.3324/haematol.2017.186908.
99. Paydas S. Management of adverse effects/toxicity of ibrutinib. *Crit Rev Oncol Hematol* 2019; 136: 56–63. doi: 10.1016/j.critrevonc.2019.02.001.
100. Abbas HA, Wierda WG. Acalabrutinib: a selective bruton tyrosine kinase inhibitor for the treatment of B-cell malignancies. *Front Oncol* 2021; 11: 668162. doi: 10.3389/fonc.2021.668162.
101. Owen RG, McCarthy H, Rule S et al. Acalabrutinib monotherapy in patients with Waldenström macroglobulinemia: a single-arm, multicentre, phase 2 study. *Lancet Haematol* 2020; 7(2): e112–e121. doi: 10.1016/S2352-3026(19)30210-8.
102. Tam CS, Opat S, D'Sa S et al. A randomized phase 3 trial of zanubrutinib vs ibrutinib in symptomatic Waldenström macroglobulinemia: the ASPEN study. *Blood* 2020; 136(18): 2038–2050. doi: 10.1182/blood.2020006844.
103. Tam CS, LeBlond V, Novotny W et al. A head-to-head Phase III study comparing zanubrutinib versus ibrutinib in patients with Waldenström macroglobulinemia. *Future Oncol* 2018; 14(22): 2229–2237. doi: 10.2217/fon-2018-0163.
104. Dimopoulos M, Sanz RG, Lee HP et al. Zanubrutinib for the treatment of MYD88 wild-type Waldenström macroglobulinemia: a substudy of the phase 3 ASPEN trial. *Blood Adv* 2020; 4(23): 6009–6018. doi: 10.1182/bloodadvances.2020003010.
105. Argyropoulos KV, Palomba ML. First-generation and second-generation bruton tyrosine kinase inhibitors in Waldenström macroglobulinemia. *Hematol Oncol Clin North Am* 2018; 32(5): 853–864. doi: 10.1016/j.hoc.2018.05.012.
106. Munakata W, Tobinai K. Tirabrutinib hydrochloride for B-cell lymphomas. *Drugs Today (Barc)* 2021; 57(4): 277–289. doi: 10.1358/dot.2021.57.4.3264113.
107. Castillo JJ, Allan JN, Siddiqi T et al. Venetoclax in previously treated Waldenström macroglobulinemia. *J Clin Oncol* 2022; 40(1): 63–71. doi: 10.1200/JCO.21.01194.
108. Novák J, Havrda M, Gahérová Ľ et al. Clinical case: idelalisib-induced immunoglobulin flare. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 2017; 39(4): 251–255. doi: 10.1080/08923973.2017.1318912.
109. Belada D. Idelalisib v léčbě pacientů s folikulárním lymfomem. *Farmakoterapie* 2015; 11(3): 292–296.
110. Kyriakou C. High-dose therapy and hematopoietic stem cell transplantation in Waldenström macroglobulinemia. *Hematol Oncol Clin North Am* 2018; 32(5): 865–874. doi: 10.1016/j.hoc.2018.05.013.
111. Kaščák M, Duraš J, Navrátil M et al. Autologní transplantace kmenových buněk u Waldenströmovy makroglobulinemie. *Transfuze Hematol Dnes* 2016; 22(1): 28–38.

# Etnické rozdiely v incidencii zhubných nádorov detí

## Ethnic differences in the incidence of childhood cancer

Bician P.<sup>1</sup>, Mego M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Klinika pediatickej onkológie a hematológie DFNSP, Banská Bystrica, Slovenská republika

<sup>2</sup> II. Onkologická klinika LFUK a NOU, Bratislava, Slovenská republika

### Súhrn

**Východiská:** V roku 2020 bolo celosvetovo diagnostikovaných 19 292 789 nových zhubných nádorov (včítane non-melanómov kože), ktoré boli príčinou 9 958 133 úmrtí. Európa, ktorá tvorí 9 % svetovej populácie, má až 22,8% podiel na výskyte s 4,4 miliónmi nových prípadov a 1,96 miliónom úmrtí. Deti a adolescenti vo veku 0–19 rokov sa na celkovej incidencii podieľajú len asi 1 %. Rozdiely medzi dospelými a deťmi so zhubnými nádormi sú nielen v nádorovej incidencii, ale aj v mortalite (cca 45 % vo veku  $\geq$  20 rokov v porovnaní s 15 % vo veku  $<$  19 rokov) a v zastúpení jednotlivých typov nádorov (vo veku nad 20 rokov sú to nádory prsníka, hrubého čreva a pľúc, kým vo veku do 19 rokov najmä leukémie, nádory centrálného nervového systému a lymfómy). Rozdielnu incidenciu pozorujeme aj na základe príslušnosti k etnickej skupine. Vo väčšine prípadov zhubných nádorov u dospelých majú vyššiu incidenciu obyvatelia černoškého pôvodu v porovnaní s obyvateľmi beloškého pôvodu. Na Slovensku tvoria jednu z najväčších etnických minorít Rómovia. O výskyte respektíve iných vlastnostiach nádorových ochorení v rómskej a nerómskej populácii priniesla prvé dáta publikácia až v roku 2017. Rovnako ako u dospelých aj u detí boli publikované rozdiely v incidencii zhubných nádorov na základe etnicity. Výskyt rakoviny u belošských detí je vyšší ako u černošských detí. Informácie o odlišnostiach v incidencii resp. iných charakteristikách zhubných nádorov v populácii rómskych a nerómskych detí chýbajú napriek tomu, že je známe, že u rómskych detí sa niektoré ochorenia ako napr. kongenitálny glaukóm či polycystické obličky vyskytujú častejšie v porovnaní s nerómskymi deťmi. **Cieľ:** Predkladaný prehľad podáva informácie o etnických rozdieloch v incidencii zhubných nádorov u detí. Vzhľadom na genetickú rozdielnosť Rómov od väčšinovej populácie Slovenska môžeme predpokladať, že aj v patogeneze zhubných nádorov môže zohrávať táto rozdielnosť dosiaľ nezistenú úlohu. Cieľom článku je poukázať na potrebu zistenia presnej incidencie zhubných nádorov u detí tohto etnika. V prípade rozdielnosti v incidencii, resp. zastúpení jednotlivých typov zhubných nádorov, by tieto informácie mohli slúžiť na hlbšie a detailnejšie štúdium onkogenézy rómskeho etnika.

### Kľúčové slová

Rómovia – nádorová incidencia – etnicita – detská onkológia

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare that they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

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

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



**MUDr. Pavel Bician**  
Klinika pediatickej onkológie  
a hematológie DFNSP  
Námestie Ludvíka Svobodu 4  
974 09 Banská Bystrica  
Slovenská republika  
e-mail: pavel.bician@gmail.com

Obdržané/Submitted: 8. 6. 2022

Prijaté/Accepted: 22. 11. 2022

doi: 10.48095/ccko2023192



## Summary

**Background:** In 2020, 19,292,789 new malignancies were diagnosed worldwide (including non-melanoma skin cancer), causing 9,958,133 deaths. Europe, which accounts for 9% of the world's population, accounts for up to 22.8%, with 4.4 million new cases and 1.96 million deaths. Children and adolescents aged 0–19 account for only about 1% of the overall cancer incidence. Differences between adults and children with cancer include not only incidence but also mortality (approx. 45% at the age of  $\geq 20$  years compared to 15% at the age  $< 19$  years), and individual types of cancer (breast, colon and lung tumors at the age  $> 20$  years, and leukemia, central nervous system tumors and lymphomas at the age of  $< 19$  years). We also observe a different incidence based on ethnicity. In most cases of adult malignancies, black population has a higher incidence than white population. In Slovakia, the Roma are one of the largest ethnic minorities. The first data on the incidence or other characteristics of cancer in the Roma and non-Roma population were provided by the first publication in 2017. The differences in the incidence of malignancies based on ethnicity have been published for adults as well as children. The incidence of cancer in white children is higher than in black children. The data on differences in the incidence or other characteristics of malignant tumors in the population of Roma and non-Roma children are missing, despite the fact that in Roma children some diseases, such as e.g. congenital glaucoma or polycystic kidneys, are more common compared to non-Roma children. **Purpose:** The presented review provides information on ethnic differences in the incidence of malignant tumors in children. Considering the genetic difference of the Roma from the majority population of Slovakia, we can assume that this difference also plays a hitherto undetected role in the pathogenesis of malignant tumors. The aim of the article is to point out the need to find out the exact incidence of malignant tumors in children of this ethnicity. In case of difference in incidence, or representation of individual types of malignant tumors, this information could be used for a deeper and more detailed study of oncogenesis in the Roma ethnic group.

## Key words

Roma – cancer incidence – ethnicity – pediatric oncology

## Úvod

V roku 2020 bolo celosvetovo diagnostikovaných 19 292 789 nových zhubných nádorov (včítane non-melenómov kože), ktoré boli príčinou 9 958 133 úmrtí [1]. V Európe je každý rok u detí a adolescentov diagnostikovaných  $> 35 000$  nových prípadov zhubných nádorových ochorení. Znamená to, že u 1 z 300 narodených detí sa do dovŕšenia veku 20 rokov vyvinie zhubné nádorové ochorenie. V súčasnosti žije v Európe asi 500 000 ľudí, ktorí mali v detstve liečené zhubné nádorové ochorenie. Dve tretiny tých, ktorí prežili, majú neskoré následky liečby, ktoré sú závažné a až u polovice majú vplyv na ich každodenný život. Táto populácia má aj vyššiu úmrtnosť v porovnaní s ich rovesníkmi, ktorí na zhubné nádorové ochorenie neboli liečení. Napriek zlepšujúcej sa pravdepodobnosti prežitia, zhubné nádorové ochorenia sú stále najčastejšou príčinou smrti u detí a v ich dôsledku ročne v Európe zomrie až 6 000 mladých ľudí [2].

## Incidenca zhubných nádorov detí

Rovnako ako u dospelých aj u detí sú zhubné nádorové ochorenia vážnym zdravotným problémom. V populácii Európy, Severnej Ameriky a ďalších rozvinutých oblastiach sveta je incidencia zhubných nádorov u detí približne 140 prípadov na 1 milión obyvateľov. Incidenca v rozvojových krajinách je

menej známa, pretože len v málokto-  
rých existujú onkologické registre. Od-  
haduje sa, že ročne vznikne zhubný  
nádor u 160 000 detí a je príčinou  
90 000 úmrtí. V niektorých rozvojových  
krajinách, kde deti tvoria 40–50 % po-  
pulácie, podiel zhubných nádorov detí  
z celkového počtu nádorov je 3–10 %, zatial čo v rozvinutých krajinách je to  
menej ako 1 %. Rozdiely sú aj v morta-  
lite. V rozvinutých krajinách sú zhubné  
nádory druhou najčastejšou príčinou  
smrti u detí vo veku 1–14 rokov s po-  
dielom 4–5 %. V rozvojových krajinách  
je to menej ako 1 %, lebo úmrtia na in-  
fekčné ochorenia sú oveľa častejšie [3].  
Podobne ako v populácii dospelých, aj  
u detí a adolescentov sa celková inci-  
dencia zhubných nádorov časom zvy-  
šuje vo všetkých vekových kategóriách.  
Vekovo špecifický rozdiel medzi prvou  
(70. roky 20. storočia) a poslednou deká-  
dou (90. roky 20. storočia) je významný  
vo všetkých vekových kategóriách a je  
najväčší na začiatku a na konci vekového  
rozpätia. Zhubné nádory detí sa okrem  
incidence a mortality odlišujú od ná-  
dorov dospelých aj zastúpením iných  
typov nádorov. Najčastejším nádorom  
detí do 1 roku veku je neuroblastóm, vo  
vekovej skupine 1–4 ročných detí leu-  
kémie a u 5–9 ročných nádory centrál-  
neho nervového systému. Po dosiahnutí  
vekovej hranice 10 rokov takmer úplne  
vymiznú embryonálne nádory, medzi

ktoré patrí retinoblastóm, nefroblastóm  
a hepatoblastóm, a naopak častejšie  
sú diagnostikované lymfómy, sarkómy  
kostí, nádory zo zárodočných buniek  
a karcinómy [4]. Zastúpenie jednotlivých  
typov nádorov detí vo veku 0–14 rokov  
v rôznych krajinách sveta sa líši. V nie-  
ktorých krajinách Afriky (Uganda) mô-  
žeme vidieť najvyšší výskyt Kapošího  
sarkómu na podklade infekcie vírusom  
ľudskej imunodeficiencie (human im-  
munodeficiency virus – HIV). Infekcia ví-  
rusom Epsteina-Barrovej (EBV) je dávaná  
do súvislosti s najvyššou incidenciou na-  
sofaryngeálneho karcinómu v krajinách  
východnej Ázie a infekcia vírusom hepa-  
titídy B a C za hepatocelulárny karcinóm  
v Hong Kongu a subsaharskej Afrike. Io-  
nizujúce žiarenie uvoľnené po nehode  
v jadrovej elektrárni v roku 1986 Černo-  
byle vysvetľuje rekordný výskyt karcinó-  
mov štítnej žľazy najmä u dievčat v Bie-  
lorusku a v niektorých ďalších najviac  
exponovaných krajinách [3].

## História rómskej populácie

Na základe lingvistických analýz je pra-  
vlast', a tým aj pôvod Rómov, treba hľa-  
dať v Rádžastáne, čo je štát v strednej  
Indii pri západných hraniciach s Pakis-  
tanom. Jednotlivé dialekty rómskeho ja-  
zyka nemajú spoločný základ, čo by na-  
značovalo, že Rómovia už ani na území  
Indie nepochádzali z jedného spoloč-  
ného kmeňa a neboli ani príslušníkmi

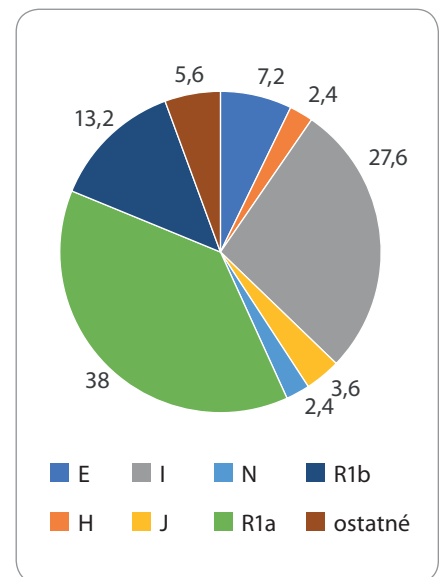
jednej kasty. Rómovia v Indii netvorili nejaké homogénne spoločenstvo a patrili k najnižším sociálnym vrstvám [5]. Vedci sa domnievajú, že v Indii patrili ku skupine Dómov, ktorí tam žijú dodnes. V európskych podmienkach došlo k zmene skupinového názvu Dóm na vlastný etnický názov Róm. Zmena spoluhlásky sa vysvetľuje tým, že indické hlásky d, t, dh, rh sa vplyvom európskych jazykov, ktoré ich nemajú, menia na r. Z toho vyplýva, že slovo Róm je veľmi staré – podstatne staršie ako pomenovanie Cigán [6]. Odchod Rómov z územia strednej, severnej a severozápadnej Indie možno podľa niektorých historikov datovať 9.–10. storočím. Migrácia sa uskutočňovala vo veľkých skupinách a v rôznych prúdoch. Do Európy sa dostali cez územie bývalej Perzie a Arménie. Z Arménie pokračoval prvý, skupinovo početnejší prúd cez Malú Áziu do súčasného Grécka a Balkánsky polostrov až do strednej Európy. Druhý prúd sa vybral iným smerom. Cez oblasť dnešnej Palestíny, Sinajský polostrov, putovali do Egypta, potom pozdĺž severoafrického pobrežia sa dostali až do Maroka a cez Gibraltársky prieliv prešli až na Pyrenejský polostrov. Dnes sú rozptýlení po celej Európe, Afrike, strednej a západnej Ázii, no časť z nich migrovala až do severnej a južnej Ameriky [7].

### Archeogenetika populácie v Európe a na Slovensku

Informácia, ktorú má každý z nás zapísanú v molekule DNA, nám umožňuje popísať diverzitu populácie a z nej následne rekonštruovať praveké migrácie a iné demografické zmeny v našej histórii. Nerekombinujúce časti ľudského genómu, medzi ktoré patrí chromozóm Y a mtDNA (mitochondriálna DNA), predstavujú ideálny nástroj na štúdium populačnej diverzity a evolučnej histórie ľudstva. Chromozóm Y sa v niektorých aspektoch líši od ostatných chromozómov ľudského genómu a tieto odlišnosti z neho vytvárajú užitočný nástroj nielen archeogenetických a populačno-genetických štúdií. Prenáša sa výhradne z otca na syna a nepodlieha rekombinácii. V dôsledku chýbajúcej rekombinácie sa zvyčajne dedí z generácie na generáciu v nezmenenej podobe. Väčšina

genetických markerov vykazuje 80–90% genetickú variabilitu vo vnútri populácií, avšak chromozóm Y nenasleduje tento vzor. Diverzita chromozómu Y je ovplyvnená niekoľkými významnými faktormi, medzi ktoré patrí veľkosť populácie, spôsob života, sociálne aspekty života a geografická poloha. Tieto faktory ovplyvňujú predovšetkým rozdelenie genetickej diverzity chromozómu Y medzi jednotlivými populáciami. V dôsledku toho, že mutácie sú jediným spôsobom ako chromozóm Y zvyšuje svoju variabilitu, tak pochopenie a odhalenie mutačnej dynamiky zohráva významnú úlohu pri pochopení pôvodu a času vzniku jednotlivých haploskupín a haplotypov. Medzi faktory, ktoré významne ovplyvňujú diverzitu, patria aj populačná veľkosť a mobilita populácií. V prípade, že populácia je veľká a žije usadlým spôsobom života, tak zmeny v zastúpení frekvencií haploskupín budú pomalé a lokálny tok génov bude viesť ku klinálnej distribúcii. Rozdelenie genetickej variability môže ovplyvniť taktiež aj spoločenská štruktúra. Napríklad v Indii, ktorá je spoločensky štruktúrovaná do sociálnych kást, dochádza k diverzifikácii a výraznej štrukturalizácii vo vnútri jednotlivých kást. Jednotlivé kasty medzi sebou zdieľajú iba 15 % haplotypov. Najvyšší stupeň diverzity bol pozorovaný medzi jedincami strednej kasty, ktorá bola historicky aj najviac nestabilná. Jedinci najvyššej kasty v rámci regiónu nezdieľali žiaden haplotyp s jedincami nižšej kasty. Medzi jednotlivými kastami dochádza iba k veľmi malému alebo žiadnemu toku génov.

Haploskupiny chromozómu Y sú určené prostredníctvom jednonukleotidových polymorfizmov (single nucleotide polymorphism – SNP). Haploskupina R je najčastejšie sa vyskytujúcou európskou haploskupinou a väčšina Európanov patrí k haploskupine R1a1a-M17 a jej subhaploskupinám. V Európe vykazuje klinálny charakter šírenia, keď v najvyšších frekvenciách sa vyskytuje vo východnej Európe a v Poľsku, kde dosahuje frekvencie výskytu až k 60 %. Slovensko zaberá polohu miesta stretu dvoch migračných vln. Jedna šla od Čierneho mora smerom na západ a spolu s ňou sa šírila aj haploskupina R1a a druhá mig-



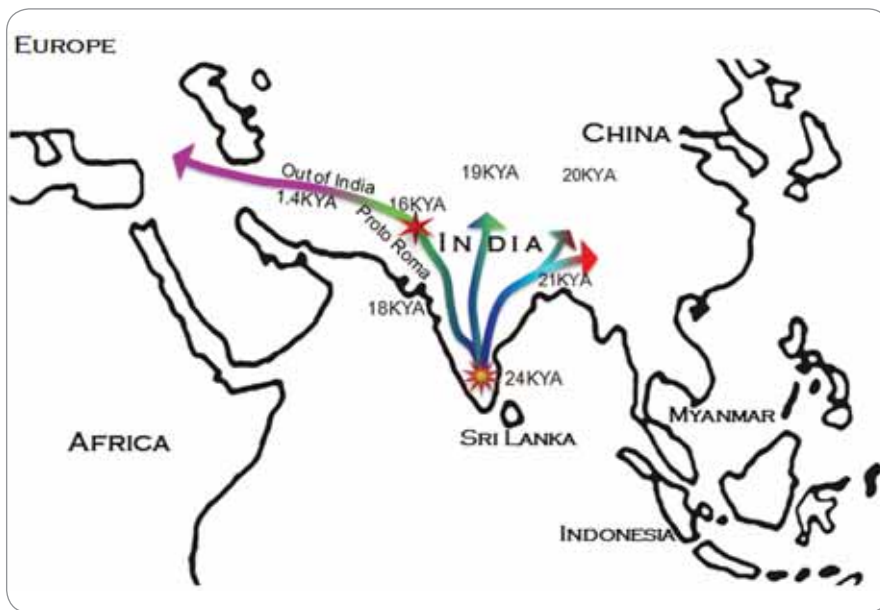
Graf. 1. Percentuálne zastúpenie hlavných haploskupín chromozómu Y v populácii na Slovensku.

račná vlna smerovala z Pyrenejského polostrova smerom na východ Európy a je dávaná do súvislosti s haploskupinou R1b [8].

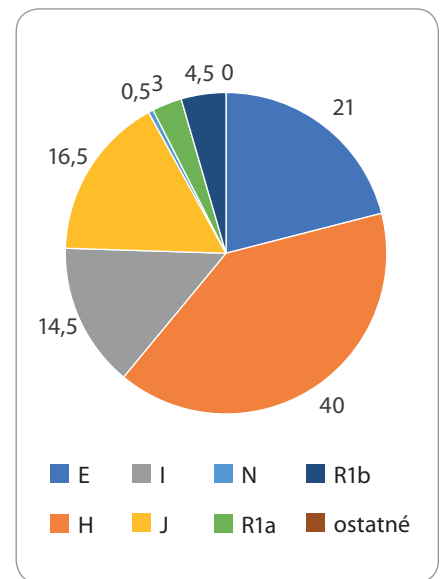
Na Slovensku sa s najvyššou frekvenciou detekovala haploskupina R1a zistená v 38 %, druhou najčastejšou haploskupinou bola I, ktorá bola zistená v 27,3 %. Haploskupinu R1b zdieľa 13,2 % jedincov a haploskupinu E 7,2 %. Ostatné haploskupiny J, G, H, N, Q a T sa vyskytovali u menej ako 5 % obyvateľstva (graf 1) [9].

Haploskupina H sa v najvyššej frekvencii vyskytuje v Indii, kde bola zistená u štvrtiny obyvateľstva. V Európe sa vo vysokej frekvencii vyskytuje v rómskej populácii, čo odráža ich indický pôvod. Charakteristickou haploskupinou je H1a1-M82, ktorá u rómskych populácií v Európe vykazuje diverzitu, ktorá je veľmi blízka indickým haplotypom, čo svedčí o ich len relatívne nedávnej migrácii z Indie. Pôvod Rómov sa na základe haploskupiny H1a1-M82 a jej haplotypovej diverzity odvodzuje od populácií žijúcich v severozápadnej časti Indie (obr. 1) [10].

Frekvencie výskytu jednotlivých haploskupín rómskeho etnika sa výrazne líšia od frekvencií haploskupín, ktoré sú pozorované na európskom kontinente. S najvyššou frekvenciou bola u nich zis-



Obr. 1. Najpravdepodobnejšia cesta prehistorickej expanzie Y-chromozomálnej haploskupiny H1a1a-M82 a nedávna migrácia európskych rómskych predkov z Indie.



Graf. 2. Percentuálne zastúpenie hlavných haploskupín chromozómu Y v rómskej populácii na Slovensku.

tená haploskupina H, ktorú zdieľa 40 % jedincov. Táto haploskupina sa v Európe vyskytuje iba vo veľmi nízkych frekvenciách a jej maximum výskytu je v Indii. Druhou najčastejšou haploskupinou je E, ktorú zdieľa 21 % jedincov. Haploskupina I bola zistená u 14,5 % jedincov a haploskupina J u 16,5 % jedincov. Dve najčastejšie sa vyskytujúce európske haploskupiny R1a a R1b boli detegované iba u 3 % a 4,5 % jedincov (graf 2) [11].

Populácia Rómov na Slovensku predstavuje geneticky izolovanú populáciu a vysoký výskyt haploskupiny H nasvedčuje ich indickému pôvodu [12].

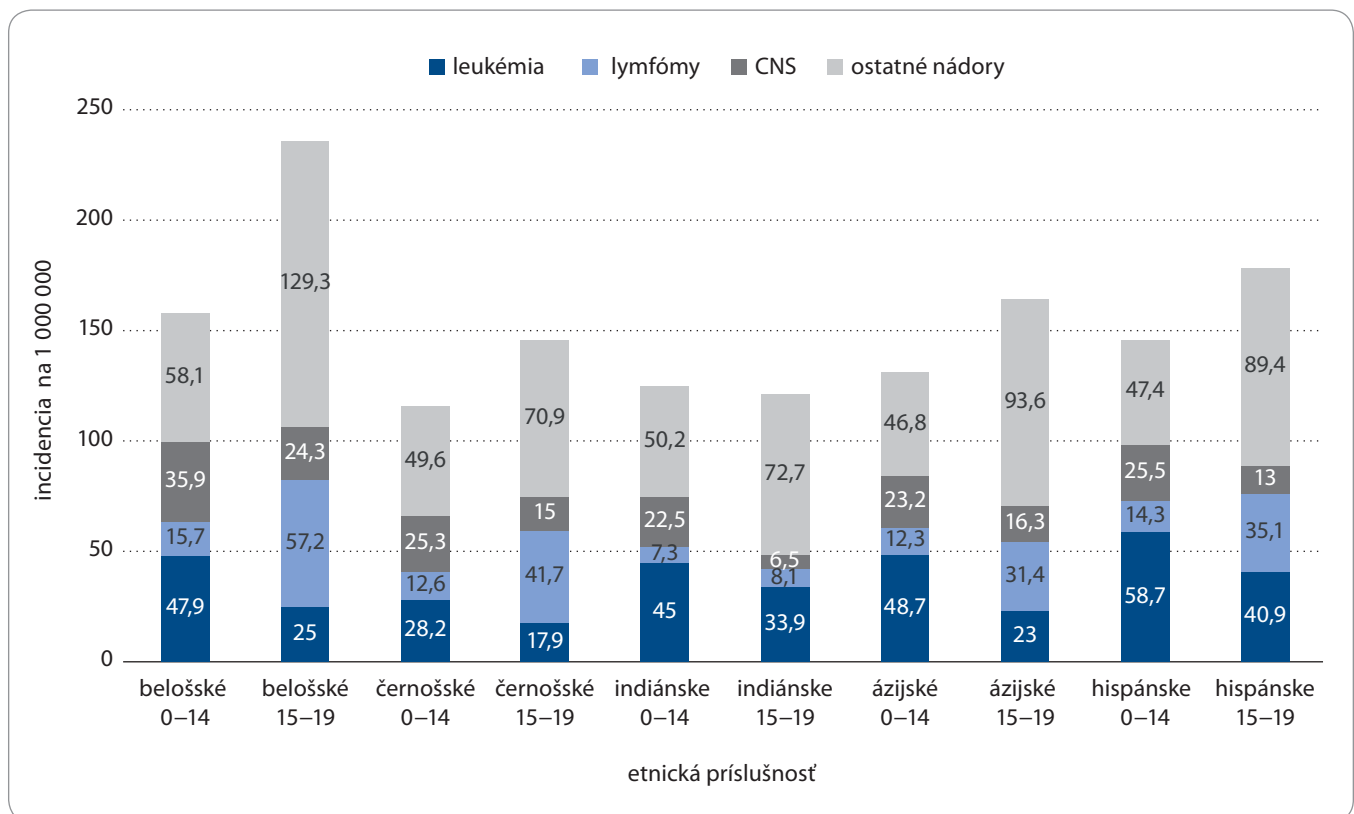
### Ochorenia s vyšším výskytom v rómskej populácii detí

Malé geneticky izolované populácie vykazujú významné odchýlky v mnohých populačno-genetických parametroch od majoritných populácií, aj keď žijú v tom istom prostredí alebo fyzicky roztrúsené v majoritných populáciách. Výsledky získané výskumom majoritnej populácie pri štúdiu rozšírenia dedičných ochorení, prevládajúcich mutácií a spektra mutácií sa nedajú extrapolovať na tieto malé populácie. Populácia Rómov na Slovensku predstavuje malú geneticky izolovanú populáciu so všetkými jej charakteristikami, ktorej zdravotný stav je výrazne pod normou majoritnej populácie.

Rómske etnikum na Slovensku je populácia s vysokým podielom kosangvinných manželstiev a imbrídingu, čo dáva predpoklad k vysokému výskytu autozomálne recesívnych ochorení. Prítomnosť niekoľkých mutácií zapríčínujúcich závažné monogénové ochorenia sú v rómskej populácii pomerne časté, kým v nerómskej populácii sa buď nenachádzajú vôbec, alebo sú podstatne zriedkavejšie, prípadne vyvolané inými mutáciami.

Identifikácia špecifického genetického pozadia tohto etnika je vysoko aktuálna, lebo môže viesť k cielenej diagnostike, vrátane prenatalnej, s následným znížením zdravotných komplikácií vyplývajúcich z jednotlivých diagnóz. Príkladom takejto mutácie je vrodená porucha metabolizmu sacharidov – deficit galaktokinázy, ktorý sa celosvetovo vyskytuje s frekvenciou 1 : 150 000 až 1 : 1 000 000, ale u rómskych detí sa vyskytuje s frekvenciou 1 : 5 000 [13]. Deficit galaktokinázy má za následok alternatívnu cestu využitia galaktózy s akumuláciou galaktitolu v šošovke, ktorá vedie k rozvoju katarakty. Príčinou poruchy je mutácia P28T génu *GK1* lokalizovaná na chromozóme 17q24, ktorá bola identifikovaná ako zakladateľská (founder) mutácia, zodpovedná za deficit galaktokinázy u Rómov [14]. Ďalším príkladom je primárny kongenitálny glaukóm,

ktorého incidencia sa vo vyspelých krajinách Európy udáva 1 : 12 000 novorodencov. V krajinách Blízkeho Východu (Egypt, Saudská Arábia) dosahuje ochorenie 4–10× vyššiu incidencia, až do 1 : 2 500 novonarodených detí, najmä vďaka vysokému stupňu konsanguinity v moslimských rodinách. V Severnom Írsku je publikovaný výskyt 1 : 22 000, čo je pravdepodobne jedna z najzriedkavejších frekvencií na svete. V majoritnej populácii na Slovensku je incidencia 1 : 12 000, avšak u Rómov, u ktorých je príčinou mutácia génu *CYP1B1*, je výskyt najvyšší na svete, približne 1 : 800 novorodencov. Primárny kongenitálny glaukóm je spôsobený izolovanou trabekulodysgenézou, ktorá vyvoláva zhoršenie odtoku trabekulárnym systémom, zvýšenie vnútroočného tlaku a následnú typickú glaukómovú symptomatológiu do 3 rokov veku. Pri molekulárne genetickom vyšetrení bol na chromozóme 2p21 identifikovaný lokus *GLC3A* s mutáciou *CYP1B1* génu, ktorá v exóne 3 zamieňa guanín za adenín a to spôsobuje v enzýme cytochrómu P450B1 zámenu kyseliny glutámovej za lyzín. Takto štrukturálne zmenený enzým nemôže zabezpečiť fyziologický intrauterinný vývoj vráskovca a iridokorneálneho uhla, čo môže spôsobiť trabekulodysgenézu a z toho resultujúci kon-



Graf. 3 Incidencia zhubných nádorov detí podľa veku a etnicity v USA v rokoch 1992–2006.

genitálny glaukóm. Mutácia je prítomná u každého postihnutého z rómskeho etnika [15].

### Incidenca nádorov v rómskej populácii dospelých

O etnických rozdieloch vo výskyte zhubných nádorov resp. v prežívaní bolo publikovaných veľa článkov. Údaje o rozdieloch vo výskyte resp. iných vlastnostiach nádorových ochorení v rómskej a nerómskej populácii na Slovensku úplne absentovali až do roku 2017, kedy Rečková et al. v Klinickej onkológii publikovali dva články o rozdieloch v typoch nádorových ochorení medzi rómskymi a nerómskymi pacientmi a tiež v incidencii a biologických charakteristikách u rómskych žien s karcinómom prsníka v porovnaní s nerómskymi pacientkami na Slovensku [3,4].

V tejto retrospektívnej štúdií onkologickej ambulancie na východnom Slovensku, v ktorej je liečený značný počet rómskych pacientov sa preukázal štatisticky významne vyšší výskyt rakoviny pľúc u rómskych mužov a rakoviny obličiek u rómskych žien. Štatisticky vý-

znamne viac rómskych mužov bolo diagnostikovaných v štádiu IV v porovnaní s štádií I–III.

V ďalšej publikácii o rozdieloch v incidencii a biologických charakteristikách karcinómu prsníka medzi rómskymi a nerómskymi ženami zistili, že rómske pacientky s karcinómom prsníka v porovnaní s nerómskymi sú štatisticky významne mladšie s priemerným vekom 49 rokov v porovnaní s priemerným vekom 61 rokov u nerómskych žien. Incidencia karcinómu prsníka bola u rómskych žien 17 na 100 000 [16] a u nerómskych žien 36 na 100 000 ľudí.

Porovnanie histológie a biologických charakteristik medzi rómskymi a nerómskymi pacientkami s karcinómom prsníka ukázalo, že rómske ženy mali štatisticky významne viac negatívnych hormónových receptorov (HR–) (34,4 vs. 18,1 %;  $p = 0,03$ ) a TN – triple-negatívny – bez nadmernej expresie receptoru HER2 s negatívnym estrogénovým a progesterónovým receptorom (28,1 vs. 12,3 %;  $p = 0,01$ ). Rómske ženy mali 2,5-násobne viackrát karcinóm prsníka vysokého rizika, nezávisle od

ich veku a stavu HER2 (95% CI pre kurz 1,19–5,26;  $p = 0,02$ ) [16,17].

### Etnické rozdiely vo výskyte detských zhubných nádorov

Vo väčšine prípadov zhubných nádorov u dospelých majú vyššiu incidenciu obyvatelia černošského pôvodu v porovnaní s obyvateľmi beloškého pôvodu. Avšak u detí a adolescentov bol výskyt rakoviny u beloškých detí približne o 40 % vyšší ako u černošských detí. Najväčší rozdiel v absolútnom výskyte medzi beloškými a černoškými deťmi bol pre akútnu lymfoblastickú leukémiu (ALL) (32,5 vs. 15,6 na milión). Tento rozdiel bol hlavne spôsobený 2,3-násobne vyššou incidenciou ALL u 0–4-ročných beloškých detí v porovnaní s 0–4-ročnými černoškými deťmi. Vyššia incidencia leukémií bola limitovaná len na ALL, výskyt akútnej myeloblastovej leukémie (AML) bol rovnaký u beloškých aj černoškých detí. Výskyt Ewingovho sarkómu u beloškých detí bol 12× vyšší ako u černoškých detí a dokonca v prípade melanómu mali belošké deti incidenciu 21× vyššiu ako u černoškých. Na rozdiel od černoš-

ských detí mali hispánske deti vyšší výskyt ALL ako belošké deti (43,7 na milión vs. 32,5 na milión). Hispánske deti mali vyššiu incidenciu AML (8,8 na milión) v porovnaní s beloškými (7,4 na milión) a černoškými (7,3 na milión) deťmi. Avšak celková incidencia zhubných nádorov hispánskych detí bola nižšia ako u belošských detí, kvôli nižšiemu výskytu nádorov CNS, lymfómov a iných nádorov. Výskyt leukémie bol podobný pre ázijské/tichomorské ostrovné deti a belošké deti, ale deti ázijských/tichomorských ostrovanov mali menej nádorov CNS a lymfómov. Incidenciu zhubných nádorov detí podľa veku a etnicity vo veku 0–19 rokov v rokoch 1992–2006 v Spojených štátoch ilustruje graf 3 [18].

Etnicita môže byť dôležitým determinantom pravdepodobnosti vzniku zhubného ochorenia. Doteraz nebol zistený klasický defekt mendelianového génu pripisovaného etnickej príslušnosti, ako v prípade retinoblastómu a Li-Fraumeniho syndrómu. Predpokladá sa však, že sa objavia komplexné genetické znaky, ktoré môžu byť zodpovedné za vznik zhubného nádoru. Typický príklad, kde etnicita v genéze nádorov zohráva úlohu je Ewingov sarkóm. Tento nádor sa prakticky nevyskytuje u jedincov afrického alebo ázijského pôvodu. Naproti tomu, Ewingov sarkóm sa vyskytuje častejšie ako osteosarkóm u detí a mladých dospelých severoeurópskeho pôvodu. Ešte prekvapivejšie je, že nádor je najčastejší u španielskych, izraelských (nearabských) a polynézskejších (maorských, havajských) populácií [19]. Etnické rozdiely sú nielen v incidencii, ale aj vo výskyte rizikovosti ochorenia a pravdepodobnosti prežitia. Černošké deti s neuroblastómom majú v porovnaní s beloškými deťmi vyššiu prevalenciu nádorov s vysokým rizikom. Vyššia pravdepodobnosť neskorých relapsov u černoškých detí s vysokorizikovým ochorením naznačuje, že táto populácia môže byť rezistentnejšia na chemoterapiu [20].

Osobitnú kapitolu predstavujú deti, ktoré majú rodičov z odlišných etník. U týchto detí je riziko vzniku zhubného nádoru podobné ako u detí z etnických menšín, a teda vyššie ako v beloškej majoritnej skupine. Toto zistenie môže pomôcť pri formulovaní etiologických

štúdií určených na priame štúdium možných genetických a environmentálnych rozdielov [21].

### Záver

Pre správnu liečbu detských zhubných nádorov je dôležité presné stanovenie diagnózy. V prípade solídnych nádorov je základom anamnéza, klinické príznaky, histologické vyšetrenie nádoru a určenie klinického štádia. Rovnaké zistenia sú potrebné aj v prípade hematologických malignít, len namiesto histologického nálezu sa hodnotí vyšetrenie kostnej drene – zafarbeného náteru (morfológia) a prietoková cytometria. Nezastupiteľné miesto v oboch skupinách ochorení má genetické vyšetrenie, ktoré má okrem určenia prognózy vplyv aj na stratifikáciu liečby podľa rizika. Pochopenie biológie nádoru s jeho adekvátnou molekulárno-biologickou analýzou je nevyhnutnou podmienkou pre efektívnu liečbu.

Podrobné genetické vyšetrenie nádorového tkaniva, ako je napríklad cieľené sekvenovanie novej generácie a expresné profilovanie, môže slúžiť ako diagnostický podklad pre návrhy individualizovaných liečebných plánov pre deti so solídnyimi nádormi. Vzhľadom na genetickú rozdielnosť Rómov od väčšiny populácie Slovenska môžeme predpokladať, že podobne ako u neologických ochorení podmienených geneticky, môže aj v patogenéze zhubných nádorov zohrávať táto rozdielnosť dosiaľ nezistenú úlohu. Rovnako ako v populácii, ktorá tvorí väčšinu obyvateľov Slovenska, aj v menšinovom rómskom etniku by sa v cielej onkologickej liečbe mohli uplatniť špecifické genetické zistenia. Ako prvý dôležitý krok je potrebné zistiť presnú incidenciu zhubných nádorov u detí tohto etnika. V prípade rozdielnosti v incidencii, resp. zastúpení jednotlivých typov zhubných nádorov, by tieto informácie mohli poslúžiť na hlbšie a detailnejšie štúdium onkogenézy u rómskeho etnika.

### Literatúra

1. International Agency for Research on Cancer. Global Cancer Observatory. [online]. Available from: <https://gco.iarc.fr/>.
2. Vassal G, Schrappe M, Pritchard-Jones K et al. The SIOPE strategic plan: a European cancer plan for children and

adolescents. *J Cancer Policy* 2016; 8: 17–32. doi: 10.1016/j.jcpo.2016.03.007.

3. Boyle P, Levin B. World cancer report 2008. Lyon: 2008: 482 – 493.
4. Steliarova-Foucher E, Stiller C, Kaatsch P et al. Geographical patterns and time trends of cancer incidence and survival among children and adolescents in Europe since the 1970s (the ACCIS project): an epidemiological study. *Lancet* 2004; 364(9451): 2097–2105. doi: 10.1016/S0140-6736(04)17550-8.
5. Korim V. Dejiny Rómov. Banská Bystrica: Univerzita Mateja Bela 2006.
6. Mašlárová L. Dejiny Rómov. Bratislava: Metodicko-pedagogické centrum 2014.
7. Beňadiková M. Historicko-geografická analýza rómskej problematiky na Slovensku a v regióne Spiš so zameraním na chudobu Rómov. Bratislava: Univerzita Komenského 2010.
8. Nováčková J. Vplyv geografie a subsistencie na distribúciu haploskupín chromozómu Y v Európe a Afrike. Praha: Univerzita Karlova 2016.
9. Petrejčíková E, Soták M, Bernasovská J et al. The genetic structure of the Slovak population revealed by Y-chromosome polymorphisms. *Anthropolog Sci* 2010; 118(1): 23–30.
10. Rai N, Chaubey G, Tamang R et al. The phylogeography of Y-chromosome haplogroup h1a1a-m82 reveals the likely Indian origin of the European Romani populations. *PLoS One* 2012; 7(11): e48477. doi: 10.1371/journal.pone.0048477.
11. Petrejčíková E, Soták M, Bernasovská J et al. Y-haplogroup frequencies in the Slovak Romany population. *Anthropol Sci* 2009; 117(2): 89–94.
12. Chiaroni J, Underhill PA, Cavalli-Sforza LL. Y chromosome diversity, human expansion, drift, and cultural evolution. *Proc Nat Acad Sci U S A* 2009; 106(48): 20174–20179. doi: 10.1073/pnas.0910803106.
13. Kalaydjieva L, Gresham D, Calafell F. Genetic studies of the Roma (Gypsies): a review. *BMC Med Genet* 2001; 2: 5. doi: 10.1186/1471-2350-2-5.
14. Kalaydjieva L, Perez-Lezaun A, Angelicheva D et al. A founder mutation in the GK1 gene is responsible for galactokinase deficiency in Roma (Gypsies). *Am J Hum Genet* 1999; 65(5): 1299–1307. doi: 10.1086/302611.
15. Gerinec A. Glaukóm u detí. *Pediatr Praxi* 2019; 20(2): 86–89.
16. Reckova M, Mardiac J, Beniak J et al. Differences in age-distribution, oncological diagnoses and stage in Roma and non-Roma cancer patients registered at the outpatient oncology department Poprad in 2014 and 2015 – a retrospective study. *Klin Onkol* 2017; 30(1): 41–47. doi: 10.14735/amko201741.
17. Reckova M, Mardiac J, Plank L et al. Differences in incidence and biological characteristics of breast cancer between Roma and non-Roma patients in Slovakia. *Klin Onkol* 2017; 30(1): 48–54. doi: 10.14735/amko201748.
18. Pizzo PA, Poplack DG. Principles and practice of pediatric oncology. In: Epidemiology of childhood cancer (6th ed.). Chapter 1. Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, 2011.
19. Pizzo PA, Poplack DG et al. Principles and practice of pediatric oncology (7th ed.). Chapter 15. Infants and adolescents with cancer: special considerations. [online]. Available from: <https://oncology.lwwhealthlibrary.com/book.aspx?bookid=1583>.
20. Henderson OT, Bhatia S, Pinto N et al. Racial and ethnic disparities in risk and survival in children with neuroblastoma: a Children's Oncology Group Study. *J Clin Oncol* 2011; 29(1): 76–82. doi: 10.1200/JCO.2010.29.6103.
21. Chov EJ, Puumala SE, Mueller BA et al. Childhood cancer in relation to parental race and ethnicity: a five-state pooled analysis. *Cancer* 2010; 116(12): 3045–3053. doi: 10.1002/cncr.25099.

# Skóre polygenního rizika (PRS) a jeho potenciál pro stratifikaci rizika karcinomu prsu

## Polygenic risk score (PRS) and its potential for breast cancer risk stratification

Hovhannisyan M.<sup>1</sup>, Kleiblová P.<sup>1,2</sup>, Nehasil P.<sup>1,3,4</sup>, Soukupová J.<sup>1</sup>, Zemánková P.<sup>1,3</sup>, Kleibl Z.<sup>1,3</sup>, Janatová M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoř onkogenetiky, Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky, 1. LF UK a VFN v Praze

<sup>2</sup> Ústav biologie a lékařské genetiky, 1. LF UK a VFN v Praze

<sup>3</sup> Ústav patologické fyziologie, 1. LF UK, Praha

<sup>4</sup> Klinika pediatrie a dědičných metabolických poruch, 1. LF UK a VFN v Praze

### Souhrn

**Východiska:** Karcinom prsu je komplexní, multifaktoriální onemocnění, na jehož vzniku se podílejí i genetické faktory. Kromě relativně vzácných patogenních variant ve vysoce či středně penetrantních nádorových predispozičních genech ovlivňují riziko vzniku karcinomu prsu i početné nízké penetrantní alely, které vnímáme jako faktory polygenní dědičnosti. Nízké penetrantní alely mají samostatně zanedbatelný význam, avšak jejich kumulativní účinek může dosáhnout klinicky významných hodnot a lze jej vyjádřit pomocí skóre polygenního rizika (polygenic risk score – PRS), které se v současnosti zvažuje jako možný nástroj pro přesnější odhad absolutního a kumulativního rizika onkologického onemocnění u konkrétní osoby. **Cíl:** V zahraničí již bylo vyvinuto několik setů pro jednonukleotidový polymorfismus (single nucleotide polymorphism – SNP) pro stanovení PRS za účelem využití metody v individualizaci rizika v klinické praxi. Následující text si klade za cíl osvětlit základy stanovení PRS a jeho interpretaci jako možného predikčního nástroje. Využití PRS by však mělo být vždy podmíněno genetickým vyšetřením patogenních variant v nádorových predispozičních genech.

### Klíčová slova

PRS – polygenní dědičnost karcinomu prsu – stanovení rizika karcinomu prsu – sporadický karcinom prsu

### Summary

**Background:** Breast cancer is a complex, multifactorial disease influenced by many genetic factors. Besides the relatively rare pathogenic variants in high or moderate penetrant cancer predisposition genes, breast cancer risk is modified by numerous low risk alleles considered to be polygenic genetic factors. While the risks associated with individual polygenic loci are negligible, its cumulative effect can reach clinically significant values and it can be expressed as a polygenic risk score (PRS). PRS is recently considered to be a possible tool improving assessment of absolute and cumulative risks at the individual level. **Purpose:** Several single nucleotide polymorphism sets for PRS assessment have recently been developed and prepared for their implementation into clinical practice. The following text aims to explain the fundamental principles of the PRS assessment and its interpretation as a candidate prediction tool. The use of the PRS should always depend on genetic analysis of pathogenic variants in cancer predisposition genes including its current limitations.

### Key words

PRS – polygenic risk score – breast cancer – breast cancer risk – risk stratification – sporadic breast cancer

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare that they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

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

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



RNDr. Markéta Janatová, Ph.D.

Ústav lékařské biochemie

a laboratorní diagnostiky,

1. LF UK a VFN v Praze

Na Bojišti 3

128 08 Praha 2

e-mail: mjana@lf1.cuni.cz

Obdrženo/Submitted: 14. 12. 2023

Přijato/Accepted: 10. 1. 2023

doi: 10.48095/ccko2023198

## Úvod

Ve vyspělých zemích patří onkologická onemocnění k nejčastějším příčinám úmrtí se setrvale rostoucím významem [1]. Po nemelanomových nádorech kůže je karcinom (ca) prsu druhé nejčastější nádorové onemocnění v populaci žen v ČR [2]. Jeho celoživotní riziko přesahuje 10 %. Vysoká incidence (131/100 000 žen v roce 2020) a mortalita (32/100 000 žen v roce 2020) ca prsu představuje v posledních dekádách významnou zdravotní i socioekonomickou zátěž [3]. Z těchto důvodů byl v roce 2002, jako pro první nádorové onemocnění u nás, zaveden populační screening ca prsu pro všechny ženy od věku 45 let ve dvouletých intervalech. Třebaže toto opatření vedlo ke včasnému zachycení onemocnění u pacientek, existuje obava, že plošné testování může vést k nadsazené incidenci ca prsu (falešně pozitivní výsledky a overdiagnosis), byť v naprosté menšině případů [4,5].

Ca prsu vzniká nejčastěji jako **sporadické onemocnění** v důsledku získaných poruch genomové DNA, které postihují geny ovlivňující zejména proliferaci buněk prsní epitelové tkáně [6]. Hlavní klinické podskupiny onemocnění jsou určovány přítomností a aktivitou intracelulárních steroidních (estrogenních a progesteronových) receptorů a membránového receptoru pro epidermální růstový faktor ErbB2 (HER2/neu), které normálně regulují mitotickou aktivitu mamární tkáně [7–9]. Ca prsu je tak velmi heterogenním onemocněním se značně proměnlivým biologickým chováním.

Pravděpodobnost vzniku ca prsu ovlivňuje řada rizikových faktorů – vrozených, behaviorálních i environmentálních. Mezi známé rizikové faktory můžeme zařadit časnou menarche spolu s pozdní menopauzou, nuliparitou, těhotenstvím v pozdním věku [10,11] nebo krátkou dobou kojení [12]. Celkové riziko dále mírně zvyšuje obezita, kouření a konzumace alkoholu [12–14]. Mezi nejzávažnější rizikové faktory patří pozitivní onkologická rodinná anamnéza [15,16]. Riziko onemocnění zdvojnásobuje přítomnost ca prsu u jedné přímé příbuzné (matka, sestra, dcera) pacientky, s pozitivní rodinnou anamnézou záro-

veň stoupá riziko rozvoje onemocnění v mladším věku [16,17].

V méně než 10 % všech případů se setkáváme s **dědičnou formou ca prsu**, která vzniká na základě přítomnosti zárodečné mutace v některém z nádorových predispozičních genů. Příklady rozvětvených rodin s opakovaným výskytem onemocnění ukazují, že hereditární formy ca prsu vznikají jako monogenní onemocnění s autozomálně dominantním typem dědičnosti nádorové predispozice [18]. Prokázané příčinné dědičné mutace se však vyskytují pouze přibližně u třetiny žen s pozitivní rodinnou anamnézou, a to častěji u pacientek, v jejichž rodinné anamnéze se vyskytuje kromě ca prsu i ca ovarii (23 vs. 59 %) [19]. U pacientek se zvýšeným výskytem ca prsu v rodině, kde se nepodařilo určit příčinnou dědičnou mutaci, hovoříme o **familiárním** onemocnění.

Charakterizace rozsáhlých rodin s mnohočetným výskytem ca prsu a pokroky v metodách molekulární genetiky umožnily v 90. letech minulého století objev **hlavních predispozičních genů BRCA1** [20] a **BRCA2** [21]. Přítomnost vysoce penetrantních mutací v obou genech podmiňuje vznik dědičné formy ca prsu a ovarii. Význam obou genů podtrhuje i relativně vysoká prevalence jejich dědičných mutací, které tvoří přibližně polovinu všech případů hereditární formy ca prsu. Proporce nosičů mutací v obou genech vykazují významné populační rozdíly, přičemž v ČR převládají dědičné alterace v genu *BRCA1* [19,22–25]. Třebaže se po objevu genů *BRCA1* a *BRCA2* na sklonku tisíciletí podařilo identifikovat desítky dalších genů zvyšujících riziko ca prsu, žádný z nich kombinací klinicky mimořádně významného rizika a vysoké prevalence nosičů nezastínil význam genů *BRCA1* a *BRCA2* [26]. Je však zajímavé, že většina predispozičních genů spojených se vznikem dědičné formy ca prsu kóduje proteiny, které se podílejí na mechanismu oprav genomové DNA a intracelulární signalizaci reagující na přítomnost jejího poškození [26].

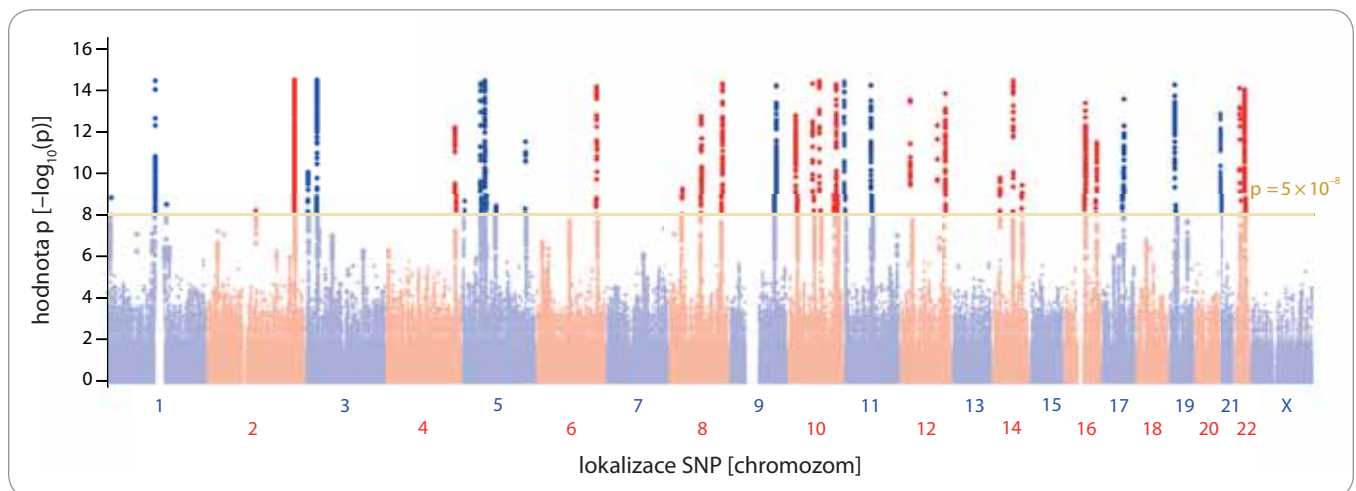
Predispoziční geny lze kategorizovat podle míry rizika (obvykle vyjádřené jako poměr šancí – odds ratio (OR)) vzniku ca prsu u nosičů jejich patogen-

ních zárodečných mutací. **Vysoce penetrantní** mutace v genech *BRCA1*, *BRCA2*, *PALB2*, *PTEN* [27], *TP53* [28] či *STK11* [29] zvyšují riziko vývoje ca prsu proti běžné populaci více než pětinašobně (OR > 5), čímž dosahují celoživotního rizika na úrovni 60–75 %. U **středně penetrantních** mutací v genech *CHEK2* a *ATM* je riziko zvýšené středně (OR 2–5), a celoživotní riziko tak dosahuje hodnot kolem 25–30 % [24,30].

Zpracování rozsáhlých souborů vysoce rizikových pacientek s ca prsu prokázalo, že u nezanedbatelné části nemocných není možné identifikovat monogenní příčinnou zárodečnou změnu. Takové případy vedly k domněnce, že příčinou onemocnění je **polygenní dědičnost**, kdy onemocnění vznikají aditivním působením řady **variant s nízkou penetrancí** [31].

Na základě asocičních studií sledujících výskyt ca prsu mezi příbuznými a mezi dvojčaty byly charakterizovány **varianty s nízkou penetrancí**, které zvyšují (či případně snižují) riziko ca prsu méně než dvojnásobně [32]. Třebaže míra rizika spojená s jednotlivými samotnými nízké penetrantními variantami je klinicky prakticky bezvýznamná (OR se obvykle pohybuje v intervalu 0,9–1,1), vznik ca prsu může být významně ovlivněn rizikovými genotypy složenými z mnoha (desítek až stovek) nízké penetrantních variant. Na rozdíl od patogenních mutací ve vysoce a středně penetrantních genech se klinicky významné nízké penetrantní varianty vyskytují se značnou populační četností (5–95 %) [33,34]. Dopad těchto variant na riziko vzniku ca prsu může být pozitivní i negativní, a některé varianty tak mohou zvyšovat riziko, zatímco jiné míru rizika snižují.

V nejjednodušší podobě mohou takovéto varianty reprezentovat např. změny aminokyselin v kódující sekvenci genů, jejichž proteinové produkty souvisejí s rozvojem onemocnění. S ohledem na skutečnost, že kódující genetická informace tvoří jen malou část genomu, je mnohem častější, že asociovaná varianta leží v nekódujících či intergenových oblastech a mechanismus působení takovýchto variant je obvykle nejasný. Na jedné straně si můžeme představit, že



**Graf 1. Vizualizace výstupu COGS studie v podobě tzv. Manhattan grafu.** Každý datový bod grafu představuje jednu z 199 961 úspěšně analyzovaných variant jednonukleotidového polymorfizmu (SNP) [40]. Na ose x je vynesena pozice SNP na jednotlivých chromozomech, na ose y je vynesena p-hodnota (jako záporný dekadický logaritmus) vyjadřující statistickou významnost rozdílu ve výskytu varianty v souboru 133 384 pacientek s ca prsu (většinou ze severní a západní Evropy) a v souboru 113 789 kontrol (srovnatelný původ). Jelikož se mezi soubory pacientek a kontrol porovnávají frekvence stovek tisíc genomových variant, je nezbytné upravit obvyklou hodnotu p statistické významnosti ( $p < 0,05$ ) na mnohočetné testování (což si v praxi můžeme představit jako vydělení hladiny významnosti počtem analyzovaných variant SNP). Žlutá linka označuje hranici, nad kterou se vyskytují SNP statisticky signifikantně asociující s výskytem ca prsu po korekci hodnoty p na mnohočetné testování ( $p < 5 \times 10^{-8}$ ).

jednotlivé varianty mohou ovlivňovat genovou expresi okolních genů (v podobě změn enhancerů či silencerů) nebo ovlivňují biogenezi nekódujících RNA. Můžeme však uvažovat i o tom, že identifikované nízké penetrantní varianty jsou jen funkčně bezvýznamnými genetickými markery doposud neznámých funkčních variant, se kterými jsou v genové vazbě [35,36].

### Celogenomové asociační studie

Podstatou identifikace nízké penetrantních alel je porovnání četnosti výskytu variant zárodečné DNA (nejčastěji SNP) napříč genomem v souboru dobře charakterizovaných pacientek s ca prsu s velikostně srovnatelným kontrolním souborem žen bez onemocnění. Výstupem takovéto studie (tzv. genome-wide association study – GWAS) je identifikace konkrétních sekvenčních variant DNA v genomu, které jsou spojeny s výskytem onemocnění.

S ohledem na skutečnost, že vliv jednotlivých variant na riziko ca prsu je velmi malý, musely všechny GWAS studie zahrnout rozsáhlé soubory pacientů a kontrol. U každého vyšetřovaného vzorku byly analyzovány desítky

až stovky tisíc genomových lokusů, což ve výsledku znamenalo vzájemně porovnávat obrovské množství komplexních genotypů. Potřebnou technologickou kapacitu pro masivní genotypizaci katalyzoval na počátku milénia až rozvoj DNA mikročipů, které umožňují poměrně jednoduše analyzovat tisíce genetických variant u tisíců vyšetřovaných subjektů [34,37,38].

Britská studie z roku 2007, jedna z prvních GWAS zaměřených na identifikaci polygenního rizika u ca prsu, analyzovala pomocí DNA mikročipů přes 250 000 variant SNP. Studie sestávala ze tří fází, kdy se postupně zužoval počet analyzovaných SNP a zvyšoval počet probandek. Ve třetí fázi studie, kde byly kromě Britek zahrnuty též probandky z Evropy, USA, Austrálie a Asie, bylo vyšetřeno 30 SNP u 21 860 pacientek a 22 578 kontrol. Výstupem této studie byla identifikace pěti nejrizikovějších SNP variant v genech *FGFR2*, *LSP1*, *TNRC9* a *MAP3K*; avšak i u varianty v genu *FGFR2* s nejsilnější asociací bylo riziko nízké ( $OR = 1,26$ ;  $95\% CI = 1,23-1,30$ ) [34].

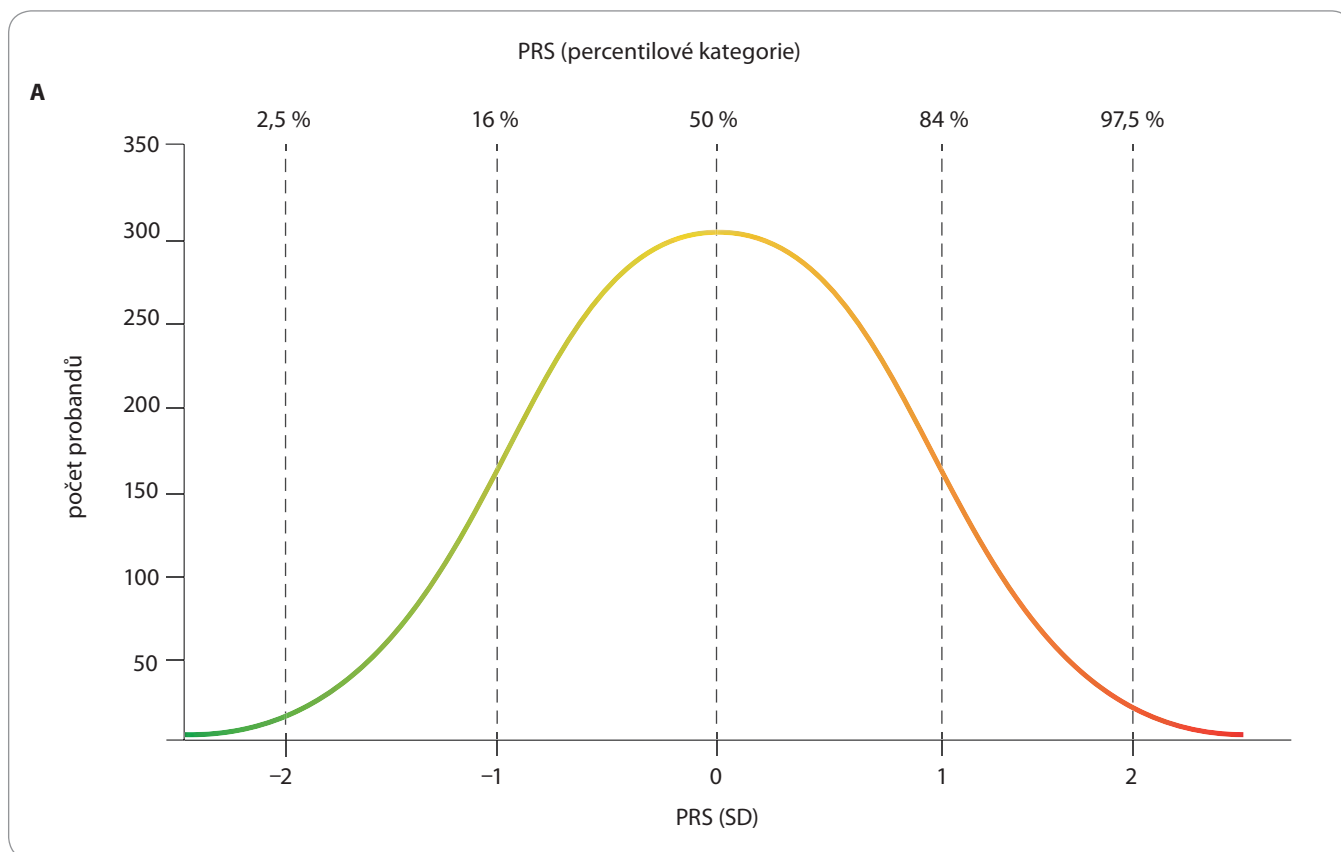
Další technologický pokrok, zlevnění vysokokapacitních technologií a mezinárodní konzorciální spolupráce umožnily v následujících letech výrazně vyšší

efektivitu v identifikaci nízké penetrantních variant asociujících s ca prsu. Studie Collaborative Oncological Gene-environment Study (COGS), která vzešla ze spolupráce mezinárodních konzorcií Consortium of Investigators of Modifiers of BRCA1/2 (CIMBA) a Breast Cancer Association Consortium (BCAC), již analyzovala > 200 000 SNP [33]. Na tuto studii plynule navázala studie OncoArray z roku 2017, která analyzovala > 500 000 SNP variant [39]. Do roku 2020 byly v rámci těchto projektů analyzovány varianty v genomech > 200 000 jedinců [40].

Uvedené studie umožnily stanovit frekvence nízké penetrantních variant v populacích vyšetřovaných pacientek a kontrol, vyčíslit míru rizika (v podobě OR) pro každou z těchto variant a rovněž hodnotu p, která udává statistickou významnost rozdílu ve frekvenci mezi skupinou pacientek s ca prsu a kontrolami (graf 1). Aktualizovaná data získaná v rámci těchto studií jsou volně dostupná na stránkách BCAC [41].

U SNP variant s co nejnvýznamnějším rozdílem distribuce alel mezi nemocnými a zdravými ženami ( $p < 5 \times 10^{-8}$ ) byla stanovena rizika;  $OR < 1$  pro proktivní varianty a  $OR > 1$  pro varianty rizikové [33,36,40,42].





**Graf 2A.** Hypotetická distribuční křivka skóre polygenního rizika (PRS) dle standardního rozdělení. Soubor zahrnuje zdravé kontroly i pacientky. Osa x představuje rozdělení PRS do percentilů a jednotek jim odpovídajících standardních odchylek (SD). Většina probandek spadá do rozpětí jedné SD, kterému odpovídá průměrné populační riziko. Uvedené hodnoty jsou pouze ilustrativní.

### Skóre polygenního rizika

Jak vyplývá z předchozích poznatků, nízké penetrantní alely samy o sobě ovlivňují riziko vzniku ca prsu jen nepatrně. V populacích se však vyskytují v relativně vysokých frekvencích (> 5 %), a jednotlivec je tak nosičem mnoha variant, jejichž účinky se sčítají. V případě nakupení rizikových variant může aditivní účinek dosáhnout klinicky významných hodnot srovnatelných s riziky patogenních variant ve středně penetrantních genech.

Pro výpočet skóre polygenního rizika (polygenic risk score – PRS) musí být ze souboru SNP variant navržených předchozími GWAS vyloučeny lokusy ve vazbě pro odstranění redundantní informace. Tento set se následně podrobuje redukci nadsazené síly efektu pomocí metod regresní analýzy (např. lasso – least absolute shrinkage and selection operator). Teprve pak je možné pokračovat v genetickém testování probandů kontrolního souboru.

Určení rizik (OR) asociovaných s významnými rizikovými variantami SNP umožňuje vyjádřit kumulativní účinek polygenní zátěže pro každého jedince v podobě PRS. Výpočet se provádí dle rovnice:

$$PRS_j = \sum_i^N \log OR_i \times g_{ij}$$

kdy PRS jedince  $j$  tvořené z  $N$  SNP variant je sumou součinů dekadického logaritmu OR alely  $i$  a alelické dávky  $g$ , která nabývá hodnot 0, 1, 2 (0 – homozygot v referenční alele, 1 – heterozygot, 2 – homozygot v rizikové/protektivní alele).

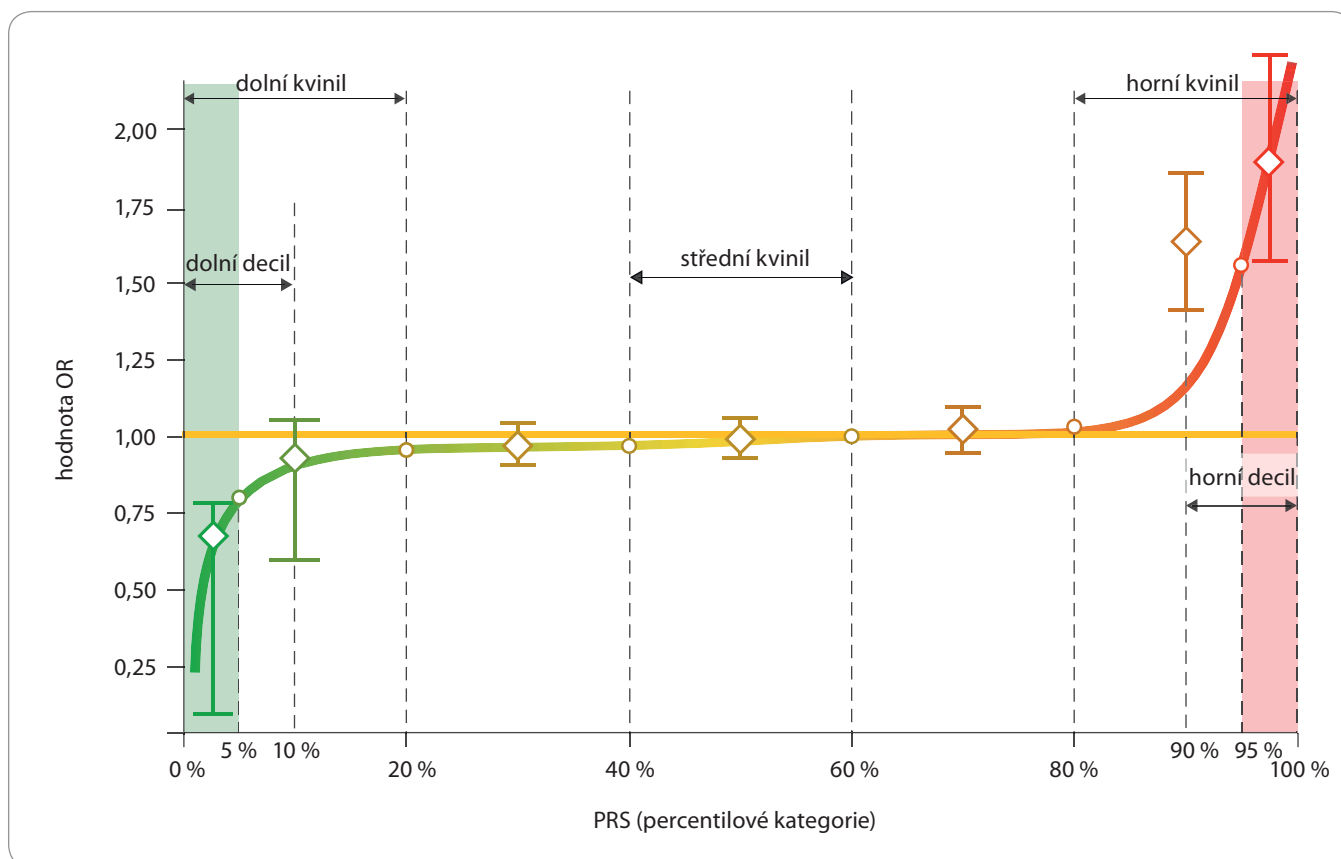
Takto získané PRS samo o sobě vypovídá pouze o tom, zda u konkrétního jedince převažují rizikové, či protektivní alely z vybraného setu. Výsledek nevypovídá o míře rizika, které PRS obnáší pro jedince ve vyšetřované populaci. Pro toto zhodnocení je nutné porovnat ženy ve vyšetřovaném souboru (pacientky i zdravé ženy) mezi sebou a stanovit ri-

ziko onemocnění pro dosažené hodnoty PRS.

Jak již bylo řečeno, SNP varianty, na kterých je model PRS založen, samy o sobě nesou minimální riziko a nepodléhají tak selekčnímu tlaku, který by redukoval jejich výskyt. V běžné populaci, u níž je známé průměrné kumulativní riziko onemocnění, se proto předpokládá normální distribuce hodnot PRS (graf 2A).

Riziko onemocnění u jedince je vyjádřeno buď na základě proporčního vyjádření v percentilových kategoriích, nebo na základě vzdálenosti hodnot změněného skóre od mediánu jako směrodatná odchylka (SD). Set SNP variant je kalibrován pro konkrétní populaci tak, aby průměrné PRS skóre odpovídalo průměrnému riziku, kterému odpovídá OR rovno 1 (graf 2B).

Sdílená vstupní data GWAS ze studií COGS a OncoArray tvoří základ většiny setů významných SNP pro konstrukci PRS u pacientek s ca prsu v různých studiích u různých populací. Navzdory oče-



**Graf 2B.** Křivka hypotetického rozložení hodnot skóre polygenního rizika (PRS) v populaci žen s ca prsu. Na ose x jsou seřazeny všechny vyšetřované ženy podle stoupající hodnoty PRS. Podle potřeby (a klinického významu) můžeme zobrazené pacientky kategorizovat do skupin (např. kvantilových či decilových). Osa y označuje standardizované hodnoty stoupajícího rizika ca prsu (poměr šancí – OR), kde hodnota 1 označuje riziko běžné populace. Kosočtverce s anténami označují hodnoty OR v jednotlivých kvintilech (a horním a dolním 5% resp. 95% percentilu) s 95% intervalem spolehlivosti. V tomto případě je riziko v horním 95% percentilu na hranici klinické závažnosti (atakuje hranici 20% celoživotního rizika vzniku ca prsu). Pokud bychom uvažovali o využití PRS modelu používajícího soubor jednonukleotidových polymorfizmů uvedený v našem hypotetickém případě, bylo by vhodné analyzovat pacientky ještě v užším extrémním souboru (horní percentil – 99–100 %), kde by hodnoty celoživotního rizika pravděpodobně již přesáhly 25 %. Uvedené hodnoty jsou pouze ilustrativní.

kávání je však mezi sety poměrně malý překryv (schéma 1). Sety se od sebe odlišují vlivem rozdílných četností alel u konkrétních populací, na kterých byly sety testovány (německá a britská), nových dat (databáze COGS je neustále aktualizována), kritérií výběru či rozdílných prioritizací variant ve vazbě.

Vytvořené sety SNP pro výpočet PRS (tab. 1) jsou koncipované jako pomocný nástroj pro identifikaci rizika vzniku ca prsu nebo jako nástroj zpřesňující odhad věkově specifického rizika vzniku onemocnění pro nosičky hereditárních mutací ve známých vysoce penetrantních (např. *BRCA1*, *BRCA2*, *PALB2*) či středně penetrantních (např. *CHEK2*, *ATM*) predispozičních genech [43].

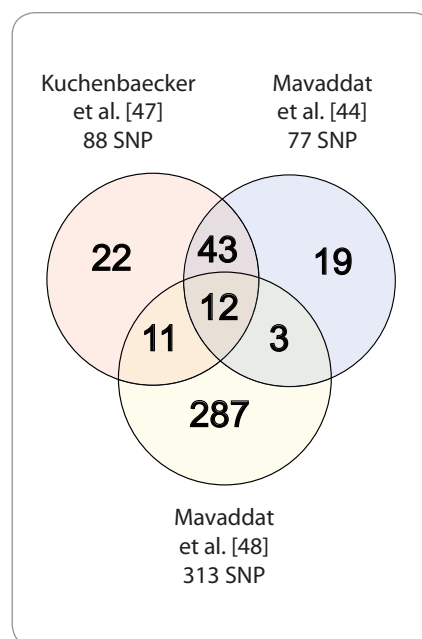
Jak je patrné z uvedených výsledků, vysoké hodnoty PRS jsou spojeny se

zvýšeným rizikem ca prsu bez ohledu na počet SNP zahrnutých do výpočtu. Především v odlehklých percentilech hodnot PRS riziko překračuje dvojnásobek populačního průměru [44,49].

Některé z uvedených setů byly dále testovány na probandkách s jinými selekčními kritérii. Opakované stu-

**Schéma 1.** Překryv SNP setů mezi studii Mavaddat z roku 2015 (set 77) a 2019 (set 313) [44,48] a Kuchenbaecker z roku 2017 (set 88) [47]. Zatímco set 77 byl koncipován jako predikční nástroj pro ER+ a ER– nádory u neselektované populace a set 313 na něj navázal za účelem zpřesnění jeho prediktivní schopnosti, set 88 byl vyvinut primárně pro nosičky mutací v *BRCA1/2*.

ER – estrogenový receptor, SNP – jednonukleotidový polymorfismus



**Tab. 1. Originální studie skóre polygenního rizika (PRS) u bělošských pacientek s ca prsu. Některé modely již v současnosti zahrnují hodnoty PRS do výpočtu rizika vzniku ca prsu vedle známých rizikových faktorů jako rodinná anamnéza, životní styl, či denzita prsní tkáně.**

Studie	Populace	Ca prsu	Pacientky (P) Kontroly (K)	SNP (n)	Výstup
Mavaddat 2015 [44]	EU	sporadický	P: 33 673 K: 33 381	77	ženy v 99. percentilu vs. ženy ve středním kvintilu OR = 3,36 (95% CI 2,95–3,83) OR <sub>ER+</sub> = 3,73 (95% CI 3,24–4,30) OR <sub>ER-</sub> = 2,80 (95% CI 2,26–3,46)
Vachon 2015 [45]	EU	neselektovaný	P: 1 643 K: 2 397	76	ženy v 4. kvartilu vs. ženy v 2. kvartilu OR = 1,74 (95% CI 1,45–2,01) ženy v 4. kvartilu s denzním typem prsní tkáně vs. ženy v 2. kvartilu + tukové žlázyovým typem tkáně OR = 2,68 (95% CI 1,74–4,12)
Evans 2017 [46]	UK	familiární	P <sub>BRCA1/2</sub> : 112 P <sub>WT</sub> : 252 K <sub>BRCA1/2</sub> : 691 K <sub>WT</sub> : 914	18	ženy v 3. kvartilu vs. ženy v 1. kvartilu OR <sub>WT</sub> = 1,55 (95% CI 1,29–1,86) OR <sub>BRCA1</sub> = 1,44 (95% CI 1,17–1,76) OR <sub>BRCA2</sub> = 1,44 (95% CI 0,90–2,31)
Kuchenbaecker 2017 [47]	EU	BRCA1/2 mut	P <sub>BRCA1</sub> : 15 252 P <sub>BRCA2</sub> : 8 211	88	pacientky v 90. – 95. percentilu vs. pacientky v středním kvintilu HR <sub>BRCA1</sub> = 1,50 (95% CI 1,31–1,72) HR <sub>BRCA2</sub> = 1,76 (95% CI 1,43–2,17)
Mavaddat 2019 [48]	EU	sporadický	P: 11 428 K: 18 323	313	ženy v 1 SD vs. ženy v mediánu OR = 1,61 (95% CI 1,57–1,65) OR <sub>ER+</sub> = 1,68 (95% CI 1,63–1,73) OR <sub>ER-</sub> = 1,45 (95% CI 1,37–1,53)
Hughes 2020 [49]	USA	WT v 11 pre-dispozičních genech	P: 28 928 K: 112 232	86	ženy v 95–99. percentilu vs. ženy ve středním kvintilu OR = 2,28 (95% CI 2,13–2,44)
Brentnall 2020 [50]	UK	neselektovaný	P: 405 K: 1 668	143	ženy v 3. kvartilu vs. ženy v 1. kvartilu OR = 2,12 (95% CI 1,75–2,42) OR <sub>ER+</sub> = 2,11 (95% CI 1,78–2,51) OR <sub>ER-</sub> = 1,81 (95% CI 1,16–2,84)

CI – interval spolehlivosti, ER – estrogenové receptory, HR – poměr rizik, mut – mutace, n – počet případů, OR – poměr šancí, SD – směrodatná odchylka, SNP – jednonukleotidový polymorfismus, wt – wild type

die se zaměřovaly na nosičky mutací v *BRCA1/2* a *CHEK2*, které jsou nejvýznamnějšími genetickými faktory pro ca prsu, a ukázaly spojitost mezi PRS a věkem nástupu onemocnění [43,51,52].

Interpretaci rizika však komplikují další faktory. Přestože studie ukazují, že vysoké PRS s sebou nese zvýšené riziko ca prsu, jeho výpovědní hodnota je bez dalších informací o genetické zátěži jedince výrazně omezená vzhledem k relativně vysoké prevalenci patogenních mutací

v genech *BRCA1/2* a dalších středně penetrančních genech [19,22,53,54].

### Budoucnost PRS

Dosavadní studie ukazují praktické využití PRS nejen pro stanovení rizika u jednotlivých žen v rámci běžné populace, ale také jako modifikátor rizika u nosiček známých mutací. Než však bude možné implementovat stanovení PRS do rutinní diagnostiky, musí nejprve proběhnout validace stanovení PRS na konkrétní po-

pulaci. Dále je nutné zdůraznit, že bez informace o přítomnosti vysoce penetranční alely je predikční schopnost PRS značně omezená.

V současné době probíhá řada studií zabývajících se implementací PRS do klinické praxe. Některé laboratoře již PRS zahrnují do stávajících modelů predikce rizika ca prsu v rámci vyšetřovacích panelů sekvenování nové generace nebo jako samostatný test. Společnost Myriad Genetics nabízí nástroj pro pre-

díky rizika vzniku ca prsu ve svém komerčně dostupném testu myRisk® Hereditary Cancer, který poskytuje odhady pětiletého a celoživotního rizika vzniku ca prsu [55]. AmbryScore (Ambry Genetics) nabízí testy pro predikci rizika BC založené na Tyrer-Cusick modelu, který zahrnuje klinickou anamnézu (věk, etnicita, rodinná anamnéza) plus PRS, který obsahuje 100 variant SNP [56]. Přes zvyšující se popularitu stanovení PRS, která ukazují, že skóre signifikantně zvyšuje, nebo snižuje riziko vzniku ca prsu v extrémních horních či dolních percentilových skupinách analyzovaných souborů pacientek s ca prsu, jsou v současnosti velmi omezeně dostupné údaje o senzitivitě a specifitě vyšetření pro individuální pacientky.

Globální implementace PRS pro odhad rizika ca prsu musí brát v potaz i další současné limitace vyšetření, jako jsou nedostatek dat pro mimoevropské (a rovněž jiné než západoevropské) populace, korelace/interference PRS s dalšími rizikovými faktory (např. s nosičstvím germinálních mutací v nádorových predispozičních genech s nejasným dopadem na riziko ca prsu), nestandardizovaný počet zahrnutých SNP a rozdílné statistické metody pro vlastní výpočet PRS a s ním spojeným rizikem. Rutinní klinické využití PRS jako nástroje pro individualizaci zahájení onkologické prevence – např. mamografického screeningu u konkrétních pacientek – tak bude vyžadovat robustní hodnocení potenciálu PRS pomocí standardních klinických studií.

## Poděkování

Práce byla podpořena grantem Agentury pro zdravotnický výzkum MZČR NU20-09-00355, grantem MŠMT BMMRI-CZ LM2023033, projekty Univerzity SVV260631 a COOPERATIO.

## Literatura

- Global Cancer Observatory. Cancer over time. [online]. Dostupné z: <https://gco.iarc.fr>.
- ÚZIS ČR. Zdravotnická ročenka České republiky 2019. [online]. Dostupné z: <https://www.uzis.cz/res/f/008381/zdroccz2019.pdf>.
- SVOD. Epidemiologie zhoubných nádorů v České republice. [online]. Dostupné z: <http://www.svod.cz>.
- Siu AL. Screening for breast cancer: US preventive services task force recommendation statement. *Ann Intern Med* 2016; 164(4): 279–296. doi: 10.7326/M15-2886.
- Bulliard JL, Beau AB, Njor S et al. Breast cancer screening and overdiagnosis. *Int J Cancer* 2021; 149(4): 846–853. doi: 10.1002/ijc.33602.
- Rahman N. Realizing the promise of cancer predisposition genes. *Nature* 2014; 505(7483): 302–308. doi: 10.1038/nature12981.
- Honrado E, Benítez J, Palacios J. The molecular pathology of hereditary breast cancer: genetic testing and therapeutic implications. *Mod Pathol* 2005; 18(10): 1305–1320. doi: 10.1038/modpathol.3800453.
- Dorgan JF, Longcope C, Franz C et al. Endogenous sex hormones and breast cancer in postmenopausal women: reanalysis of nine prospective studies. *J Natl Cancer Inst* 2002; 94(8): 606–616. doi: 10.1093/jnci/94.8.606.
- Hulka BS, Liu ET, Lininger RA. Steroid-hormones and risk of breast-cancer. *Cancer* 1994; 74(3): 1111–1124. doi: 10.1002/1097-0142(19940801)74:3+<1111::aid-cncr2820741520>3.0.co;2-l.
- MacMahon B, Cole P, Lin TM et al. Age at first birth and breast cancer risk. *Bull World Health Organ* 1970; 43(2): 209–221.
- Albrektsen G, Heuch I, Hansen S et al. Breast cancer risk by age at birth, time since birth and time intervals between births: exploring interaction effects. *Br J Cancer* 2005; 92(1): 167–175. doi: 10.1038/sj.bjc.6602302.
- Colditz GA, Rosner B. Cumulative risk of breast cancer to age 70 years according to risk factor status: data from the Nurses' Health Study. *Am J Epidemiol* 2000; 152(10): 950–964. doi: 10.1093/aje/152.10.950.
- Eliassen AH, Colditz GA, Rosner B et al. Adult weight change and risk of postmenopausal breast cancer. *JAMA* 2006; 296(2): 193–201. doi: 10.1001/jama.296.2.193.
- Calle EE, Rodriguez C, Walker-Thurmond K et al. Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. adults. *N Engl J Med* 2003; 348(17): 1625–1638. doi: 10.1056/NEJMoa021423.
- Himes DO, Root AE, Gammon A et al. Breast cancer risk assessment: calculating lifetime risk using the Tyrer-Cuzick model. *J Nurse Pract* 2016; 12(9): 581–592. doi: 10.1016/j.nurpra.2016.07.027.
- Pharoah PDP, Day NE, Duffy S et al. Family history and the risk of breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Int J Cancer* 1997; 71(5): 800–809. doi: 10.1002/(sici)1097-0215(19970529)71:5<800::aid-ijc18>3.0.co;2-b.
- Brewer HR, Jones ME, Schoemaker MJ et al. Family history and risk of breast cancer: an analysis accounting for family structure. *Breast Cancer Res Treat* 2017; 165(1): 193–200. doi: 10.1007/s10549-017-4325-2.
- Broca P. *Traité des tumeurs*. Paris: P. Asselin 1866.
- Pohlreich P, Zikan M, Stribrna J et al. High proportion of recurrent germline mutations in the BRCA1 gene in breast and ovarian cancer patients from the Prague area. *Breast Cancer Res* 2005; 7(5): R728–736. doi: 10.1186/bcr1282.
- Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D et al. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. *Science* 1994; 266(5182): 66–71. doi: 10.1126/science.7545954.
- Wooster R, Bignell G, Lancaster J et al. Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA2. *Nature* 1995; 378(6559): 789–792. doi: 10.1038/378789a0.
- Mateju M, Stribrna J, Zikan M et al. Population-based study of BRCA1/2 mutations: family history based criteria identify minority of mutation carriers. *Neoplasma* 2010; 57(3): 280–285. doi: 10.4149/neo\_2010\_03\_280.
- Ponder BAJ, Day NE, Easton DF et al. Prevalence and penetrance of BRCA1 and BRCA2 mutations in a population-based series of breast cancer cases. *Br J Cancer* 2000; 83(10): 1301–1308. doi: 10.1054/bjoc.2000.1407.
- Hu C, Hart SN, Gnanaolivu R et al. A population-based study of genes previously implicated in breast cancer. *N Engl J Med* 2021; 384(5): 440–451. doi: 10.1056/NEJMoa2005936.
- Machackova E, Claes K, Mikova M et al. Twenty years of BRCA1 and BRCA2 molecular analysis at MMCI – current developments for the classification of variants. *Klin Onkol* 2019; 32 (Suppl 2): 51–71. doi: 10.14735/amko2019551.
- Kleibl Z, Kristensen VN. Women at high risk of breast cancer: molecular characteristics, clinical presentation and management. *Breast* 2016; 28: 136–144. doi: 10.1016/j.breast.2016.05.006.
- Chen J, Lindblom P, Lindblom A. A study of the PTEN/MMAC1 gene in 136 breast cancer families. *Hum Genet* 1998; 102(1): 124–125.
- Børresen AL, Andersen TI, Garber J et al. Screening for germ line TP53 mutations in breast cancer patients. *Cancer Res* 1992; 52(11): 3234–3236.
- Leggett BA, Young JP, Barker M. Peutz-Jeghers syndrome: genetic screening. *Expert Rev Anticancer Ther* 2003; 3(4): 518–524. doi: 10.1586/14737140.3.4.518.
- Dorling L, Carvalho S, Allen J et al. Breast cancer risk genes – association analysis in more than 113,000 women. *N Engl J Med* 2021; 384(5): 428–439. doi: 10.1056/NEJMoa1913948.
- Pharoah PDP, Antoniou A, Bobrow M et al. Polygenic susceptibility to breast cancer and implications for prevention. *Nat Gen* 2002; 31(1): 33–36. doi: 10.1038/ng853.
- Mucci LA, Hjelmborg JB, Harris JR et al. Familial risk and heritability of cancer among twins in nordic countries. *JAMA* 2016; 315(1): 68–76. doi: 10.1001/jama.2015.17703.
- Michailidou K, Hall P, Gonzalez-Neira A et al. Large-scale genotyping identifies 41 new loci associated with breast cancer risk. *Nat Gen* 2013; 45(4): 353–361. doi: 10.1038/ng.2563.
- Easton DF, Pooley KA, Dunning AM et al. Genome-wide association study identifies novel breast cancer susceptibility loci. *Nature* 2007; 447(7148): 1087–1093. doi: 10.1038/nature05887.
- Wittkopp PJ, Kalay G. Cis-regulatory elements: molecular mechanisms and evolutionary processes underlying divergence. *Nat Rev Genet* 2012; 13(1): 59–69. doi: 10.1038/nrg3095.
- Michailidou K, Lindstrom S, Dennis J et al. Association analysis identifies 65 new breast cancer risk loci. *Nature* 2017; 551(7678): 92–94. doi: 10.1038/nature24284.
- Pollack JR, Perou CM, Alizadeh AA et al. Genome-wide analysis of DNA copy-number changes using cDNA microarrays. *Nat Genet* 1999; 23(1): 41–46. doi: 10.1038/12640.
- Ntzani EE, Ioannidis JP. Predictive ability of DNA microarrays for cancer outcomes and correlates: an empirical assessment. *Lancet* 2003; 362(9394): 1439–1444. doi: 10.1016/S0140-6736(03)14686-7.
- Amos CI, Dennis J, Wang Z et al. The OncoArray Consortium: a network for understanding the genetic architecture of common cancers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2017; 26(1): 126–135. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-16-0106.
- Zhang H, Ahearn TU, Lecarpentier J et al. Genome-wide association study identifies 32 novel breast cancer susceptibility loci from overall and subtype-specific analyses. *Nat Genet* 2020; 52(6): 572–581. doi: 10.1038/s41588-020-0609-2.
- Breast Cancer Association Consortium. [online]. Available from: <https://bcac.ccge.medschl.cam.ac.uk/bcac-data/>.
- Michailidou K, Beesley J, Lindstrom S et al. Genome-wide association analysis of more than 120,000 individuals identifies 15 new susceptibility loci for breast cancer. *Nat Genet* 2015; 47(4): 373–380. doi: 10.1038/ng.3242.
- Borde J, Ernst C, Wappenschmidt B et al. Performance of breast cancer polygenic risk scores in 760 female CHEK2 germline mutation carriers. *J Natl Cancer Inst* 2021; 113(7): 893–899. doi: 10.1093/jnci/djaa203.
- Mavaddat N, Pharoah PDP, Michailidou K et al. Prediction of breast cancer risk based on profiling with common genetic variants. *J Natl Cancer Inst* 2015; 107(5): djv036. doi: 10.1093/jnci/djv036.

45. Vachon CM, Pankratz VS, Scott CG et al. The contributions of breast density and common genetic variation to breast cancer risk. *J Natl Cancer Inst* 2015; 107(5): dju397. doi: 10.1093/jnci/dju397.
46. Evans DG, Brentnall A, Byers H et al. The impact of a panel of 18 SNPs on breast cancer risk in women attending a UK familial screening clinic: a case-control study. *J Med Genet* 2017; 54(2): 111–113. doi: 10.1136/jmedgenet-2016-104125.
47. Kuchenbaecker KB, McGuffog L, Barrowdale D et al. Evaluation of polygenic risk scores for breast and ovarian cancer risk prediction in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *J Natl Cancer Inst* 2017; 109(7): djw302. doi: 10.1093/jnci/djw302.
48. Mavaddat N, Michailidou K, Dennis J et al. Polygenic risk scores for prediction of breast cancer and breast cancer subtypes. *Am J Hum Genet* 2019; 104(1): 21–34. doi: 10.1016/j.ajhg.2018.11.002.
49. Hughes E, Tshiaba P, Gallagher S et al. Development and validation of a clinical polygenic risk score to predict breast cancer risk. *JCO Precis Oncol* 2020; 4: PO.19.00360. doi: 10.1200/PO.19.00360.
50. Brentnall AR, van Veen EM, Harkness EF et al. A case-control evaluation of 143 single nucleotide polymorphisms for breast cancer risk stratification with classical factors and mammographic density. *Int J Cancer* 2020; 146(8): 2122–2129. doi: 10.1002/ijc.32541.
51. Muranen TA, Greco D, Blomqvist C et al. Genetic modifiers of CHEK2\*1100delC-associated breast cancer risk. *Gen Med* 2017; 19(5): 599–603. doi: 10.1038/gim.2016.147.
52. Barnes DR, Rookus MA, McGuffog L et al. Polygenic risk scores and breast and epithelial ovarian cancer risks for carriers of BRCA1 and BRCA2 pathogenic variants. *Genet Med* 2020; 22(10): 1653–1666. doi: 10.1038/s41436-020-0862-x.
53. Armstrong N, Ryder S, Forbes C et al. A systematic review of the international prevalence of BRCA mutation in breast cancer. *Clin Epidemiol* 2019; 11: 543–561. doi: 10.2147/CLEPS206949.
54. Moller P, Hagen AI, Apold J et al. Genetic epidemiology of BRCA mutations – family history detects less than 50% of the mutation carriers. *Eur J Cancer* 2007; 43(11): 1713–1717. doi: 10.1016/j.ejca.2007.04.023.
55. My Risk Hereditary Cancer Test. [online]. Available from: [www.myriadmyrisk.com/riskscore/](http://www.myriadmyrisk.com/riskscore/).
56. Ambry Genetics. [online]. Available from: [www.ambrygen.com/clinician/ambryscore](http://www.ambrygen.com/clinician/ambryscore).

## Informace z České onkologické společnosti

Zápisy ze schůzí výboru České onkologické společnosti konaných 18. 4. a 23. 5. 2023 ve FN Motol v Praze naleznete na [www.linkos.cz](http://www.linkos.cz).

# Hypoplastická forma myelodysplastické neoplazie

## Hypoplastic form of myelodysplastic neoplasm

Votavová H.<sup>1</sup>, Lenertová Z.<sup>1,2</sup>, Votava T.<sup>3</sup>, Beličková M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

<sup>2</sup> 1. lékařská fakulta, UK Praha

<sup>3</sup> Dětská klinika LF v Plzni UK a FN Plzeň

### Souhrn

**Východiska:** Hypoplastická forma myelodysplastické neoplazie (MDS-h) je vzácná porucha krevtvorby charakterizována periferní cypenií, hypoplazií (celularita  $\leq 25\%$ ) a dysplastickými změnami v kostní dřeni. Ve srovnání s normo-/hypercelulárním MDS je kromě hypocelularity u pacientů s MDS-h nalézána těžší neutropenie a trombocytopenie, nižší procento blastů a méně častěji abnormální karyotyp. Při diferenciální diagnóze je obtížné odlišit především MDS-h od aplastické anemie. Abnormální karyotyp je nalézán u 15–50 % pacientů s MDS-h a mezi nejběžnější chromozomální aberace patří  $-5/\text{del}(5q)$ ,  $-7/\text{del}(7q)$ ,  $+8$ ,  $17\text{pLOH}$ ,  $\text{del}(20q)$ ,  $\text{UPD}$  v  $4q$ ,  $11q$ ,  $13q$ ,  $14q$ . Přibližně 35 % pacientů s MDS-h nese somatické mutace, které jsou nejčastěji detekovány v genech *PIGA*, *TET2*, *DNMT3A*, *RUNX1*, *NPM1*, *ASXL1*, *STAG2*, *APC*. V patofyziologii MDS-h hraje klíčovou roli defektní imunitní odpověď, při které dochází k poškození hematopoetických kmenových buněk (hematopoietic stem cells – HSC) nebo progenitorových buněk (hematopoietic progenitor cells – HPC) abnormálně aktivovanými T buňkami. Expandované T buňky produkují nadměrné množství prozánětlivých cytokinů ( $\text{IFN-}\gamma$  a  $\text{TNF-}\alpha$ ), které inhibují proliferaci HSC/HPC a indukují jejich apoptózu. Antigeny spouštějící abnormální imunitní odpověď nejsou známy, ale mezi potenciální kandidáty patří protein WT1 a molekuly HLA I. třídy. MDS-h nepředstavuje fenotypově homogenní podskupinu MDS, ale spíše jde o smíšenou entitu zahrnující jak pacienty vykazující znaky podobné myeloidní neoplazii, tak pacienty se znaky nemaligního útlumu kostní dřene. Právě stanovení převažujícího fenotypu u MDS-h je důležité pro zvolení optimální léčby a predikci prognózy. **Cíl:** Cílem tohoto sdělení je poukázat na zajímavou hypoplastickou formu MDS, jejíž diagnostika je obtížná, a přehledně popsat její hlavní klinicko-patologické znaky, genetické pozadí a mechanismy abnormální imunitní odpovědi.

### Klíčová slova

syndromy selhání kostní dřene – myelodysplastické syndromy – aplastická anemie – patofyziologie – genetické pozadí

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare that they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

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

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



RNDr. Hana Votavová, Ph.D.

Oddělení genomiky

Ústav hematologie a krevní transfuze

U Nemocnice 1

128 00 Praha 2

e-mail: hana.votavova@uhkt.cz

Obdrženo/Submitted: 19. 11. 2022

Přijato/Accepted: 19. 1. 2023

doi: 10.48095/ccko2023206

## Summary

**Background:** Hypoplastic myelodysplastic neoplasm (MDS-h) is a rare hematopoietic disorder characterized by peripheral cytopenia, hypoplasia (cellularity  $\leq$  25%) and dysplastic changes in the bone marrow. Compared to normo-/hypercellular MDS, in addition to hypocellularity, MDS-h patients have more profound neutropenia and thrombocytopenia, a lower percentage of blasts, and less frequent abnormal karyotype. It is difficult to distinguish MDS-h from aplastic anemia in differential diagnosis. Abnormal karyotype is found in 15–50% of MDS-h patients and the most common chromosomal aberrations include  $-5/\text{del}(5q)$ ,  $-7/\text{del}(7q)$ ,  $+8$ ,  $17\text{pLOH}$ ,  $\text{del}(20q)$ , UPD at 4q, 11q, 13q, and 14q. Approximately 35% of MDS-h patients harbour somatic mutations that are most often detected in *PIGA*, *TET2*, *DNMT3A*, *RUNX1*, *NPM1*, *ASXL1*, *STAG2*, and *APC* genes. An autoimmune destruction of hematopoietic stem cells (HSCs) or hematopoietic progenitor cells (HPCs) mediated by abnormally activated T cells plays a key role in the pathophysiology of MDS-h. Expanded T cells overproduce proinflammatory cytokines (IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$ ), which inhibit proliferation and induce apoptosis of HSC/HPCs. The antigens that trigger the immune response are not known, but potential candidates have been suggested such as WT1 protein and HLA class I molecules. MDS-h does not represent a phenotypically homogeneous subtype of MDS, but rather it is a mixed entity comprising both patients showing features similar to myelodysplastic neoplasm and patients with features of non-malignant bone marrow failure. Determining the prevailing phenotype in MDS-h is important for choosing the optimal treatment and prognosis prediction.

**Purpose:** The aim of this article is to point out an interesting hypoplastic MDS, the diagnosis of which is difficult, and to provide an overview of its main clinical-pathological features, genetic background, and mechanisms of aberrant immune response.

## Key words

bone marrow failure disorders – myelodysplastic syndromes – aplastic anemia – physiopathology – genetic background

## Úvod

Myelodysplastické neoplazie (MDS) zahrnují skupinu klonálních onemocnění krvetvorby, která je charakterizovaná neúčinnou hematopoézou, dysplazií postihující jednu nebo více buněčných linií, periferní cytopenií a zvýšeným rizikem přechodu do akutní myeloidní leukemie (AML). Roční výskyt MDS se odhaduje na 4 případy na 100 000 obyvatel, přičemž incidence se výrazně zvyšuje s věkem na 30 případů na 100 000 obyvatel u osob starších 70 let [1]. V loňském roce byl vydán nový klasifikační systém Světové zdravotnické organizace (World Health Organisation – WHO) pro myeloidní a histiocytární/dendritické neoplazie, který dělí MDS na 2 skupiny: 1) MDS s definovanými genetickými abnormalitami zahrnující MDS s nízkým počtem blastů a izolovanou delecí 5q (MDS-5q), MDS s nízkým počtem blastů a mutací *SF3B1* (MDS-SF3B1), MDS s bi-alelickou inaktivací *TP53* (MDS-biTP53); 2) MDS definované morfologicky zahrnující MDS s nízkým počtem blastů (MDS-LB), MDS hypoplastické (MDS-h), MDS se zvýšeným počtem blastů (MDS-IB). Tato klasifikace také zavádí nový termín pro myelodysplastické syndromy, a to termín myelodysplastické neoplazie (zkratka MDS zůstala stejná), který má vystihovat neoplastickou povahu onemocnění [2]. Většina pacientů s MDS má normální nebo zvýšenou celularitu kostní dřeně (normo-/hypercelulární MDS, NH-

MDS), avšak u 10–15 % pacientů lze nalézt hypocelulární kostní dřeň (celularita nepřesahuje 25 % normy) [3]. Tento minoritní typ MDS se označuje jako hypoplastická forma MDS (MDS-h), která teprve až v klasifikaci WHO 2022 byla vyloučena jako samostatný podtyp MDS. V klasifikaci WHO 2016 většina případů MDS-h spadá do kategorie MDS s dysplazií v jedné nebo ve více řadách (MDS-SLD nebo MDS-MLD). Z prognostického hlediska se MDS-h vyskytuje převážně u pacientů s nízkým rizikem transformace do AML.

## Diferenciální diagnostika

V rámci MDS je základním předpokladem pro diagnózu MDS-h hypocelularita kostní dřeně, jejíž hranice byla původně odvozena od aplastické anemie (AA). Dlouho se však nebralo v úvahu snižování související s věkem, což komplikovalo diagnostiku nejen u starších pacientů, ale i u mladších pacientů s MDS. V nových studiích se proto upravují kritéria pro hypocelularitu dle věku ( $< 30$  % u pacientů ve věku  $\leq 70$  let (včetně) a  $< 20$  % u pacientů starších 70 let) [4]. Klinické a laboratorní nálezy jako je cytopenie, dysplazie kostní dřeně, klonální chromozomální abnormality a možnost transformace do AML jsou společné pro MDS-h a NH-MDS. Ve srovnání s NH-MDS je však u MDS-h nalézána těžší neutropenie a trombocytopenie, nižší procento blastů a méně častěji abnormální

karyotyp. Dále pacienti s MDS-h vykazují větší závislost na transfúzích a vyšší míru léčebné odpovědi na imunosupresivní terapii (IST), mají příznivější prognózu, delší celkové přežití (medián 80,5 vs. 29,6 měsíce;  $p = 0,001$ ) a nižší incidenci transformace do AML (19,3 vs. 40,4 % po 5 letech;  $p = 0,001$ ) [5]. Pacienti s MDS-h bývají mladší, přičemž MDS-h je nejběžnějším typem MDS u dětských pacientů [6].

Hypocelularita odlišuje MDS-h od NH-MDS, avšak to neplatí pro AA, která kromě hypocelularity vykazuje řadu dalších podobných klinicko-patologických znaků. V tomto případě je diferenciální diagnostika velmi obtížná a diagnostická kritéria vymezující hranice mezi AA a MDS-h jsou stále předmětem diskuse. Pro AA je charakteristická tuková přestavba hypoplastické dřeně bez přítomnosti fibrózy a dysplazie, bez chromozomálních aberací, bez zmnožení blastů a bez známek infiltrace klonální lymfoproliferací či metastázami nádoru. Dále lze u AA pozorovat snížený růst prekurzorů krvetvorby *in vitro* [7]. Cytogenetické abnormality jsou typické pro MDS, ale jsou nalézány i u malého počtu pacientů s AA [8], u kterých mohou být dokonce tranzientní a v průběhu léčby vymizet. Ve srovnání s pacienty s AA jsou pacienti s MDS-h většinou starší, mají větší riziko progresu a kratší dobu přežití [3]. Zvýšené procento CD34<sup>+</sup> buněk a tendence pozitiv-

ních buněk tvořit agregáty může také přispět k odlišení MDS-h a hypocelulární AML od AA [9]. U hypocelulární AML je nejdůležitějším diferenciačním nálezem přítomnost 20 % a více blastů v aspirátu [9]. Různý stupeň pancytopenie a hypoplazie kostní dřeně může být přítomen i u paroxysmální noční hemoglobinurie (PNH). Diagnóza PNH je stanovena na základě přítomnosti známek hemolýzy (vč. hemoglobinurie), pancytopenie a deficitu CD55/CD59 antigenů na povrchu erytrocytů a granulocytů [7]. Porovnání klinických a laboratorních nálezů mezi MDS-h a NH-MDS je shrnuto v tab. 1 [10,11].

### Imunopatogeneze

Specifické imunologické znaky a vysoká míra léčebné odpovědi na IST u pacientů s MDS-h poukázala, že na patofyziologii tohoto onemocnění se zřejmě podílí imunitní systém. Experimentální studie prokázaly, že hematopoetické kmenové buňky (hematopoietic stem cells – HSC) nebo hematopoetické progenitorové buňky (hematopoietic progenitor cells – HPC) jsou ničeny abnormálně aktivovanými cytotoxickými T buňkami. Antigeny spouštějící aberantní imunitní odpověď nejsou známy, ale byli navrženi potenciální kandidáti jako je WT1. Jelikož pacienti s MDS nesoucí trizomii 8 vykazují dobrou odpověď na IST, byli tito pacienti detailně analyzováni. Ukázalo se, že trizomické buňky exprimují vysoké hladiny WT1 a CD8<sup>+</sup> T buňky jsou schopny rozpoznat peptidy WT1 a indukovat expresi IFN- $\gamma$  *in vitro*, což naznačuje, že tento antigen může přispívat k abnormální aktivaci imunitní odpovědi [12]. Další studie ukázala, že HSC s trizomii 8 mohou uniknout destrukci zprostředkované T buňkami, a to nadměrnou expresí proteinů cyklin D1 a survivin [13]. Imunitní odpověď mohou zřejmě vyvolat i jiné antigeny jako např. nadměrně exprimované HLA molekuly I. třídy. U pacientů s AA a MDS s refrakterní anemií byla detekována vysoká frekvence alely HLA-DR15 (DR2) ve srovnání se zdravými kontrolami [14]. Dále pacienti s MDS nesoucí PNH klon mají významně vyšší zastoupení této alely [15].

Antigen prezentovaný buňkou prezentující antigen (APC) spouští aktivaci

Tab. 1. Vybrané klinické a laboratorní nálezy u MDS-h a NH-MDS [10,11].

Charakteristika	MDS-h	NH-MDS	p-hodnota
věk (roky) medián (rozmezí)	61 (17–81)	64 (21–86)	<b>0,04</b>
podíl pohlaví (muž/žena)	3,0	1,2	0,052
zvýšená LDH	8/19 (42 %)	34/125 (27 %)	0,18
hemoglobin (g/l) medián (rozmezí)	83 (43–130)	82 (26–147)	0,45
destičky ( $\times 10^9/l$ ) medián (rozmezí)	31 (3–320)	75 (2–490)	<b>0,028</b>
neutrofilů ( $\times 10^9/l$ ) medián (rozmezí)	1,2 (0,3–3,2)	1,8 (0,05–39,1)	0,05
blasty v periferní krvi	1/24 (4 %)	60/211 (28 %)	<b>0,01</b>
blasty v kostní dřeni (%) – medián (rozmezí)	2 (1–24)	6 (1–29)	<b>0,01</b>
imunologické abnormality*	0/21 (0 %)	10/179 (5,6 %)	0,266
abnormální karyotyp	3/24 (12,5 %)	84/188 (44,7 %)	<b>0,0025</b>
abnormální růst GM progenitorů	4/20 (20 %)	27/78 (34,6 %)	0,21
IL-6 (pg/ml) medián (rozmezí)	1,9 (0–95,3)	6,7 (0–1 000)	0,54
Epo (mIU/ml) medián (rozmezí)	151 (10–517)	22 (5–517)	<b>0,004</b>
<b>Kategorie dle WHO 2016</b>	n = 278	n = 727	
MDS del(5q)	10 (4 %)	28 (4 %)	<b>&lt; 0,001</b>
MDS-RS	12 (4 %)	133 (18 %)	
MDS-SLD	34 (12 %)	77 (11 %)	
MDS-MLD	161 (58 %)	230 (32 %)	
MDS-EB	59 (21 %)	256 (35 %)	
MDS-U	2 (1 %)	3 (< 1 %)	
<b>Riziko dle IPSS-R</b>	n = 229	n = 540	
velmi nízké	33 (14 %)	84 (16 %)	<b>0,011</b>
nízké	106 (46 %)	218 (40 %)	
střední	55 (24 %)	113 (21 %)	
vysoké	20 (9 %)	81 (15 %)	
velmi vysoké	15 (7 %)	44 (8 %)	

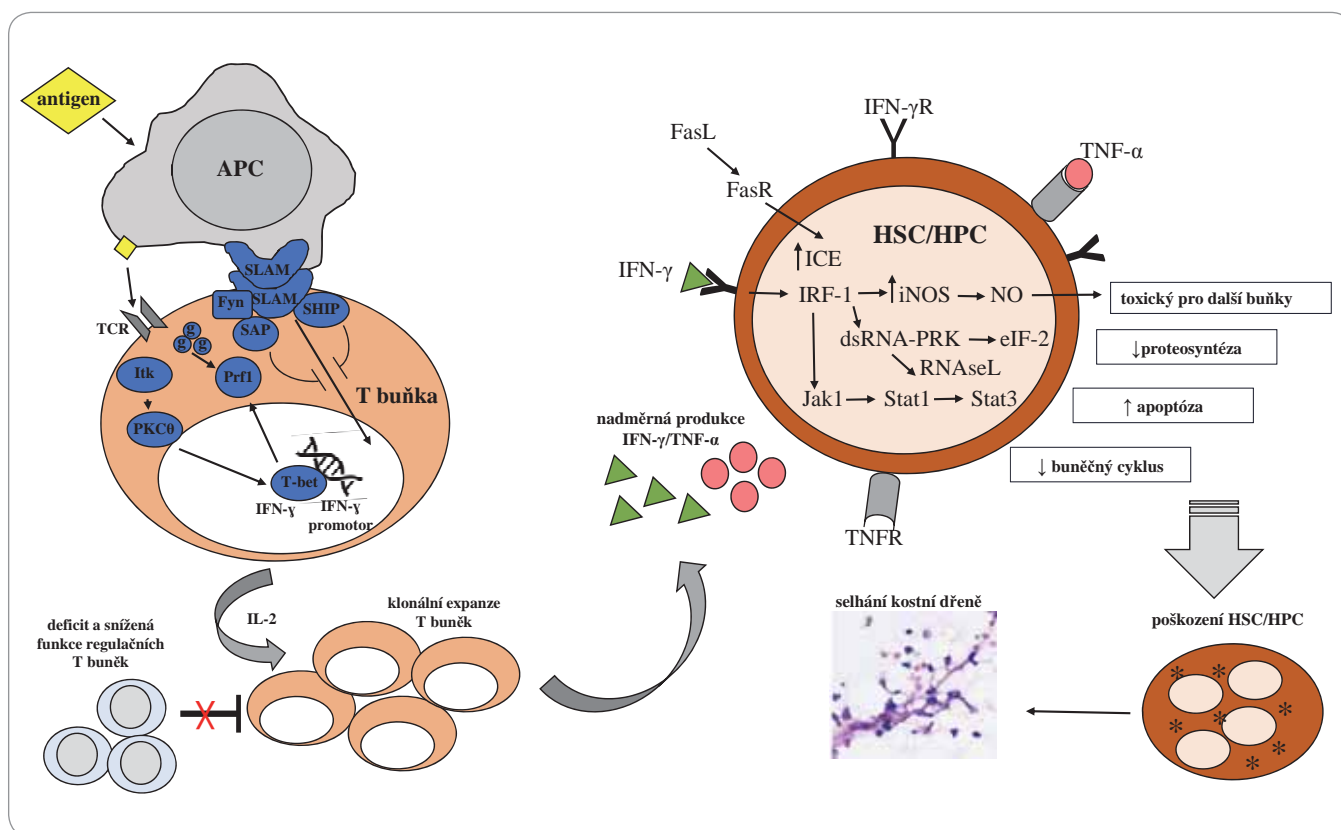
\*Pozitivní Coombsův test, přítomnost antinukleárních nebo antineutrofilních protilátek, pozitivní revmatoidní faktor atd.

del – delece, EB – nadbytek blastů, Epo – erythropoietin, GM – granulocytární makrofágový, IL-6 – interleukin 6, IPSS-R – revidovaný Mezinárodní prognostický skórovací systém, LDH – laktátdehydrogenáza, MDS-h – hypoplastická forma myelodysplastické neoplazie, MLD – multilineární dysplazie, NH-MDS – normo-/hypercelulární myelodysplastické neoplazie, RS – prstenčité sideroblasty, SLD – dysplazie v jedné řadě, U – neklasifikovatelný subtyp, WHO – Světová zdravotnická organizace

T buněk, které uvolňují IL-2, což vede ke klonální expanzi T buněk. Melenhorst et al. analyzovali CD4<sup>+</sup> a CD8<sup>+</sup> T buněčné populace u pacientů s MDS pomocí průtokové cytometrie a PCR a detekovali četné expanze pomocných (Th) i cytotoxických (CTL) T buněk [16]. Podobné nálezy pod-

porující hypotézu o zapojení CTL do autoreaktivní agrese vůči hematopoetickým prekurzorům publikovali také Fozza et al. [17]. Dominantní klony T buněk navíc přetrvávají u pacientů s MDS, kteří nereagují na IST, zatímco u pacientů s léčebnou odpovědí se zmenšují [18].





**Obr. 1. Imunitně zprostředkovaná destrukce hematopoetických buněk.**

Buňka prezentující antigen (APC) prezentuje antigen T lymfocytům, což spouští jejich aktivaci a proliferaci. Transkripční faktor T-bet se váže na promotorovou oblast interferonu  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) a indukuje genovou expresi. Zvýšená sekrece interleukinu-2 (IL-2) stimuluje klonální expanzi T buněk, které produkují nadměrné množství IFN- $\gamma$  a tumor nekrotizujícího faktoru  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ). Regulační T buňky jsou deficitní a mají i sníženou schopnost potlačovat proliferaci autologních T buněk. IFN- $\gamma$  a TNF- $\alpha$  upregulují receptory T buněk (TCR) a receptor Fas (FasR). Aktivace FasR ligandem Fas (FasL) vede k apoptóze cílové hematopoetické kmenové (HSC) nebo progenitorové buňky (HPC). Některé účinky IFN- $\gamma$  jsou zprostředkovány interferonovým regulačním faktorem 1 (IRF-1), který inhibuje transkripci genů a vstup HSC/HPC do buněčného cyklu. IFN- $\gamma$  je také silným induktorem genu indukovatelné syntázy oxidu dusnatého (iNOS), a proto dochází k produkci oxidu dusnatého (NO), který je toxický pro ostatní HSC/HPC. Všechny tyto procesy vedou k poškození HSC/HPC a rozvoji selhání kostní dřeně. Upraveno podle [24].

Expandované T buňky produkují nadměrné množství prozánětlivých cytokinů, které ovlivňují buněčné procesy v HSC/HPC. Cytokiny IFN- $\gamma$  a TNF- $\alpha$  inhibují buněčný cyklus, zvyšují apoptózu a indukují produkci oxidu dusnatého (NO), který je toxický pro ostatní HSC/HPC. U nízkorizikového MDS jsou vysoké hladiny TNF- $\alpha$  produkováné CD4<sup>+</sup> a CD8<sup>+</sup> T lymfocyty asociované s G/A polymorfizmem v promotoru *TNF- $\alpha$*  [19]. Dále bylo také zjištěno, že produkce IFN- $\gamma$  a TNF- $\alpha$  může být zvyšována vysokými hladinami IL-17 [20]. K autoimunitní destrukci HSC/HPC přispívá také nedostatek regulačních T buněk, které mají navíc sníženou schopnost potlačovat proliferaci autologních T buněk [21].

U nízkorizikového MDS i AA je přítomna rozsáhlá apoptóza HSC/HPC v kostní dřeni, což ukazuje, že apoptóza je hlavním mechanismem buněčné destrukce. Abnormálně aktivované T buňky ničí HSC/HPC prostřednictvím apoptotické dráhy Fas/FasL. Nadměrná exprese receptoru Fas (FasR) na CD34<sup>+</sup> progenitorových buňkách kostní dřeně byla zjištěna u pacientů s MDS a AA [22], přičemž pacienti v remisi mají hladiny exprese FasR normální [23]. Exprese FasR může být také zvyšována nadprodukcí cytokinů [12]. Model imunitně zprostředkované destrukce hematopoetických buněk a molekulární mechanismy vedoucí k selhání kostní dřeně jsou znázorněny na obr. 1 [24]. Imunologické charakteristiky MDS-h a NH-MDS jsou shrnuty v tab. 2.

Kromě autoimunitní reakce se na rozvoji MDS-h u starších pacientů může také podílet stárnutí spojené se změnami v imunitním systému jako je např. aktivace chronického zánětu nízkého stupně (tzv. inflammaging), při kterém dochází k trvalé sekreci prozánětlivých cytokinů.

### Genetické pozadí MDS-h

Model patogeneze MDS předpokládá vícestupňový proces, na jehož počátku nejprve dochází ke genetickému poškození hematopoetické kmenové buňky a následně vznikají genetické abnormality vedoucí ke klonální expanzi a maligní transformaci [25]. Technologie sekvenování nové generace významně přispěla k odhalení širokého spektra so-

Tab. 2. Přehled imunologických a genetických charakteristik MDS-h a NH-MDS [3,10,28].

Charakteristiky	MDS-h	NH-MDS
<b>Imunologické</b>		
aktivace T buněk	+	+/-
cytotoxické T buňky (CTL)	Zvýšené a klonální, snižují se po IST a produkují IFN- $\gamma$ .	Zvýšené a oligoklonální, u vysoce rizikových pacientů se CTL produkující IFN- $\gamma$ snižují, což podporuje rozvoj leukemie.
regulační (Treg) a pomocné (Th) T buňky	Treg buňky jsou deficitní a korelují s dyserythropoézou. Zvýšené a polyklonální Th buňky produkují IFN- $\gamma$ .	Zvýšené a spolupracují při potlačování imunitního dozoru a rozvoje leukemie.
klon PNH	Až u 40 % pacientů, koreluje s vyššími hladinami LDH, těžšími cytopeniemi, lepší odpovědí na IST a přežitím.	Až u 20 % pacientů, koreluje s lepším přežitím a odpovědí na HSCT.
hladiny cytokinů	++ Prozánětlivé cytokiny (IFN- $\gamma$ a TNF- $\alpha$ ) a TGF- $\beta$ jsou zvýšené, což vyvolává selhání kostní dřeň. IL-10 je snížený a nedokáže potlačit zánětlivou reakci.	+
odpověď na IST	+	-
<b>Genetické</b>		
mutace (% pacientů)	~ 35 %	> 60 %
nejčastěji mutované geny	<i>TET2, DNMT3A, RUNX1, NPM1, ASXL1, PIGA, STAG2</i>	<i>SF3B1, TET2, ASXL1, RUNX1, DNMT3A, IDH1/2, STAG2, TP53</i>
variantní alelická frekvence	~ 35 %	> 45 %
abnormální karyotyp	15–50 %	30–70 %
časté chromozomální aberace	-5/del(5q), -7/del(7q), +8, 17pLOH, del(20q), UPD v 4q, 11q, 13q, 14q	
typ chromozomálních aberací	většinou nízkorizikové	nízkorizikové až vysoce rizikové
zkracování telomer	+	+ / ++

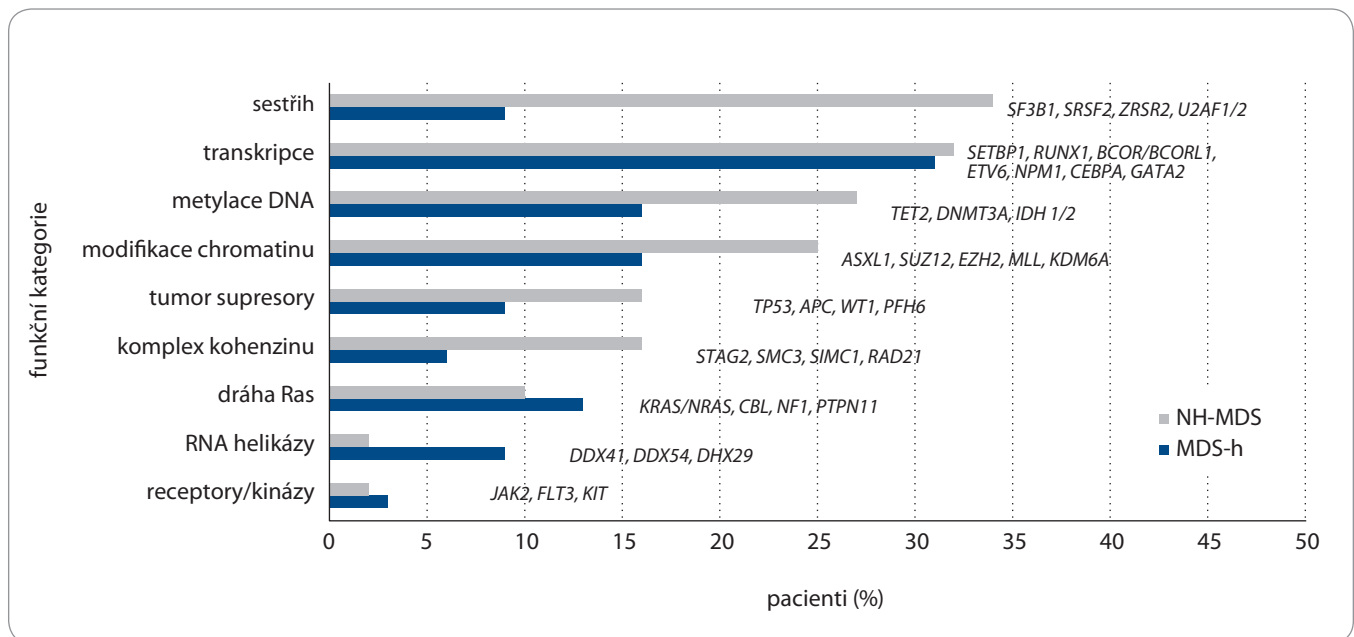
del – delece, HSCT – transplantace hematopoetických kmenových buněk, IFN- $\gamma$  – interferon  $\gamma$ , IL-10 – interleukin 10, IST – imunosupresivní terapie, LDH – laktátdehydrogenáza, LOH – ztráta heterozygotnosti, MDS-h – hypoplastická forma myelodysplastické neoplazie, NH-MDS – normo-/hypercelulární myelodysplastické neoplazie, PNH – paroxysmální noční hemoglobinurie, TGF- $\beta$  – transformující růstový faktor beta, TNF- $\alpha$  – tumor nekrotizující faktor alfa, UPD – uniparentální disomie, (+) – přítomnost nebo dobrá léčebná odpověď, (-) – absence nebo žádná/špatná léčebná odpověď

matických mutací u MDS. Rekurentně je u MDS mutováno více než 50 genů a tyto mutace jsou detekovány až u 80–90 % pacientů [26]. Z funkčního hlediska jde převážně o geny kódující proteiny pro RNA sestřih (*SF3B1, SRSF2, ZRSR2, U2AF1, U2AF2*), metylaci DNA (*TET2, DNMT3A, IDH1/2*), komplex kohezinu (*STAG2, CTCF, SMC1A, RAD21*), modifikaci chromatinu (*ASXL1, EZH2*), regulaci transkripce (*TP53, RUNX1, ETV1, GATA2*), přenos signálu (*FLT3, JAK2, MPL, GNAS, KIT*), sig-

nální dráhu RAS (*KRAS, NRAS, CBL, NF1, PTPN11, FLT3, JAK2*), opravy DNA (*ATM, BRCC3, DLRE1C, FANCL*) [27]. U MDS-h jsou somatické mutace nalézány přibližně u 35 % pacientů a mezi nejčastěji mutované geny patří *PIGA, TET2, DNMT3A, RUNX1, NPM1, ASXL1, STAG2, APC*, zatímco u NH-MDS to jsou geny *SF3B1, TET2, ASXL1, RUNX1, DNMT3A, IDH1/2, STAG2, TP53* [28].

Odlišnostem v mutačních profilech MDS-h a NH-MDS se věnovalo něko-

lik komparativních studií. Bono et al. analyzovali panel 24 genů ve velké kohortě pacientů s MDS-h (n = 93) a jednu nebo více somatických mutací detekovali u 38 % pacientů. Ve srovnání s NH-MDS (n = 239) měli pacienti s MDS-h nižší počet mutací na pacienta, ale tento počet byl významně vyšší ve srovnání s AA. Prevalence sestřihových mutací (*SF3B1* a *SRSF2*) a komutačních vzorů *TET2, DNMT3A* a *ASXL1* byla nižší u MDS-h oproti NH-MDS. Navíc integrace mutač-



**Graf 1. Frekvence nejčastěji mutovaných genů rozdělených do funkčních kategorií u NH-MDS a MDS-h [29].**  
MDS-h – hypoplastická forma myelodysplastické neoplazie, NH-MDS – normo-/hypercelulární myelodysplastické neoplazie

ních dat do skórovacího systému umožnila oddělit pacienty s MDS-h vykazující znaky myeloidní neoplazie a pacienty se znaky odpovídajícími nemalignímu útlumu kostní dřeně [10]. K podobným výsledkům došli autoři i v následujících dvou studiích. Yao et al. detekovali alespoň jednu genovou mutaci (17 genů) u 35 % pacientů s MDS-h a nejčastější mutací byla mutace *SF3B1*. Pacienti s MDS-h vykazovali významně nižší výskyt mutací *RUNX1*, *ASXL1*, *DNMT3A*, *EZH2* a *TP53* a nižší počet mutací na pacienta ve srovnání s pacienty s NH-MDS; počet byl však výrazně vyšší ve srovnání s AA [5]. Nazha et al. analyzovali 62 genů a pacienti s MDS-h nesli menší počet somatických mutací a měli menší klony s driver mutacemi ve srovnání s NH-MDS. Somatické mutace v genech pro sestřihové faktory byly detekovány převážně u pacientů s NH-MDS (34 vs. 9 %;  $p = 0,03$ ). Autoři se domnívají, že imunitní systém pacientů s MDS-h může potlačit řídicí klon, a to inhibicí jeho růstu, a omezit tak získávání dalších somatických mutací. Je zajímavé, že některé klony, jako jsou *SF3B1*, *SRSF2*, *TET2*, *ASXL1* a *BCOR*, zřejmě mohou tento inhibiční účinek překonat [29]. V souvislosti s aberantní imunitní odpovědí byly popsány získané mutace v genu

*STAT3*, které jsou nalézány hlavně u AA a MDS s hypoplastickými znaky, a zřejmě mohou vést k autoreaktivaci CTL. U MDS mutace *STAT3* korelují se sníženou celularitou a vyšším výskytem abnormalit chromozomu 7 [30].

Souhrnem lze říct, že mutační profil MDS-h se liší od profilu NH-MDS nižším výskytem mutací v genech pro sestřihové faktory, DNA metylační enzymy a komplex kohezinu (graf 1). Pacienti s MDS-h nesou menší počet somatických mutací na pacienta a mají nižší mutační zátěž (tab. 2).

Abnormální karyotyp je nalézán u 15–50 % pacientů s MDS-h a mezi nejčastější chromozomální aberace patří  $-5/\text{del}(5q)$ ,  $-7/\text{del}(7q)$ ,  $+8$ ,  $17p\text{LOH}$ ,  $\text{del}(20q)$ ,  $\text{UPD v } 4q, 11q, 13q, 14q$  [10,31]. Spektrum chromozomálních aberací se významně neliší mezi MDS-h a NH-MDS (tab. 2). Pouze někteří autoři udávají nižší prevalenci  $-7/\text{del}(7q)$  u MDS-h ve srovnání s NH-MDS [32]. Jiní autoři poukazují na asociaci  $-7/\text{del}(7q)$  s MDS vyvinutým z AA [33]. Jak již bylo uvedeno výše, důležitou roli v patofyziologii selhání kostní dřeně (bone marrow failure – BMF) zřejmě hraje i trizomie 8, která je asociována s vyšší imunogenitou a vysokou expresí genu *WT1* [12]. Výraznější rozdíl v cytogenetických abnor-

malitách je mezi MDS-h a AA. U pacientů s AA se cytogenetické abnormality vyskytují méně často (4–11 %) a nejběžnější jsou  $6p\text{UPD}$ ,  $-7/\text{del}(7q)$ ,  $+6$ ,  $+8$ ,  $+15$ ,  $\text{del}(13q)$  [8]. Velmi častá (až u 13 % pacientů) je  $6p\text{UPD}$ , která vede ke ztrátě specifických alel HLA A/B, což zřejmě umožňuje buňkám uniknout destrukci zprostředkované T lymfocyty [34]. Osumi et al. navrhli, že *HLA-B\*40:02* je jedním z cílových antigenů T buněk u idiopatické AA a nonsense mutace v této alele přispívá ke klonálnímu úniku [35].

Přibližně u 20 % pacientů s nízkorizikovým MDS jsou nalézány PNH klony, které jsou charakteristické pro AA (30–60 %) a PNH (> 50 %) [24,31]. Ve srovnání s NH-MDS vykazuje MDS-h vyšší prevalenci PNH klonů (24 vs. 2 %;  $p < 0,001$ ) [10]. PNH klony nesou somatickou mutaci v genu *PIGA*, která vede ke ztrátě tzv. glykosylfosfatidylinositolové (GPI) kotvy na cirkulujících krevních buňkách. Dosud z neznámých důvodů PNH klony unikají imunitní destrukci zprostředkované T buňkami u BMF syndromů. Předpokládá se, že cílem autoreaktivních T buněk nebo jejich koregulátory mohou být právě GPI-vázané proteiny. Příčinou imunoselektce *PIGA*-mutantních buněk může být nedostatek stresem indukovatelných

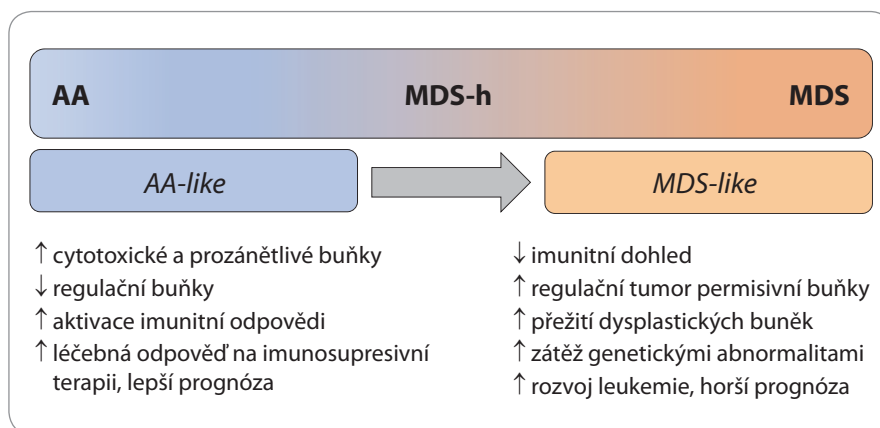
membránových proteinů (ULBP1/2) asociovaných s GPI, které aktivují NK (natural killers – přirození zabijáci) buňky [36]. Klony *PIGA* mohou také získat další somatické mutace (např. *TET2*, *SUZ12*, *U2AF1*, *JAK2*), které jim poskytnou proliferaci výhodu [37].

Defektní homeostáza telomer je dalším genetickým faktorem, který zřejmě může přispívat k rozvoji BMF. Bouillon et al. zjistili významně zkrácenou délku telomer u MDS-h i AA, přičemž pacienti s AA vykazovali rychlejší zkracování telomer ve srovnání s MDS-h [38]. Mutace v genech telomerázového komplexu (*TERC* a *TERT*) byly detekovány u MDS i AA [39,40], nicméně, mutace jsou považovány spíše za rizikové faktory BMF než za genetické determinanty. Také byla popsána asociace germinálních heterozygotních variant genu *RTEL1* s erozí telomer u MDS-h a AA [41].

Zajímavou skupinu genů představují nekódující RNA (ncRNA), jejichž role v BMF není zatím známá. Prvotní studie u AA ukazují, že i tyto regulátory genové exprese se mohou podílet na aberantní aktivaci T buněk. Hosokoawa et al. detekovali sníženou expresi *miR-126-3p* a *miR-223-3p* v CD4<sup>+</sup> T buňkách a *miR-126-3p*, *miR-145-5p* a *miR-223-3p* v CD8<sup>+</sup> T buňkách u získané AA. Velmi zajímavým zjištěním je, že hladiny exprese *miR-126-3p*, *miR-145-5p* a *miR-223-3p* se po úspěšné IST upravily na normální hodnoty [42]. Objasnění role ncRNA v autoimunitních poruchách může vést k novým terapeutickým přístupům založeným na technologii RNA interference nebo látkách inhibujících miRNA.

### Léčba

Prognosticky většina případů MDS-h spadá do kategorie s nízkým rizikem a léčba je přizpůsobena podle stupně podobnosti s AA nebo MDS. Pokud MDS-h nevykazuje znaky myeloidní neoplazie, aplikuje se IST založená na podávání anti-T-lymfocytárního globulinu a cyklosporinu A, které potlačují aktivitu aberantních T buněk a podporují tak obnovu kostní dřeně. Přibližně 50 % pacientů s nízkorizikovým MDS vykazuje dobrou odpověď na IST, která je asociovaná s hypocelularitou a vyšší mírou nezávislosti na transfuzích [43]. Ve studii



**Obr. 2. Dva fenotypy hypoplastické formy myelodysplastické neoplazie (MDS-h) [3].** Klinické, imunologické a molekulární znaky definují dva fenotypy MDS-h: 1) fenotyp AA-like u něhož převažuje aktivace zánětlivé a imunitní odpovědi (zvýšené cytotoxické T buňky a pomocné T buňky typu 1, mastocyty a prozánětlivé monocyty; snížené regulační T a B buňky, mezenchymální kmenové buňky typu 1, vyšší prevalence autoprotilátek a klonů paroxysmální noční hemoglobinurie); 2) fenotyp MDS-like u něhož dominují genetické abnormality, klonální selekce a riziko rozvoje leukemie. Přechod od jednoho fenotypu k druhému se vyznačuje progresivním úbytkem prozánětlivých/proapoptotických imunitních efektorů a nárůstem regulačních tumor permissivních buněk, jakož i posunem mezenchymálních kmenových buněk od typu 1 (prozánětlivé) k typu 2 (podporující rozvoj nádoru), které umožňují selekci klonů a únik nádorových buněk z imunitního dohledu. AA – aplastická anemie

zaměřené pouze na pacienty s MDS-h léčené IST byla dokonce míra celkové odpovědi 73 % [44]. Je však stále nejasné, do jaké míry může IST indukovat klonální proliferaci. I přesto je dlouhodobé podávání IST považováno za bezpečné [45]. Podpurná péče u MDS s nízkým rizikem zahrnuje transfuze erytrocytů a trombocytů, redukci přetížení železem, profylaktické podávání antibiotik a antimykotik a podávání látek stimulujících tvorbu červených krvinek [46]. Hypometylační činidla, jako je azacitidin nebo decitabin, se používají pro léčbu vysoce rizikových pacientů, ale mohou být racionální volbou také pro pacienty s MDS-h s vysoce rizikovou cytogenetikou a nepříznivými somatickými mutacemi. Alogenní transplantace hematopoetických kmenových buněk (hematopoietic stem cell transplantation – HSCT) představuje jedinou kurativní metodu léčby MDS, avšak mnoho pacientů (80 %) není pro HSCT způsobilých kvůli přidruženým komorbiditám spojeným obvykle s vyšším věkem [46]. Vyšší věk, pokročilé stadium onemocnění, těžká fibróza v dření, nepříznivý karyotyp a určité somatické mutace (*ASXL1*, *RUNX1* a *TP53*) zvyšují riziko relapsu MDS [47]. Zhou et al. hod-

notili přežití u pacientů s MDS-h po alogenní HSCT, kdy míra celkového přežití byla 72,7 % a během 3leté doby sledování u žádného pacienta nedošlo k relapsu [48].

### Závěr

Hypoplastická forma MDS představuje minoritní formu MDS, která se odlišuje od ostatních případů MDS především hypocelulární kostní dření a vykazuje i řadu jiných specifických znaků hlavně imunologických. Teprve až v loňském roce byla MDS-h uznána jako samostatná klinická entita v revidovaném klasifikačním systému WHO 2022. Velmi obtížná je hlavně diferenciální diagnóza MDS-h a AA kvůli překryvu mnoha klinických a laboratorních nálezů, jejichž hodnocení může být navíc ztíženo těžkou hypoplazií u některých případů.

Klinické a experimentální studie ukazují, že MDS-h netvoří fenotypově homogenní podskupinu MDS, ale spíše jde o smíšenou entitu zahrnující jak pacienty s rysy myeloidní neoplazie (fenotyp MDS-like) tak pacienty se znaky dřevého útlumu (fenotyp AA-like). Pro první fenotyp jsou charakteristické genetické abnormality, klonální selekce

a zvýšené riziko leukemogeneze, zatímco druhý fenotyp vykazuje zvýšenou zánětlivou a imunitní odpověď a dobrou léčebnou odpověď na IST (obr. 2) [3]. Právě stanovení převažujícího fenotypu u MDS-h je důležité pro zvolení efektivní léčby a určení prognózy.

Nedílnou součástí diagnostických postupů jsou molekulární vyšetření, jejichž stále zvyšující se citlivost zpřesňuje diagnostiku a prognózu, ale přináší i problematické aspekty jako je např. interpretace variant neznámého klinického významu a klonální hematopoéza neurčitěho potenciálu. Recentně došlo k zařazení molekulárních dat do prognostického systému pro MDS označovaného jako Molekulární mezinárodní prognostický skórovací systém (Molecular International Prognostic Scoring System – IPSS-M), který již zohledňuje somatické mutace v 31 relevantních genech [49]. Tato revize prognostického modelu je dalším významným krokem v oblasti personalizované zdravotní péče o pacienty s MDS.

## Poděkování

Práce vznikla za podpory grantů AZV ČR č. NU21 03 00565 a MZ ČR–RVO (UHKT, 00023736).

## Literatura

- Sekeres MA. The epidemiology of myelodysplastic syndromes. *Hematol Oncol Clin North Am* 2010; 24(2): 287–294. doi: 10.1016/j.hoc.2010.02.011.
- Khouri JD, Solary E, Ablu O et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of haematolymphoid tumours: myeloid and histiocytic/dendritic neoplasms. *Leukemia* 2022; 36(7): 1703–1719. doi: 10.1038/s41375-022-01613-1.
- Fattizzo B, Serpenti F, Barcellini W et al. Hypoplastic myelodysplastic syndromes: just an overlap syndrome? *Cancers (Basel)* 2021; 13(1): 132. doi: 10.3390/cancers13010132.
- Yue G, Hao S, Fadare O et al. Hypocellularity in myelodysplastic syndrome is an independent factor which predicts a favorable outcome. *Leuk Res* 2008; 32(4): 553–558. doi: 10.1016/j.leukres.2007.08.006.
- Yao CY, Hou HA, Lin TY et al. Distinct mutation profile and prognostic relevance in patients with hypoplastic myelodysplastic syndromes (h-MDS). *Oncotarget* 2016; 7(39): 63177–63188. doi: 10.18632/oncotarget.11050.
- Hofmann I. Pediatric myelodysplastic syndromes. *J Hematopathol* 2015; 8: 127–141.
- Čermák J. Aplastic anemia. *Vnitř Lek* 2018; 64(5): 501–507.
- Ogawa S. Clonal hematopoiesis in acquired aplastic anemia. *Blood* 2016; 128(3): 337–347. doi: 10.1182/blood-2016-01-636381.
- Bennett JM, Orazi A. Diagnostic criteria to distinguish hypocellular acute myeloid leukemia from hypocellular myelodysplastic syndromes and aplastic anemia: recommendations for a standardized approach. *Haematologica* 2009; 94(2): 264–268. doi: 10.3324/haematol.13755.
- Bono E, McLornan D, Travaglio E et al. Clinical, histopathological and molecular characterization of hypoplastic myelodysplastic syndrome. *Leukemia* 2019; 33(10): 2495–2505. doi: 10.1038/s41375-019-0457-1.
- Marisavljevic D, Cemerik V, Rolovic Z et al. Hypocellular myelodysplastic syndromes: clinical and biological significance. *Med Oncol* 2005; 22(2): 169–175. doi: 10.1385/MO:22:2:169.
- Sloand EM, Barrett AJ. Immunosuppression for myelodysplastic syndrome: how bench to bedside to bench research led to success. *Hematol Oncol Clin North Am* 2010; 24(2): 331–341. doi: 10.1016/j.hoc.2010.02.009.
- Sloand EM, Mainwaring L, Fuhrer M et al. Preferential suppression of trisomy 8 compared with normal hematopoietic cell growth by autologous lymphocytes in patients with trisomy 8 myelodysplastic syndrome. *Blood* 2005; 106(3): 841–851. doi: 10.1182/blood-2004-05-2017.
- Sauntharajah Y, Nakamura R, Nam JM et al. HLA-DR15 (DR2) is overrepresented in myelodysplastic syndrome and aplastic anemia and predicts a response to immunosuppression in myelodysplastic syndrome. *Blood* 2002; 100(5): 1570–1574.
- Wang H, Chuho T, Yasue S et al. Clinical significance of a minor population of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria-type cells in bone marrow failure syndrome. *Blood* 2002; 100(12): 3897–3902. doi: 10.1182/blood-2002-03-0799.
- Melenhorst JJ, Eniafe R, Follmann D et al. Molecular and flow cytometric characterization of the CD4 and CD8 T-cell repertoire in patients with myelodysplastic syndrome. *Br J Haematol* 2002; 119(1): 97–105. doi: 10.1046/j.1365-2141.2002.03802.x.
- Fozza C, Contini S, Galleu A et al. Patients with myelodysplastic syndromes display several T-cell expansions, which are mostly polyclonal in the CD4(+) subset and oligoclonal in the CD8(+) subset. *Exp Hematol* 2009; 37(8): 947–955. doi: 10.1016/j.exphem.2009.04.009.
- Kochenderfer JN, Kobayashi S, Wieder ED et al. Loss of T-lymphocyte clonal dominance in patients with myelodysplastic syndrome responsive to immunosuppression. *Blood* 2002; 100(10): 3639–3645. doi: 10.1182/blood-2002-01-0155.
- Serio B, Sella C, Maciejewski JP. Impact of immunogenetic polymorphisms in bone marrow failure syndromes. *Mini Rev Med Chem* 2011; 11(6): 544–552. doi: 10.2174/138955711795843356.
- Zhang Z, Li X, Guo J et al. Interleukin-17 enhances the production of interferon- $\gamma$  and tumour necrosis factor- $\alpha$  by bone marrow T lymphocytes from patients with lower risk myelodysplastic syndromes. *Eur J Haematol* 2013; 90(5): 375–384. doi: 10.1111/ejh.12074.
- Bouchliou I, Miltiadou P, Nakou E et al. Th17 and Foxp3(+) T regulatory cell dynamics and distribution in myelodysplastic syndromes. *Clin Immunol* 2011; 139(3): 350–359. doi: 10.1016/j.clim.2011.03.001.
- Bouscary D, De Vos J, Guesnu M et al. Fas/Apo-1 (CD95) expression and apoptosis in patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia* 1997; 11(6): 839–845. doi: 10.1016/j.leukres.2007.08.006.
- Callera F, Garcia AB, Falcão RP. Fas-mediated apoptosis with normal expression of bcl-2 and p53 in lymphocytes from aplastic anaemia. *Br J Haematol* 1998; 100(4): 698–703. doi: 10.1046/j.1365-2141.1998.00625.x.
- Young NS, Calado RT, Scheinberg P. Current concepts in the pathophysiology and treatment of aplastic anemia. *Blood* 2006; 108(8): 2509–2519. doi: 10.1182/blood-2006-03-010777.
- Čermák J. Myelodysplastický syndrom, MKN klasifikace a Národní onkologický registr ČR. *Klin Onkol* 2007; 20 (Suppl 1): 152–155.
- Hosono N. Genetic abnormalities and pathophysiology of MDS. *Int J Clin Oncol* 2019; 24(8): 885–892. doi: 10.1007/s10147-019-01462-6.
- Ganguly BB, Kadam NN. Mutations of myelodysplastic syndromes (MDS): an update. *Mutat Res Rev Mutat Res* 2016; 769: 47–62. doi: 10.1016/j.mrrrev.2016.04.009.
- Votavova H, Belickova M. Hypoplastic myelodysplastic syndrome and acquired aplastic anemia: immune-mediated bone marrow failure syndromes (review). *Int J Oncol* 2022; 60(1): 7. doi: 10.3892/ijo.2021.5297.
- Nazha A, Seastone D, Radivoyevitch T et al. Genomic patterns associated with hypoplastic compared to hyperplastic myelodysplastic syndromes. *Haematologica* 2015; 100(11): e434–437. doi: 10.3324/haematol.2015.130112.
- Jerez A, Clemente MJ, Makishima H et al. STAT3 mutations indicate the presence of subclinical T-cell clones in a subset of aplastic anemia and myelodysplastic syndrome patients. *Blood* 2013; 122(14): 2453–2459. doi: 10.1182/blood-2013-04-494930.
- Durrani J, Maciejewski JP. Idiopathic aplastic anemia vs hypocellular myelodysplastic syndrome. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2019; 2019(1): 97–104. doi: 10.1182/hematology.2019000019.
- Huang TC, Ko BS, Tang JL et al. Comparison of hypoplastic myelodysplastic syndrome (MDS) with normo-/hypercellular MDS by International Prognostic Scoring System, cytogenetic and genetic studies. *Leukemia* 2008; 22(3): 544–550. doi: 10.1038/sj.leu.2405076.
- Negoro E, Nagata Y, Clemente MJ et al. Origins of myelodysplastic syndromes after aplastic anemia. *Blood* 2017; 130(17): 1953–1957. doi: 10.1182/blood-2017-02-767731.
- Katagiri T, Sato-Otsubo A, Kashiwase K et al. Frequent loss of HLA alleles associated with copy number-neutral 6pLOH in acquired aplastic anemia. *Blood* 2011; 118(25): 6601–6609. doi: 10.1182/blood-2011-07-365189.
- Osumi T, Miharu M, Saji H et al. Nonsense mutation in HLA-B\*40:02 in a case with acquired aplastic anemia: a possible origin of clonal escape from autoimmune insult. *Br J Haematol* 2013; 162(5): 706–707. doi: 10.1111/bjh.12395.
- Hanaoka N, Kawaguchi T, Horikawa K et al. Immunoselection by natural killer cells of PIGA mutant cells missing stress-inducible ULBP. *Blood* 2006; 107(3): 1184–1191. doi: 10.1182/blood-2005-03-1337.
- Shen W, Clemente MJ, Hosono N et al. Deep sequencing reveals stepwise mutation acquisition in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *J Clin Invest* 2014; 124(10): 4529–4538. doi: 10.1172/JCI74747.
- Bouillon AS, Ferreira MS, Werner B et al. Comprehensive analysis of telomere biology in patients with aplastic anemia and hypoplastic myelodysplastic syndrome: further evidence for a common mechanism. *Blood* 2015; 126(23): 2858. doi: 10.1182/blood.V126.23.2858.2858.
- Yamaguchi H, Calado RT, Ly H et al. Mutations in TERT, the gene for telomerase reverse transcriptase, in aplastic anemia. *N Engl J Med* 2005; 352(14): 1413–1424. doi: 10.1056/NEJMoa042980.
- Ueda Y, Calado RT, Norberg A et al. A mutation in the H/ACA box of telomerase RNA component gene (TERC) in a young patient with myelodysplastic syndrome. *BMC Med Genet* 2014; 15: 68. doi: 10.1186/1471-2350-15-68.
- Marsh JCW, Gutierrez-Rodriguez F, Cooper J et al. Heterozygous RTEL1 variants in bone marrow failure and myeloid neoplasms. *Blood Adv* 2018; 2(1): 36–48. doi: 10.1182/bloodadvances.2017008110.
- Hosokawa K, Muranski P, Feng X et al. Identification of novel microRNA signatures linked to acquired aplastic anemia. *Haematologica* 2015; 100(12): 1534–1545. doi: 10.3324/haematol.2015.126128.
- Stahl M, DeVeaux M, de Witte T et al. The use of immunosuppressive therapy in MDS: clinical outcomes and their predictors in a large international patient cohort.

Blood Adv 2018; 2(14): 1765–1772. doi: 10.1182/bloodadvances.2018019414.

44. Selleri C, Maciejewski JP, Catalano L et al. Effects of cyclosporine on hematopoietic and immune functions in patients with hypoplastic myelodysplasia: in vitro and in vivo studies. *Cancer* 2002; 95(9): 1911–1922. doi: 10.1002/cncr.10915.

45. Parikh AR, Olnes MJ, Barrett AJ. Immunomodulatory treatment of myelodysplastic syndromes: antithymocyte

globulin, cyclosporine, and alemtuzumab. *Semin Hematol* 2012; 49(4): 304–311. doi: 10.1053/j.seminhematol.2012.07.004.

46. Jonášová A. Pokroky v terapii myelodysplastického syndromu. *Klin Onkol* 2021; 34(5): 356–365. doi: 10.48095/ccko2021356.

47. Bělohávková P. Treatment strategies for myelodysplastic syndrome in 2021. *Vnitr Lek* 2021; 67(3): 150–155.

48. Zhou M, Wu L, Zhang Y et al. Outcome of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for hypoplastic myelodysplastic syndrome. *Int J Hematol* 2020; 112(6): 825–834. doi: 10.1007/s12185-020-02969-9.

49. Bernard E, Tuechler H, Greenberg PL et al. Molecular International Prognostic Scoring System for Myelodysplastic Syndromes. *NEJM Evid* 2022; 1(7). doi: 10.1056/EVIDoa2200008.

# Molekulární testování karcinomu endometria – analýza prvních zkušeností z klinické praxe

## Molecular testing of endometrial carcinoma in real-world clinical practice

Bednaříková M.<sup>1,2</sup>, Hausnerová J.<sup>3</sup>, Minář L.<sup>2</sup>, Taslerová R.<sup>3</sup>, Vinklerová P.<sup>2</sup>, Ehrlichová L.<sup>1</sup>, Trizuljak J.<sup>1,4</sup>, Blaháková I.<sup>4</sup>, Princ D.<sup>5</sup>, Matulová K.<sup>3</sup>, Ovesná P.<sup>6</sup>, Slabý O.<sup>3,4,7</sup>, Weinberger V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

<sup>2</sup> Gynekologická a porodnická klinika LF MU a FN Brno

<sup>3</sup> Ústav patologie, LF MU a FN Brno

<sup>4</sup> CEITEC – Středoevropský technologický institut, MU Brno

<sup>5</sup> Masarykův onkologický ústav, Brno

<sup>6</sup> Institut biostatistiky a analýz, MU Brno

<sup>7</sup> Ústav biologie, MU Brno

### Souhrn

**Východiska:** Molekulární klasifikace přináší zásadní změny do diagnosticko-léčebného algoritmu u pacientek s karcinomem endometria (endometrial cancer – EC). Cílem sdělení je analýza prvních zkušeností se zavedením molekulárního testování do reálné klinické praxe. **Materiál a metody:** Od května 2021 je ve FN Brno u všech pacientek s nově diagnostikovaným EC v rámci standardního histopatologického vyšetření stanovován také imunohistochemický status proteinů p53 a mismatch repair (MMR). U tumorů nesplňujících klinická kritéria pro nízké riziko a vždy při průkazu deficiencie MMR nebo mutace p53 je prováděno také molekulárně genetické testování genu *POLE*. U každé pacientky je vyhodnoceno riziko recidivy podle nejnovějších guidelines z roku 2020 a na jeho základě doporučen další postup. Všem pacientkám s MMR-deficientními tumory a/nebo pozitivní rodinnou anamnézou je doporučena také genetická konzultace. **Výsledky:** Do analýzy bylo od května 2021 do května 2022 zařazeno celkem 85 pacientek s mediánem věku 66 let. MMR-deficientní tumory mělo 22 pacientek (26 %) a p53-mutované tumory 8 pacientek (9 %). U žádné ze 40 pacientek v nízkém riziku s provedenou analýzou mutačního stavu genu *POLE* nebyl prokázán ultramutovaný typ tumoru. Celkem 46 (51 %) pacientek mělo v době diagnózy nízké riziko, 2 pacientky (2 %) střední, 14 pacientek (16 %) vyšší střední a 20 pacientek (24 %) vysoké riziko recidivy. Celkem 6 pacientek (7 %) bylo diagnostikováno s pokročilým nebo metastatickým onemocněním. Medián doby od operace po projednání na multidisciplinární komisi byl 21 dní (8–36). Celkem 76 pacientek (90 %) absolvovalo léčbu v plném rozsahu v souladu s rizikem recidivy. Z 18 pacientek s dostupnými výsledky genetického vyšetření byla u 4 (22 %) prokázána hereditární forma onemocnění. **Závěr:** Racionálně indikované molekulární testování kombinující imunohistochemické analýzy proteinů MMR i p53 u všech pacientek s EC a sekvenční analýzu genu *POLE* u pacientek v nízkém riziku recidivy je v běžné praxi proveditelné a neprodlužuje dobu nutnou pro rozhodnutí o adjuvantní léčbě.

### Klíčová slova

karcinom endometria – molekulární testování – p53 – mismatch repair systém – POLE

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare that they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

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

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



**MUDr. Markéta Bednaříková**  
Interní hematologická  
a onkologická klinika  
LF MU a FN Brno  
Jihlavská 20  
625 00 Brno  
e-mail:  
bednarikova.marketa@fnbrno.cz

Obdrženo/Submitted: 29. 1. 2023

Přijato/Accepted: 7. 2. 2023

doi: 10.48095/ccko2023215

## Summary

**Background:** Molecular classification has brought significant changes in the management of endometrial cancer (EC). In this article, we aim to analyze our first experience with an implementation of molecular testing into daily clinical practice. **Materials and methods:** In all newly diagnosed EC, the status of mismatch repair (MMR) and *p53* proteins has been evaluated immunohistochemically as a part of the routine histopathological examination since May 2021. In tumors that do not meet clinical criteria for a low risk and those with MMR deficiency or *p53* mutation, the molecular genetic testing of the *POLE* gene is performed as well. Recommendations for adjuvant treatment or follow-up are subsequently made based on the risk of recurrence. Genetic counselling is proposed to all patients with MMR-deficient tumors or family history of cancer. **Results:** A total of 85 patients with newly diagnosed EC between May 2021 and May 2022 were enrolled in the analysis. The median age was 66 years. The results of molecular testing were as follows: 22 (26%) MMR-deficient, 8 (9%) *p53*-mutated and none *POLE*-ultramutated of those 40 tumors with performed *POLE* sequencing. A total of 46 (51%) patient had a low risk, 2 (2%) intermediate, 14 (16%) high-intermediate and 20 (24%) patients had a high risk of recurrence. Advanced or metastatic diseases were diagnosed in 6 (7%) patients. The median time between surgery and multidisciplinary tumor board decision was 21 days (8–36). A total of 76 (90%) patients underwent the whole treatment plan according to the recurrence risk. At the time of analysis, the results of genetic testing were available in 18 patients and revealed 4 (22%) carriers of a pathogenic variant in any of the genes associated with Lynch syndrome. **Conclusion:** Molecular testing combining immunohistochemical analyses of MMR and *p53* proteins in all newly diagnosed EC patients with sequencing analysis of *POLE* in those with non-low-risk disease is feasible and does not prolong the time needed for treatment decision.

## Key words

endometrial cancer – molecular testing – *p53* – mismatch-repair system – *POLE*

## Úvod

Adenokarcinomy endometria (EC) představují výrazně heterogenní skupinu nádorů s často velmi odlišným biologickým chováním (tab. 1). Zásadní léčebnou modalitou je chirurgický výkon mající význam nejen kurativní, ale také stagingový. Zatímco u pacientek s nízkým rizikem recidivy je samotná operace považována za dostačující výkon, u pacientek nesplňujících kritéria pro nízké riziko je následně indikována adjuvantní léčba ať již ve formě radioterapie, chemoterapie, nebo kombinace obou metod, a to v návaznosti na míru

rizika recidivy onemocnění [1]. Mezi základní prognostické parametry definující riziko rekurence patřily až do zavedení nové molekulární klasifikace stadium onemocnění v době diagnózy (tab. 2), histologický typ a přítomnost, nebo absence nádorové lymfangioinvasze (lymphovascular space invasion – LVSI) (tab. 3) [2].

Molekulární klasifikace EC byla navržena v roce 2013 na základě výsledků

komplexních genomických, transkriptomických a proteomických analýz a rozděluje karcinom endometria do čtyř skupin: 1) ultramutované tumory s patogenní variantou genu *POLE*; 2) hypermutované mikrosatelitově instabilní tumory; 3) copy-number high tumory většinou s přítomnou patogenní variantou genu *TP53*; 4) ostatní tumory, tzv. copy-number low. Kromě molekulárně biologických charakteristik se jed-

**Tab. 1. Histologické typy adenokarcinomu endometria, zjednodušené dělení podle [15].**

Histologický typ	Četnost (%)
Endometroidní adenokarcinom	80
Serózní karcinom	< 10
Clear cell karcinom	< 10
Nediferencovaný/dediferencovaný karcinom	2
Ostatní (vzácné): smíšený karcinom, mezonefrický adenokarcinom, skvamózní karcinom, mucinózní karcinom (intestinální typ), mesonephric-like adenokarcinom, karcinosarkom	

**Tab. 2. TNM a FIGO klasifikace karcinomu endometria [16].**

TNM	FIGO	Charakteristika
T1	I	nádor omezen na tělo dělohy
T1a	IA	nádor omezen na endometrium nebo postihuje méně než polovinu myometria
T1b	IB	nádor postihuje polovinu či více myometria
T2	II	nádor postihuje cervikální stroma, nešíří se však mimo dělohu
T3a, N1	III	lokální a/nebo regionální šíření specifikované níže:
T3a	IIIA	nádor postihuje serózu těla děložního nebo adnexa
T3b	IIIB	poškození pochvy nebo parametří
N1	IIIC	metastázy do pánevních nebo paraaortálních mizních uzlin
	IIIC1	metastázy do pánevních mizních uzlin
	IIIC2	metastázy do paraaortálních mizních uzlin
T4	IVA	nádor postihuje sliznici močového měchýře / sliznici střeva
M1	IVB	vzdálené metastázy

FIGO – International Federation of Gynecology and Obstetrics, TNM – primární tumor, regionální lymfatické uzliny



Tab. 3. Charakteristiky prognostických skupin pacientek s karcinomem endometria podle doporučení z roku 2016 a 2020 [2,8].

Riziko	DOP_2016	DOP_2020		
		Molekulární klasifikace neznámá	Molekulární klasifikace známá	
nízké	stadium IA endometroidní grade 1–2 LVSI negativní	stadium IA endometroidní low grade LVSI negat./fokálně	stadium I–II <b>POLEmut</b> bez reziduálního onemocnění	
			stadium IA <b>MMRd/NSMP</b> endometroidní low grade LVSI negat./fokálně	
střední	stadium IB endometroidní grade 1–2 LVSI negativní	stadium IB endometroidní low grade LVSI negat./fokálně	stadium IB <b>MMRd/NSMP</b> endometroidní low grade LVSI negat./fokálně	
			stadium IA endometroidní high grade LVSI negat./fokálně	
			stadium IA non-endometroidní bez invaze do myometria	
vyšší střední	stadium IA endometroidní grade 3 LVSI +/-	stadium I endometroidní LVSI-pozitivní	Stadium I <b>MMRd/NSMP</b> endometroidní LVSI pozitivní	
			stadium IB endometroidní grade 1–2 LVSI pozitivní	
	stadium IB endometroidní high grade	stadium IB <b>MMRd/NSMP</b> endometroidní high grade		
vysoké	stadium IA/B endometroidní grade 1–2 LVSI pozitivní	stadium II	stadium II <b>MMRd/NSMP</b> endometroidní	
			stadium III–IVA operace s R0	stadium III–IVA <b>MMRd/NSMP</b> operace s R0
			non-endometroidní	stadium I – IVA <b>p53abn</b> s invazí do myometria operace s R0
			stadium II	stadium I – IVA <b>MMRd/NSMP</b> serózní, nediferencovaný karcinom nebo karcinosarkom s invazí do myometria; operace s R0
pokročilý	stadium III s reziduem	stadium III–IVA reziduální onemocnění	stadium III–IVA reziduální onemocnění jakýkoliv typ	
	stadium IVA			
metastatický	stadium IVB	stadium IVB	stadium IVB jakýkoliv typ	

DOP\_2016 – doporučení pro diagnostiku a léčbu karcinomu endometria z roku 2016, DOP\_2020 – doporučení pro diagnostiku a léčbu karcinomu endometria z roku 2020, LVSI – nádorová lymfangioinvaze, MMRd – mismatch repair-deficientní, NSMP – nespecifický molekulární profil, POLEmut – ultramutované tumory s mutací genu *POLE*, p53abn – p53-mutovaný, R0 – operace s nulovým reziduem

notlivé skupiny významně odlišují také svou biologickou povahou. Zatímco ultramutované nádory s patogenní variantou genu *POLE* mají vynikající prognózu, nádory patřící do skupiny copy-number high mají naopak prognózu nejhorší a skupiny hypermutovaných mikrosatelitně instabilních i copy-number low tumorů vykazují intermediární prognózu [3]. Vzhledem k finanční nákladnosti komplexního genomového profilování, relativně dlouhé době odezvy a stále ještě limitované dostupnosti v běžné klinické praxi byla následně navržena a na nezávislých souborech pacientek validována alternativní metodika molekulárního testování založená na molekulárně genetické sekvenční analýze genu *POLE* a imunohistochemickém stanovení exprese proteinů MMR (mismatch repair systému, tj. MLH1, MSH2, MSH6 a PMS2) a p53 [4–7].

Na základě robustních dat dokladujících prognostický význam molekulární klasifikace bylo v roce 2020 její stanovování inkorporováno do aktualizace evropských doporučení pro management pacientek s EC (DOP\_2020). Tato doporučení definují kritéria pro zařazení pacientek do jednotlivých skupin podle míry rizika recidivy onemocnění jak v situaci, kdy molekulární klasifikace známa není, tak v situaci, kdy jsou výsledky molekulárního testování k dispozici (tab. 3) [8]. Oproti předchozím doporučením z roku 2016 (DOP\_2016) přinesla DOP\_2020 některé zásadní změny. Vedle modifikace klinických prognostických parametrů (např. přesunutí stadia II z vysokého do vyššího středního rizika) je to především fakt, že průkaz patogenní sekvenční varianty v genu *POLE* svědčící pro ultramutovaný typ tumoru nebo mutovaný stav genu *TP53* zásadním způsobem ovlivňují terapeutický přístup u pacientek s nově diagnostikovaným EC. Nejenom pacientky v klinickém stadiu IA, ale i pacientky ve stadiu IB a II s *POLE*-ultramutovanými tumory jsou bez ohledu na další parametry zařazeny do skupiny s nízkým rizikem bez nutnosti adjuvantní terapie. Naopak tumory s aberantní expresí p53 (resp. mutací *TP53*) a prokázanou invazí do myometria jsou i při diagnóze ve stadiu IA bez ohledu na histologický typ zařazeny do

skupiny s vysokým rizikem, kdy je standardně doporučena adjuvantní léčba (tab. 3) [8]. V roce 2021 bylo publikováno také společné národní doporučení čtyř odborných společností České lékařské společnosti J. E. Purkyně (ČLS JEP) detailně popisující metodiku molekulárního testování EC v podmínkách ČR [9].

Cílem předkládané práce je analýza prvních zkušeností s prospektivním stanovováním molekulárního testování u pacientek s nově diagnostikovaným EC a vyhodnocení přínosu zavedení molekulární klasifikace do reálné klinické praxe.

### Materiál a metody

Od jara roku 2021 je molekulární testování EC ve FN Brno prováděno prospektivně v rámci standardního histopatologického vyšetření vždy, pokud je k dispozici dostatečně reprezentativní vzorek tumoru pro imunohistochemické a molekulárně genetické analýzy. Vyšetření jsou prováděna na vzorcích tumoru odebraných při operaci, fixovaných formaldehydem a zalitých v parafínu (formalin-fixed parafin-embedded – FFPE). Pokud nebyl operační výkon proveden, jsou vyšetření v indikovaných případech doplněna ze vzorků získaných při diagnostickém výkonu.

Proteiny p53 a MMR jsou stanovovány imunohistochemicky (IHC) u všech pacientek s nově diagnostikovaným EC.

### Metodika IHC analýzy p53

K imunohistochemické analýze byla použita komerčně dostupná protilátka p53 (klon D0-7, 1 : 200; Agilent, USA) a automatický systém Ventana BenchMark Ultra. Dle míry exprese proteinu je nález hodnocen jako wild type (fokálně slabá disperzní jaderná pozitivita) či mutovaný typ exprese (silná jaderná exprese ve více než 80 % nádorových buněk, nulová jaderná exprese či cytoplazmatická exprese).

### Metodika IHC analýzy MMR

K imunohistochemické analýze byly použity komerčně dostupné protilátky MSH2 (klon BSB-147, 1 : 50; BioSB, USA), MLH1 (klon ES05, RTU; Agilent, USA), PMS2 (klon EP51, RTU; Agilent, USA), MSH6 (klon PU29, 1 : 70; Novocastra,

Leica Biosystems Newcastle Ltd, Anglie) a automatický systém Ventana BenchMark Ultra. Hodnocení a interpretace výsledků se řídí dle doporučení College of American Pathologists.

### Metodika analýzy mutačního stavu genu *POLE*

Mutační stav genu *POLE* je vyšetřován u všech tumorů s výjimkou těch, které splňují kritéria pro zařazení do skupiny s nízkým rizikem recidivy, tj. low-grade endometroidní karcinomy s hloubkou invaze do méně než poloviny šířky myometria, bez podstatné LVSI (tab. 3). V případě průkazu MMRd a/nebo p53MUT je mutační stav genu *POLE* došetřen bez ohledu na klinické parametry, a to pro dořešení případných double či multiple classifiers.

Po identifikaci vhodného FFPE bloku k analýze a zhodnocení procentuálního zastoupení nádorových buněk erudovaným patologem je izolována genomová DNA s podílem nádorové DNA  $\geq 50$  %. Amplifikace a sekvenční analýza exonů 9–14 genu *POLE* (dle referenční sekvence NM\_006231.4) se řídí aktuálními standardy vydávanými Společností českých patologů ČLS JEP a aktuální verzí National Comprehensive Cancer Network (NCCN) guidelines. Jednotlivé sekvence použitých primerů (Generi Biotech, Česká republika) jsou uvedeny v tab. 4. Nález je hodnocen jako negativní v případě, že nebyla detekována žádná z dosud popsaných patogenních sekvenčních variant genu *POLE* v exonech 9–14, nebo jako pozitivní v případě, že byla detekována některá z dosud popsaných patogenních sekvenčních variant genu *POLE* v exonech 9–14.

### Stanovení molekulárního subtypu EC

Specifikace molekulárního subtypu EC je reportována u tumorů, které mají stanoveny všechny potřebné parametry, tj. status MMR, p53 a mutační stav genu *POLE*. V souladu s národním doporučením je používána terminologie [9]:

- 1) *POLE*-ultramutovaný typ tumoru – průkaz známých patogenních variant v exonu 9–14 genu *POLE*
- 2) MMR-deficientní typ – průkaz deficiencie MMR a současně *POLE*wt při jakémkoli statusu p53

3) p53-mutovaný typ – p53-aberantní fenotyp a současně MMR proficiencie i *POLE*wt

4) s nespécifickým molekulárním profilem

### Stratifikace pacientek podle míry rizika recidivy

Na základě stagingu, histologického typu, gradingu, stanovení LVSI a výsledků molekulárního testování je pacientka v rámci projednání dalšího postupu na Indikační onkogynekologické komisi (IOGK) zařazena do příslušné rizikové skupiny podle DOP\_2020 (tab. 3) [8]. Pokud bylo provedeno kompletní molekulární testování včetně analýzy genu *POLE*, je definitivní riziko stanoveno na základě DOP\_2020 – Molekulární klasifikace známa. V situacích, kdy by případný průkaz patogenní varianty genu *POLE* neměnil léčebný postup, jako jsou tumory splňující kritéria pro nízké riziko, nebo naopak diseminované tumory v době diagnózy, je riziko stanoveno na základě klinických parametrů (tab. 3).

### Kritéria pro indikaci genetické konzultace

Všem pacientkám s MMR-deficientními tumory a/nebo s pozitivní rodinnou anamnézou je v rámci projednání na IOGK doporučena také genetická konzultace k vyloučení hereditární formy onemocnění.

### Soubor pacientek

Do analýzy byly zařazeny všechny pacientky Onkogynekologického centra FN Brno s nově diagnostikovaným EC v období květen 2021 – květen 2022. Pro posouzení významu začlenění molekulárního testování do klinické praxe byly pacientky retrospektivně zařazeny do některé z prognostických skupin také podle předchozích doporučení DOP\_2016 (tab. 3) a výsledky stratifikací podle jednotlivých doporučení byly porovnány [2].

### Statistická analýza

K popisu charakteristik pacientek a tumorů byly použity absolutní a relativní četnost pro kategoriální proměnné a pro spojité medián a mezikvartilové rozpětí. Vzhledem k tomu, že se jednalo

Tab. 4. Sekvence použitých primerů.

PRIMER	Sekvence
POLE-9F	GAGCTTGGCTTTATGCTTATTTTG
POLE-9R	GGCAGATGCTGCTGTAGTATG
POLE-10F	TCTCTAGGCAGAGTGTGTGG
POLE-10R	ACATGTCCGTTCTTCCCAC
POLE-11F	CTTTGGGAGAGGAATTTGAATAG
POLE-11R	CAGGAGCCACCTCCTAAGTC
POLE-12F	GGGCATTAGAGCCTGACC
POLE-12R	GTGACAGCACAGTCTGCAAG
POLE-13F1	TGCCTGTTAGGAACTTGCATC
POLE-13R1	ATGTCCTCCGGGTCTAGC
POLE-13F2	ACAGTTACCTTCTGTGGGC
POLE-13R2	TGTCCCGGAGACACAGC
POLE-14F	GTGCTTCACTTGTACCCTG
POLE-14R	TGCCGACAGGACAGATAATG

o deskriptivní studii, nebylo provedeno žádné statistické testování.

### Výsledky

Do analýzy bylo zařazeno celkem 85 pacientek s mediánem věku 66 let, z toho 58 (68 %) v klinickém stadiu I, 7 (8 %) ve stadiu II, 16 (19 %) ve stadiu III a 4 (5 %) ve stadiu IV. Celkem 67 (79 %) pacientek mělo low-grade endometroidní karcinom, 13 (15 %) high-grade endometroidní karcinomy (tab. 5). I přes implementaci molekulárního testování byl medián doby od operace po projednání na IOGK 21 dní (8–36).

Výsledky molekulárního testování byly následující: celkem 22 pacientek (26 %) mělo MMR-deficientní tumory a 8 pacientek (9 %) p53-mutované tumory. U žádné ze 40 pacientek v nenízkém riziku s provedenou analýzou mutačního stavu genu *POLE* nebyl prokázán ultramutovaný typ tumoru. U jedné pacientky nebyl vyšetřen status p53 a u dvou pacientek v nenízkém riziku nebyla provedena analýza genu *POLE* (tab. 6). V obou případech se jednalo o tumory diagnostikované v klinickém stadiu IVB, kdy doplnění molekulárních analýz by nevedlo ke změně terapeutického postupu. Z pohledu zařazení pa-

cientek do skupin dle míry rizika recidivy podle DOP\_2020 bylo 46 pacientek (51 %) v nízkém riziku, 2 pacientky (2 %) ve středním, 14 pacientek (16 %) ve vyšším středním a 20 pacientek (24 %) ve vysokém riziku. Celkem 6 pacientek (7 %) bylo diagnostikováno s pokročilým nebo metastatickým onemocněním.

U 76 pacientek (90 %) byl léčebný postup stanoven i dokončen plně v souladu s DOP\_2020 podle míry rizika recidivy onemocnění [8]. U jedné pacientky (1 %) musela být doporučena adjuvantní léčba ukončena předčasně z důvodu nepřiměřené toxicity chemoterapie. Pouze u 8 pacientek (9 %) byla výsledná léčebná doporučení modifikována z důvodu celkového stavu nebo vůle pacientky, kdy navzdory riziku recidivy nebyla doporučena adjuvantní chemoterapie nebo radioterapie aplikována.

Při porovnání rozdílů ve stratifikaci pacientek podle míry rizika recidivy na základě DOP\_2020 a předchozích DOP\_2016 jsou patrné rozdíly v počtech zařazených pacientek prakticky ve všech rizikových skupinách s výjimkou pacientek diagnostikovaných s pokročilým nebo metastatickým onemocněním, kde se kritéria pro zařazení v mezidobí nijak nezměnila (graf 1) [2,8]. K modifi-

Tab. 5. Klinické charakteristiky souboru.

Klinické charakteristiky	n = 85
věk, medián (IQR)	66 (58–72)
BMI, medián (IQR)	33 (29 – 35)
menopauzální stav, n (%)	
pre/perimenopauza	14 (16 %)
postmenopauza	71 (84 %)
parita, medián (IQR)	2,00 (1,00–2,00)
<b>Klinické stadium, n (%)</b>	
I	
IA	51 (60 %)
IB	7 (8,2 %)
II	7 (8,2 %)
III	
IIIA	4 (4,7 %)
IIIB	1 (1,2 %)
IIIC	11 (13 %)
IV	
IVA	0
IVB	4 (4,7 %)
<b>Histologie, n (%)</b>	
endometroidní LG	67 (79 %)
endometroidní HG	13 (15 %)
non-endometroidní	
serózní	2 (2,4 %)
clear-cell	1 (1,2 %)
karcinosarkom	2 (2,4 %)
<b>Doba do IOGK, medián (IQR), dny</b>	21,0 (19,0–23,2)

BMI – body mass index, HG – high-grade, IOGK – indikační onkogynekologická komise, IQR – mezikvartilové rozpětí, LG – low-grade, n – počet případů

Tab. 6. Výsledky molekulárního testování.

Výsledky testování	n = 85
<b>POLE, n (%)</b>	
MUT	0
WT	40 (100 %)
% nádorové tkáně, medián (IQR)	80 (50–90)
neprovedeno	45
<b>MMR, n (%)</b>	
MMRd	22 (26 %)
MMRp	63 (74 %)
<b>p53, n (%)</b>	
MUT	8 (9 %)
WT	76 (90 %)
neprovedeno	1

náš zásadní změny do managementu pacientek s nově diagnostikovaným karcinomem endometria [8]. Předkládaná analýza shrnuje pilotní zkušenosti s aplikací těchto doporučení do běžné klinické praxe ve FN Brno. V návaznosti na publikovaná národní doporučení pro molekulární testování u karcinomu endometria jsme se v rámci Mezioborové pracovní skupiny pro onkogynekologii dohodli na algoritmu vyšetření a v průběhu jara 2021 bylo zahájeno molekulární testování jako nedílná součást rutinního histopatologického vyšetření. Námí zvolená metodika molekulárního testování reflektuje klinickou potřebu a vychází z úvahy, že vyšetření mutačního stavu genu *POLE* není nutné provádět paušálně, protože u pacientek s EC splňujících klinická kritéria pro nízké riziko recidivy nemění případná znalost o ultramutovaném typu tumoru klinický postup, kterým je doporučením dispenzarizace po operačním výkonu bez nutnosti adjuvantní léčby. Vyšetření stavu p53 a MMR indikujeme u všech pacientek s nově diagnostikovaným EC. Průkaz p53-mutovaného typu tumoru totiž automaticky zařazuje pacientku do skupiny s vysokým rizikem, kdy je standardně doporučována adjuvantní léčba ve snaze o redukci rizika recidivy onemocnění. Průkaz MMR-deficientního tu-

kaci rizika oproti dříve užívanému doporučení došlo v našem pilotním souboru celkem u 11 (13 %) pacientek, z toho u 4 (36 %) na základě molekulárních charakteristik (konkrétně průkaz p53-mutovaného tumoru při absenci průkazu MMRd a nemutovaném stavu genu *POLE*) a u 7 (64 %) pacientek na základě změny v posuzování významnosti některého z klinických parametrů (tab. 7).

Genetická konzultace byla nabídnuta celkem 24 pacientkám z celého souboru – 22 pacientkám na základě průkazu MMR-deficientního tumoru a 2 pa-

cientkám s MMR-proficientními tumory pro rodinnou zátěž. V době analýzy byly známy výsledky genetického vyšetření u 18 pacientek, z nichž u 4 (22 %) bylo prokázáno nosičství patogenní varianty v některém z genů asociovaných s Lynchovým syndromem, u 8 (45 %) byl výsledek negativní a u 6 (33 %) pacientek byla detekována varianta nejasného klinického významu.

### Diskuze

Aktualizace DOP\_2020 obsahující implementaci molekulární klasifikace při-

Tab. 7. Molekulární klasifikace karcinomu endometria – přehled publikovaných studií.

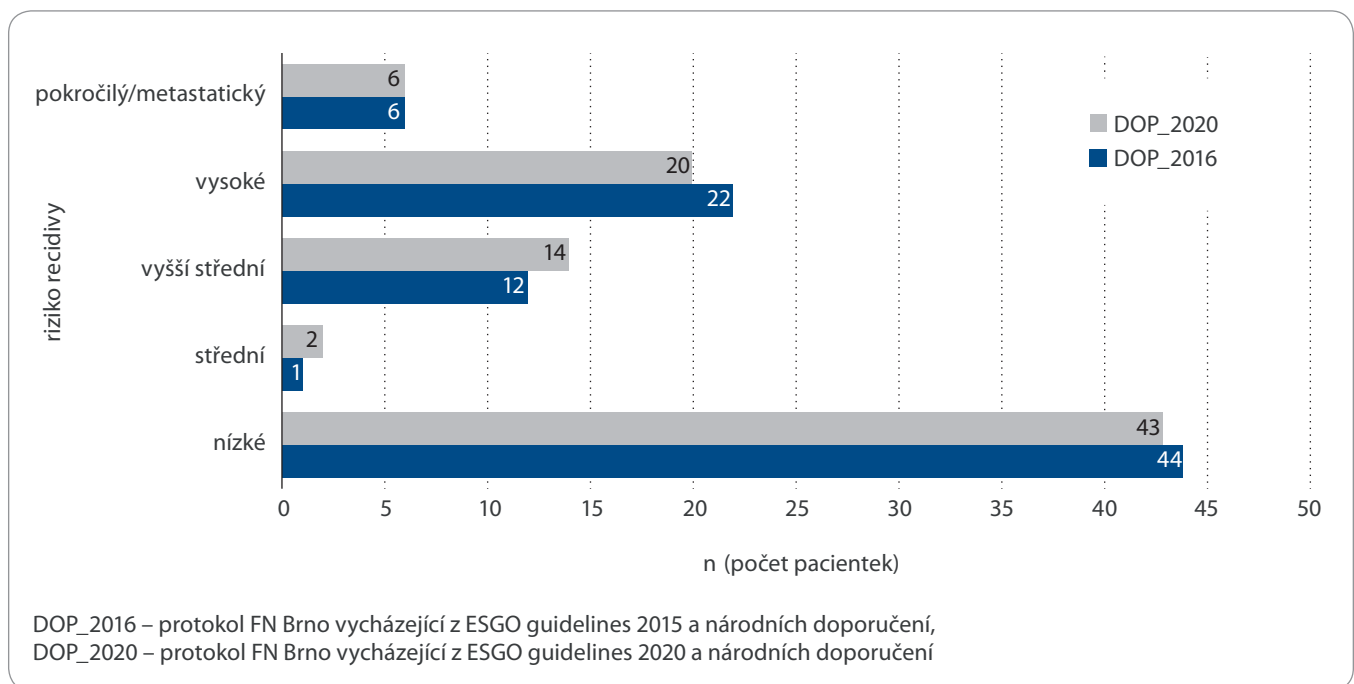
Charakteristiky	TCGA 2013 [3] n = 232	Talhok 2015 [4] n = 143	Stelloo 2016 [6] n = 834	Talhok 2017 [10] n = 319	Bosse 2018 [11] n = 376	Kommos 2018 [7] n = 452	Devereaux 2022 [12] n = 310
typ studie	retrospektivní	retrospektivní	retrospektivní	retrospektivní	retrospektivní	retrospektivní	prospektivní
věk, medián	NA	63	68	67	66	65	64
stadium, n (%)							
I	254 (68 %)	102 (71 %)	834 (100 %)	221 (70 %)	291 (77 %)	365 (81 %)	177 (57 %)
II–IV	116 (32 %)	41 (29 %)		94 (30 %)	85 (23 %)	57 (19 %)	102 (33 %)
NA	3			4			31 (10 %)
histologie, n (%)							
EEC	304 (82 %)	119 (83 %)	834 (100 %)	215 (67 %)	376 (100 %)	320 (71 %)	220 (71 %)
non-EEC	66 (18 %)	25 (17 %)		104 (33 %)		132 (29 %)	90 (39 %)
grade, n (%)							
LG	193 (52 %)	90 (63 %)	724 (87 %)	123 (39 %)		357 (79 %)	185 (60 %)
HG	111 (30 %)	53 (37 %)	110 (13 %)	196 (61 %)	376 (100 %)	95 (21 %)	32 (10 %)
NA	66 (18 %)						93 (30 %)
POLE, n (%)							
MUT	17 (7 %)	12 (8 %)	49 (6 %)	30 (9 %)	49 (13 %)	42 (9 %)	15 (5 %)
WT	215 (93 %)	131 (92 %)	785 (94 %)	289 (91 %)	327 (87 %)	410 (91 %)	295 (95 %)
metodika	NGS	NGS/Sanger	Sanger	NGS/Sanger	NGS/Sanger	NGS/Sanger	SNaPshot
MMR, n (%)							
MMRd	65 (28 %)	41 (29 %)	219 (26 %)	64 (20 %)	138 (36 %)	127 (28 %)	59 (25 %)
MMRp	167 (72 %)	102 (71 %)	615 (74 %)	255 (80 %)	238 (64 %)	325 (72 %)	251 (75 %)
metodika	NGS/MSI	IHC	MSI	IHC	IHC	IHC	IHC
p53							
P53MUT	60 (26 %)	25 (18 %)	74 (9 %)	86 (27 %)	79 (21 %)	55 (12 %)	81 (26 %)
P53WT	172 (74 %)	118 (82 %)	760 (91 %)	233 (73 %)	297 (79 %)	397 (88 %)	229 (73 %)
metodika	NGS	IHC	IHC	IHC	IHC	IHC	IHC
NSMP/P53WT	90 (39 %)	63 (44 %)	492 (59 %)	139 (44 %)	228 (50 %)	228 (50 %)	135 (44 %)

EEC – endometroidní karcinom, HG – high-grade, IHC – imunohistochemie, LG – low-grade, MMR – mismatch-repair system, MMRd – MMR-deficientní, MSI – mikrosatelitní instabilita, MUT – mutovaný, n – počet, NA – nestanoveno, NGS – sekvenování nové generace, non-EEC – non-endometroidní karcinom, NSMP – s nespecifickým molekulárním profilem, Sanger – analýza metodou Sangerova sekvenování, SNaPshot – single nucleotide polymorphism analyses, WT – wild type

moru sice podle aktuálních doporučení neovlivňuje zařazení pacientky do některé z rizikových skupin, ale umožňuje identifikaci pacientek, u nichž je indikováno další došetření k vyloučení hereditární formy onemocnění. Při zohlednění počtu nových pacientek v našem centru a potřebě rychlého zavedení molekulárního testování jsme se dohodli, že v úvodní fázi budeme status p53 a MMR stanovovat v souladu s národním do-

poručení imunohistochemicky a mutační stav genu *POLE* metodou Sangerova sekvenování. Sekvenování nové generace využíváme v současnosti u pacientek s EC při vyčerpaných možnostech standardní systémové léčby podávané s paliativním záměrem, a to v rámci pátrání po eventuální targetovatelné lézi v situacích, kdy je pacientka stále kandidátkou aktivního terapeutického přístupu.

Jak dokladují naše první zkušenosti, námi zvolená metodika je v praxi proveditelná a nijak neprodlužuje dobu nutnou k projednání dalšího postupu v rámci primární léčby u pacientek s nově diagnostikovaným EC (medián doby od data diagnózy do projednání dalšího postupu s výsledky histologie byl v našem souboru 21 dní (tab. 5)). Při hodnocení pilotních výsledků v kontextu s dosud publikovanými daty mů-



Graf 1. Predikce rizika podle DOP\_2016 a DOP\_2020 [2,8].

žeme konstatovat, že věkové složení naší kohorty (medián věku 66 let) i proporcionální rozložení jednotlivých stadií v době diagnózy (68 % diagnostikováno ve stadiu I a 32 % ve stadiu II–IV) odpovídá klinickým parametrům souborů v dosud publikovaných retrospektivních analýzách [3,4,6,7,10,11] i ve vůbec první práci popisující zkušenosti s prospektivním stanovováním molekulární klasifikace u EC [12] (tab. 5 a 8).

Skutečnost, že v našem souboru nebyla zachycena žádná pacientka s ultramutovaným typem tumoru, může být vysvětlena především relativně malou velikostí naší pilotní kohorty v porovnání s velikostí souborů pacientek v rámci dosud publikovaných studií, obzvláště vezmeme-li do úvahy udávanou frekvenci těchto typů tumorů (5–13 %; tab. 8). Podle dosud publikovaných dat se POLE-ultramutované tumory vyskytují především u pacientek s endometroidními tumory, a to u tumorů s vysokým i nízkým gradem. Např. ve studii Stelloo et al. bylo 49 % pacientek s POLE-ultramutovaným typem tumoru ve skupině s nízkým rizikem recidivy [6]. Je tedy evidentní, že řada pacientek s potenciálně POLE-ultramutovaným tumorem nebyla v našem souboru vůbec testována, neboť znalost výsledku testování

by nezměnila náš klinický postup. Velký důraz je kladen na dostatečné procentuální zastoupení nádorové tkáně ve vzorku vybraném patologem pro účely Sangerova sekvenování, a to vzhledem k možné limitaci této metody v senzitivitě záchytu patogenních variant. Udávaný detekční limit námi užívané metodiky je 15–20 % mutované alely, tj. nejméně 30–40 % buněk s mutací. Při mediánu 80 % nádorové tkáně ve vzorcích určených k testování *POLE* v naší pilotní kohortě nepředpokládáme významný podíl falešně negativních výsledků (tab. 6). Navíc výsledky studie Temko et al. dokladují, že somatické patogenní varianty exonukleázové domény genu *POLE* vznikají velmi časně v průběhu kancerogeneze a jsou detekovatelné již v prekurzorových lézích. Nepředpokládá se tedy významný podíl falešně negativních výsledků při analýze mutačního stavu *POLE* v důsledku heterogenity tumoru [13].

Relativně nízký podíl pacientek s p53-mutovaným typem tumoru v našem souboru (n = 8, tj. 9 %) je vysvětlitelný zejména nízkým podílem pacientek s non-endometroidními karcinomy, resp. serózními karcinomy (tab. 6). Tato hodnota je v naprosté korelaci s výsledky studie Stelloo et al., ve které byly retrospek-

tivně analyzovány pacientky ze studií PORTEC-1 a PORTEC-2, tj. pouze s endometroidními karcinomy při podílu HG tumorů 13 % (tab. 8).

Podíl pacientek s MMR-deficientními tumory 26 % (tab. 6) je plně v souladu s výsledky dosud publikovaných studií (tab. 8). Vysoký záchyt pacientek s hereditární formou EC při genetickém testování indikovaném na základě průkazů MMR-deficientního tumoru a/nebo rodinné anamnézy (22 %) dokladuje oprávněnost námi zvolených kritérií ke genetické konzultaci i skutečnost, že plošné zavedení testování MMR u všech pacientek s nově diagnostikovaným EC napomáhá identifikovat pacientky s dědičnou dispozicí ke vzniku nádorových onemocnění.

Konkordance mezi skutečně absolvovanou léčbou a léčbou doporučenou v návaznosti na zařazení pacientky do rizikové skupiny podle recentních evropských doporučení s využitím molekulárního testování (89 %) je v našem pilotním souboru vysoká, vyšší než např. v holandské studii posuzující compliance lékařů s aplikací doporučených postupů v běžné klinické praxi [14]. Naše pilotní zkušenosti tak dokladují praktickou realizovatelnost nových doporučení pro management pacientek s EC. Vý-

znamnost změn, které tato nová doporučení přináší, ilustruje porovnání s predikcí rizika recidivy podle předchozího DOP\_2016 (graf 1) [2] a také detailní charakteristika parametrů, které byly důvodem pro změnu ve stratifikaci rizika u jednotlivých případů (tab. 7).

Hlavním kladem naší pilotní studie je skutečnost, že se jedná o první práci svého druhu vyhodnocující pragmatickou implementaci molekulárního testování do běžné klinické praxe u pacientek s nově diagnostikovaným karcinomem endometria, kdy jsou stanovovány parametry p53 a MMR u všech pacientek a mutační stav genu *POLE* je vyhodnocován pouze u pacientek s nízkým rizikem recidivy onemocnění. Relativním nedostatkem je velikost souboru podmiňená faktem, že se jedná o pilotní studii vyhodnocující dosavadní zkušenosti před případnou modifikací zavedeného postupu.

### Závěr

Pilotní analýza našich zkušeností s implementací molekulárního testování u pacientek s nově diagnostikovaným karcinomem endometria dokladuje, že kombinace imunohistochemických analýz proteinů MMR a p53 u všech pacientek a sekvenční analýzy genu *POLE* u pacientek v nízkém riziku je v běžné klinické praxi proveditelné a neprodlužuje dobu nutnou k rozhodnutí o adjuvantní léčbě. Stanovování nových markerů v rámci molekulárního testování pomáhá identifikovat pacientky se špat-

nou, nebo naopak excelentní prognózou (p53-mutované tumory, resp. ultramutované tumory s patogenní variantou genu *POLE*), a lépe tak cílit doporučení stran případné adjuvantní léčby. Samotný výsledek analýzy proteinů MMR sice doposud neměl vliv na volbu optimální strategie v rámci primární léčby, nicméně její plošné provádění u všech pacientek s nově diagnostikovaným karcinomem endometria napomáhá v širším kontextu identifikovat ty pacientky, které jsou nosičkami dědičné dispozice ke vzniku nádorových onemocnění.

### Dedikace

Podpořeno MZČR-RVO (FNBr, 65269705).

### Literatura

1. Modrá kniha České onkologické společnosti. [online]. Dostupné z: <https://www.linkos.cz/lekar-a-multidisciplinari-tym/personalizovana-onkologie/modra-kniha-cos/aktualni-vydani-modre-knihy/>.
2. Colombo N, Preti E, Landoni F et al. Endometrial cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2013; 24 (Suppl 6): vi33–vi38. doi: 10.1093/annonc/mdt353.
3. The Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma. *Nature* 2013; 497(7447): 67–73. doi: 10.1038/nature12113.
4. Talhouk A, McConechy MK, Leung S et al. A clinically applicable molecular-based classification for endometrial cancers. *Br J Cancer* 2015; 113(2): 299–310. doi: 10.1038/bjc.2015.190.
5. León-Castillo A, de Boer SM, Powell ME et al. Molecular classification of the PORTEC-3 trial for high-risk endometrial cancer: impact on prognosis and benefit from adjuvant therapy. *J Clin Oncol* 2020; 38(29): 3388–3397. doi: 10.1200/JCO.20.00549.
6. Stelloo E, Nout RA, Osse EM et al. Improved risk assessment by integrating molecular and clinicopathological factors in early-stage endometrial cancer-combined analysis of the PORTEC cohorts. *Clin Cancer Res* 2016; 22(16): 4215–4224. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-15-2878.

7. Kommoss S, McConechy MK, Kommoss F et al. Final validation of the ProMisE molecular classifier for endometrial carcinoma in a large population-based case series. *Ann Oncol* 2018; 29(5): 1180–1188. doi: 10.1093/annonc/mdy058.
8. Concin N, Matias-Guiu X, Vergote I et al. ESGO/ESTRO/ESP guidelines for the management of patients with endometrial carcinoma. *Int J Gynecol Cancer* 2020; 31(1): 12–39. doi: 10.1136/ijgc-2020-002230.
9. Dunder P, Cibula D, Doležel M et al. Molecular testing in endometrial carcinoma – joint recommendation of Czech Oncological Society, Oncogynecological Section of the Czech Gynecological and Obstetrical Society, Society of Radiation Oncology, Biology and Physics, and the Society of Czech Pathologists. *Ceska Gynekol* 2021; 86(4): 264–272. doi: 10.48095/ccccg2021264.
10. Talhouk A, McConechy MK, Leung S et al. Confirmation of ProMisE: a simple, genomics-based clinical classifier for endometrial cancer: molecular classification of EC. *Cancer* 2017; 123(5): 802–813. doi: 10.1002/cncr.30496.
11. Bosse T, Nout RA, McAlpine JN et al. Molecular classification of grade 3 endometrioid endometrial cancers identifies distinct prognostic subgroups. *Am J Surg Pathol* 2018; 42(5): 561–568. doi: 10.1097/PAS.00000000000001020.
12. Devereaux KA, Weiel JJ, Pors J et al. Prospective molecular classification of endometrial carcinomas: institutional implementation, practice, and clinical experience. *Mod Pathol* 2022; 35(5): 688–696. doi: 10.1038/s41379-021-00963-y.
13. Temko D, Van Gool IC, Rayner E et al. Somatic *POLE* exonuclease domain mutations are early events in sporadic endometrial and colorectal carcinogenesis, determining driver mutational landscape, clonal neoantigen burden and immune response. *J Pathol* 2018; 245(3): 283–296. doi: 10.1002/path.5081.
14. Eggink FA, Mom CH, Boll D et al. Compliance with adjuvant treatment guidelines in endometrial cancer: room for improvement in high risk patients. *Gynecol Oncol* 2017; 146(2): 380–385. doi: 10.1016/j.ygyno.2017.05.025.
15. Kurman RJ, Carcangiu ML, Herrington CS et al. WHO classification of tumours of female reproductive organs. International Agency for Research on Cancer 2014.
16. Brierley J, Gospodarowicz MK, Wittekind C et al. TNM klasifikace zhoubných novotvarů. [online]. Available from: <https://dwn.alza.cz/ebook/nahled/pdf2/EK34089>.
17. Colombo N, Creutzberg C, Amant F et al. ESMO-ESGO-ESTRO consensus conference on endometrial cancer: diagnosis, treatment and follow-up. *Radiother Oncol* 2015; 117(3): 559–581. doi: 10.1016/j.radonc.2015.11.013.

# Kvantitatívne profilovanie génov asociovaných s dráhami vzniku mozgových nádorov

## Quantitative profiling of genes associated with cancer pathways in brain tumors

Majerčíková Z.<sup>1</sup>, Dibdiaková K.<sup>1</sup>, Galanda M.<sup>2</sup>, Galanda T.<sup>2</sup>, Richterová R.<sup>3</sup>, Kolarovszki B.<sup>3</sup>, Račay P.<sup>1</sup>, Hatok J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ústav lekárskej biochémie, Jesseniova lekárska fakulta UK v Martine, Martin, Slovenská republika

<sup>2</sup> Neurochirurgická klinika SZU, Fakultná nemocnica s poliklinikou F. D. Roosevelta, Banská Bystrica, Slovenská republika

<sup>3</sup> Neurochirurgická klinika, Jesseniova lekárska fakulta UK a UN v Martine, Martin, Slovenská republika

### Súhrn

**Východiská:** Mozgové nádory tvoria rôznorodú skupinu malignit charakterizovaných intertumorálnou aj intratumorálnou heterogenitou. Medzi najagresívnejší z nich radíme glioblastóm, ktorý je napriek pokrokom v súčasnej medicíne stále neliečiteľný. Jedným z dôvodov je vysoký stupeň rekurencie ochorenia a rezistencia na štandardne využívané chemoterapeutikum temozolomid. Preto mapovanie dráh zodpovedných za tumorigenézu na transkripčnej úrovni môže prispieť k determinovaniu príčin a stupňa agresivity medzi jednotlivými typmi gliálnych malignit. **Súbor pacientov a metódy:** Do súboru vzoriek boli zaradené biopsie od pacientov s astrocytómom (n = 6), glioblastómom (n = 22) a meningiómom (n = 14). Kontrolnú skupinu predstavovali RNA izolované zo zdravého ľudského mozgu (n = 3). Reverznou transkripciou získanú cDNA sme využili na kvantitatívnu analýzu pomocou Human Cancer PathwayFinder™ real-time PCR Array v 96 jamkovom formáte a pre každú vzorku sme stanovili expresiu 84 génov patriacich do 9 regulačných dráh (angiogenéza, apoptóza, bunkový cyklus a starnutie, poškodenie a oprava DNA, epiteliálno-mezenchymálny prechod, hypoxia, celkový metabolizmus a dynamika telomér). **Výsledky:** Určením relatívnej expzie vybraných génov sme charakterizovali profil jednotlivých mozgových malignit v kontexte signálnych dráh ovplyvňujúcich tumorigenézu. Zo všetkých sledovaných génov jednotlivých dráh sme zaznamenali dereguláciu u glioblastómov v 50 %, u meningiómov v 52,4 % a u astrocytómov v 53,6 %. Celkovo sme najvýraznejšie zmeny so štatistickou signifikanciou oproti kontrole zaznamenali u génov spájaných s epiteliálno-mezenchymálnou tranzíciou (*CDH2*, *FOXC2*, *GSC*, *SNAI2* a *SOX10*), bunkovým starnutím (*BMI1*, *ETS2*, *MAP2K1* a *SOD1*), opravou DNA (*DDB2*, *ERCC3*, *GADD45G* a *LIG4*) a dynamikou telomér (*TEP1*, *TERF2IP*, *TNKS* a *TNKS2*). **Záver:** Na základe získaných dát môžeme konštatovať, že jednotlivé diagnózy sa líšia v transkriptomickom profile. Prihliadnúc na tento fakt, je preto nevyhnutná potreba individuálneho molekulového prístupu s cieľom komplexnej a cielenej terapie na viacerých stupňoch nádorového metabolizmu.

### Kľúčové slová

nádory mozgu – mRNA – profilovanie dráh tumorigenézy

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare that they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

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

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



doc. RNDr. Jozef Hatok, PhD.

Univerzita Komenského v Bratislave  
Jesseniova lekárska fakulta v Martine  
Ústav lekárskej biochémie  
Malá Hora 11161/4D  
036 01 Martin  
Slovenská republika  
e-mail: hatok@jfmed.uniba.sk

Obdržané/Submitted: 8. 6. 2022

Prijaté/Accepted: 13. 10. 2022

doi: 10.48095/ccko2023224



## Summary

**Background:** Brain tumors are a heterogeneous group of malignancies characterized by inter- and intratumoral heterogeneity. Among them, the most aggressive and, despite advances in medicine, still incurable remains glioblastoma. One of the reasons is the high recurrence rate of the disease and resistance to temozolomide, a golden standard in chemotherapy of brain tumors. Therefore, mapping the pathways responsible for tumorigenesis at the transcriptional level may help to determine the causes and aggressive behavior among different glial tumors. **Patients and methods:** Biopsies from patients with astrocytoma (N = 6), glioblastoma (N = 22), and meningioma (N = 14) were included in the sample set. A control group consisted of RNA isolated from healthy human brain (N = 3). The reverse-transcribed cDNAs were analyzed using the Human Cancer PathwayFinder™ real-time PCR Array in a 96-well format. The expression of 84 genes belonging to 9 signaling pathways (angiogenesis, apoptosis, cell cycle and senescence, DNA damage and repair, epithelial-to-mesenchymal transition, hypoxia, overall metabolism, and telomere dynamics) was determined for each sample. **Results:** By determining the relative expression of selected genes, we characterized the transcriptomic profile of individual brain malignancies in the context of signaling pathways involved in tumorigenesis. We observed deregulation in 50, 52.4 and 53.6% % of the genes in glioblastomas, meningiomas and astrocytomas, respectively. The most pronounced changes with statistical significance compared to control were observed in the genes associated with epithelial-to-mesenchymal transition (*CDH2*, *FOXC2*, *GSC*, *SNAI2*, and *SOX10*), cellular senescence (*BMI1*, *ETS2*, *MAP2K1*, and *SOD1*), DNA repair (*DDB2*, *ERCC3*, *GADD45G*, and *LIG4*), and dynamic of telomeres (*TEP1*, *TERF2IP*, *TNKS*, and *TNKS2*). **Conclusion:** Based on the obtained data, we can conclude that individual diagnoses differ in transcriptomic profile. An individual molecular approach is therefore necessary in order to provide comprehensive and targeted therapy on multiple metabolic pathways in the diagnosis of brain tumors.

## Key words

brain tumors – mRNA – profiling of tumorigenesis pathways

## Úvod

Mozgové nádory sa líšia stupňom malignity od pomaly rastúcich a liečiteľných nádorov po rýchlo proliferujúce, agresívne tumory charakterizované vysokou mierou heterogenity a invazívnosti. Podľa najnovšej klasifikácie mozgových nádorov vydanéj v roku 2021 Svetovou zdravotníckou organizáciou sú klasifikované na základe histopatologických znakov, ako aj podľa zavedených molekulárnych parametrov [1]. Klinicky sú z glií odvodené tumory rozdelené do štyroch stupňov malignity, z ktorých najagresívnejší je glioblastóm (GBM, WHO IV). Glioblastóm sa vyznačuje svojou vysoko infiltračnou povahou často poškodzujúcou hematoencefalickú bariéru, aberantnou vaskularizáciou a odolnosťou voči multimodálnej liečbe [1–3]. Molekulové charakterizovanie nových terapeutických cieľov a spôsobov je kritické pre zvládnutie úspešnej klasifikácie a liečby tak neľahkej diagnózy akou mozgové nádory sú. Preto sme si stanovili za cieľ na molekulárnej úrovni charakterizovať rôzne typy mozgových nádorov (glioblastómy, astrocytomy a meningiomy ako zástupcov prevažne benígnych tumorov) a sledovať expresiu komerčne dostupných génov podieľajúcich sa na všeobecnom procese vzniku rakoviny pomocou polymerázovej reťazovej reakcie v reálnom čase (real-time polymerase chain reaction – RT PCR).

Záverom možno konštatovať, že zistenia tejto štúdie poskytujú pohľad do patogenézy astrocytómov s dôrazom na glioblastóm a benígne meningiomy a môžu byť podkladom pre potenciálne terapeutické ciele ďalšieho výskumu.

## Súbor pacientov a metódy

Pacientske vzorky pochádzajú z tkanivovej banky nášho pracoviska (tkanivové biopsie nádorov mozgu sme získali v spolupráci s Neurochirurgickou klinikou FNsP F. D. Roosevelta v Banskej Bystrici a Neurochirurgickou klinikou Univerzitnej nemocnice v Martine v rokoch 2018–2021). Do súboru boli zaradené bioptické vzorky od pacientov s glioblastómom (GBM; IV; n = 22), astrocytómom (AST; III; n = 6) a meningiómom (MNG; I – III; n = 14) ženského aj mužského pohlavia rôzneho veku v celkovom počte 42. Základná charakteristika súboru pacientov je uvedená v tab. 1. Kontrolnú skupinu tvorili komerčne dostupné RNA izolované zo zdravých ľudských mozgov (n = 3). Práca bola schválená Etickou komisiou Jesseniovej lekárskej fakulty v Martine pod číslom EK 75/2018. Pacienti boli oboznámení s účelom štúdie a podpísali informovaný súhlas.

## Spracovanie patientskych biopsií

Nádorové tkanivo získané od pacientov uskladnené pri teplote  $-80^{\circ}\text{C}$  sme nechali rozmraziť na lade, po rozmra-

zení sme do sterilných skúmaviek navážili 15–35 mg tkaniva, ktoré sme použili na izoláciu nukleových kyselín. Do každej vzorky sme pridali lyzačný roztok a homogenizovali 20 sekundovou sonifikáciou v ultrasonickom homogénizátore SONOPULS HD 3100 (Bandelin, Nemecko).

## Izolácia celkovej RNA a prepis do cDNA

Celkovú RNA sme z tkanivových homogenátov izolovali použitím AllPrep® DNA/RNA Mini Kitu. Pre odstránenie zvyškovej DNA z RNA frakcie sme zmes inkubovali s DNázou podľa inštrukcií výrobcu. Koncentráciu a čistotu izolovanej RNA sme následne stanovili na spektrofotometri (Implen, Nemecko) pri vlnovej dĺžke 260 nm. RNA bola uskladnená po pridaní 96% etanolu pri  $-80^{\circ}\text{C}$ . Kvalitu izolovanej RNA sme určili pomocou čipovej elektroforézy MCE®-202 MultiNA (Shimadzu Biotech, Japonsko). Prepisom 2  $\mu\text{g}$  izolovanej celkovej RNA sme metódou reverznej transkripcie nasynthetizovali cDNA s využitím RT2 First Strand Kitu na cykléri TProfessional TRIO (Biometra, Nemecko). Pripravená cDNA bola nariadená do celkového objemu 111  $\mu\text{l}$  sterilnou  $\text{dH}_2\text{O}$  bez nukleáz a uskladnená pri teplote  $-20^{\circ}\text{C}$ .

## Real-time PCR array

Nasynthetizovanú cDNA sme zriedili na koncentráciu 50 ng/ $\mu\text{l}$  vo vode bez nuk-

Tab. 1. Charakteristika súboru pacientov.

	Glioblastóm	Astrocytóm	Meningióm
počet	22	6	14
medián veku počas stanovenia diagnózy (roky)	60	28	60
pohlavie (muž/žena)	12/10	5/1	3/11
stupeň malignity (I/II/III/IV/neznámy)	-/-/-/22/-	-/-/6/-/-	11/1/1/-/1

leáz a 40 µl takto zriedenej cDNA sme pridali do 1 340 µl RT2 SYBR® Green Rox™ qPCR Master Mixu (Qiagen, USA) a 1 290 µl sterilnej vody bez nukleáz. V 96-jamkovom formáte bola analyzovaná iba jedna vzorka. Pripravený premix sme jemne zamiešali a po 25 µl napipetovali do jednotlivých jamiek Human Cancer PathwayFinder™ PCR Array 96-jamkovej platničky (Qiagen, USA). Reakcia prebehla v cykléri ViiA 7 Real-Time PCR (Applied Biosystems, USA) s detekciou fluorescenčnej farbičky SYBR Green.

#### Analýza dát

Namerané Ct hodnoty boli analyzované na základe 2-ΔΔCt metódy v online nástroji od firmy QIAGEN. Údaje boli normalizované k hodnotám priemeru endogénnych kontrol (housekeeping génom) *ACTB* (β-aktín), *B2M* (β-2-mikroglobulín), *GAPDH* (glyceraldehyd-3-fosfát dehydrogenáza) a *RPLP0* (kyslý proteín P0 veľkej ribozomálnej podjednotky). Z normalizovaných hodnôt boli ďalej vypočítané násobné zmeny v regulácii expresie nádorových vzoriek oproti kontrolnej skupine. Hodnoty násobnej zmeny expresie väčšie ako 2 naznačujú zvýšenú expresiu (nadreguláciu); hodnoty < -2 vyjadrujú zníženú expresiu (podreguláciu). Štatistická významnosť je vyjadrená pomocou Studentovho t-testu p-hodnotou.

#### Výsledky

Na testovanie génov, ktoré pozitívne alebo negatívne ovplyvňujú tumorigenézu mozgových nádorov (meningiómov, glioblastómov a astrocytómov) sme využili komerčne dostupnú RT-PCR array od firmy Qiagen, USA. Celkovo sme stanovovali expresiu 84 génov zapojených do procesov angiogenézy, apoptózy, regulácie bunkového cyklu, star-

nutia a nesmrteľnosti, opráv poškodenej DNA, migrácie a invazívnosti cez epitelialno-mezenchymálnu tranzíciu, odpovede na hypoxiu a regulácie energetického metabolizmu (tab. 2).

#### Angiogenéza

Adaptácia nádorových buniek na prostredie so slabým krvným zásobením, hypoxiou a obmedzeným prísunom živín procesom angiogenézy je jednou zo základných charakteristík nádorov. Na tomto procese sa podieľa široká škála angiogénnych faktorov zabezpečujúcich vývoj krvných ciev. Nadregulácia génu *PGF* sa ukázala byť prítomná vo všetkých nádorových skupinách, avšak iba u GBM je táto zmena štatisticky významná (14,10;  $p < 0,05$ ). Jediným významne podregulovaným je gén *FLT1* (-4,20;  $p < 0,05$ ) a iba u meningiómov (tab. 3).

#### Apoptóza

Apoptóza hrá kľúčovú úlohu v nádorových procesoch. Z 10 skúmaných apoptotických génov (tab. 3) sme najvýraznejšiu dereguláciu zaznamenali u astrocytómov. Zvýšená expresia bola zistená u 8 génov, z toho 3 sú štatisticky významné – gén kódujúci kaspázu 9 (*CASP9*), *CASP8* a *FADD* podobný regulátor apoptózy (*CFLAR*) a gén pre X-chromozómový inhibitor apoptózy (*XIAP*). Bez významnosti, no so stovkovými hodnotami nadregulácie sa prejavil Fas ligand (*FASLG*), gén patriaci do superrodiny TNF. Záporná regulácia nebola prítomná u žiadneho génu. U meningiómov ani glioblastómov nedošlo ku štatisticky významnej zmene v regulácii expresie.

#### Bunkový cyklus

Nerovnováha v signalizácii DNA replikácie a regulácii zastavenia bunkového cyklu je dôležitá pre získanie malígneho

fenotypu, preto musia byť tieto procesy prísne regulované. Spomedzi vyšetrovaných génov ( $n = 10$ ), najvyšší nárast expresie (avšak bez štatistickej významnosti) sme zaznamenali pre proliferačný marker Ki-67 a to vo všetkých nádorových skupinách (tab. 3). Zníženú expresiu v géne *STMN1* sme zaznamenali u MNG (-10,7;  $p < 0,001$ ) a GBM (-8,67;  $p < 0,001$ ) skupiny. Ďalším génom so štatisticky dôležitou zmenou expresie, konkrétne nadreguláciou, je u AST *CDC20* a u GBM *WEE1*.

#### Bunkové starnutie

Starnutie buniek (bunková senescencia) možno interpretovať ako spontánnu počiatočnú bariéru v tumorigenéze. Hlavnou úlohou starnutia pri ochrane pred rakovinou je zabezpečiť, aby bunky stratili schopnosť trvalo sa množiť, hoci môžu byť metabolicky plne aktívne. Rozdielnu reguláciu expresie sme zaznamenali pri géne *BMI1* – u MNG (-3,71;  $p < 0,001$ ) a GBM (-2,47;  $p < 0,05$ ) je tento gén podregulovaný, u AST je naopak jeho expresia oproti kontrolnej skupine zvýšená (3,28;  $p < 0,05$ ). Okrem *BMI1* sme identifikovali ďalšie 3 podregulované gény – *ETS2*, *MAP2K1* a *SOD1*, z ktorých len u *MAP2K1* bola zmena regulácie štatisticky významná u všetkých sledovaných skupín nádorov. Zmena expresie ostatných nadregulovaných génov nebola významná (tab. 3).

#### Poškodenie a oprava DNA

Poškodenie DNA je jednou z prvých udalostí, ktoré prispievajú k progresii rakoviny. Nesprávna oprava DNA vedie ku genetickým aberáciám v onkogénoch a bunky prechádzajú malígnou transformáciou. U meningiómovej a glioblastómovej skupiny sme identifikovali dva podregulované gény (*ERCC3* a *LIG4*),

Tab. 2. Zoznam sledovaných génov a ich rozdelenie do metabolických dráh.

Dráha	Gén	Proteínový produkt	Dráha	Gén	Proteínový produkt
Angiogenéza	<i>ANGPT1</i>	angiopoetín 1	Poškodenie a oprava DNA	<i>DDB2</i>	proteín 2 viažuci poškodenú DNA
	<i>ANGPT2</i>	angiopoetín 2		<i>DDIT3</i>	DNA poškodením indukovateľný transkript 3 proteín
	<i>CCL2</i>	chemokínový ligand 2 (C-C motív)		<i>ERCC3</i>	proteín excíznej opravy 3
	<i>FGF2</i>	fibroblastový rastový faktor 2		<i>ERCC5</i>	proteín excíznej opravy 5
	<i>FLT1</i>	Fms-podobná tyrozínkináza 1		<i>GADD45G</i>	DDIT2 proteín gama
	<i>KDR</i>	VEGF-receptor 2		<i>LIG4</i>	DNA ligáza 4, ATP-závislá
	<i>PGF</i>	placentárny rastový faktor		<i>POLB</i>	DNA polymeráza β
	<i>SERPINF1</i>	serpin peptidázový inhibítor		<i>PPP1R15A</i>	proteín fosfatáza 1, podj. 15A
	<i>TEK</i>	endoteliálna tyrozínkináza		<i>CDH2</i>	kadherín 2 (neurálny)
	<i>VEGFC</i>	vaskulárny endoteliálny rastový faktor C		<i>DSP</i>	desmoplakín
Apoptóza	<i>APAF1</i>	apoptotický proteazómový aktivačný faktor 1	Epiteliálno-mezenchymálna tranzícia	<i>FOXC2</i>	forkhead box proteín C2
	<i>BCL2L11</i>	Bcl2-podobný proteín 11		<i>GSC</i>	gooseoid homeobox proteín
	<i>BIRC3</i>	bakulovirálny proteín 3		<i>KRT14</i>	keratín 14
	<i>CASP2</i>	kaspáza 2		<i>OCLN</i>	okludín
	<i>CASP7</i>	kaspáza 7		<i>SNAI1</i>	snail homológ 1 (drozofila)
	<i>CASP9</i>	kaspáza 9		<i>SNAI2</i>	snail homológ 2 (drozofila)
	<i>CFLAR</i>	CASP8 a FADD podobný regulátor apoptózy		<i>SNAI3</i>	snail homológ 3 (drozofila)
	<i>FASLG</i>	Fas ligand		<i>SOX10</i>	SRY box 10
	<i>NOL3</i>	nukleolárny proteín 3		<i>ACLY</i>	ATP citrát lyáza
	<i>XIAP</i>	X-chromozómový inhibítor apoptózy		<i>ACSL4</i>	Acyl-CoA syntetáza dlhých reťazcov 4
Bunkový cyklus	<i>AURKA</i>	aurora kináza A	Metabolizmus	<i>ATP5A1</i>	mitoch. ATP syntáza α podj. 1
	<i>CCND2</i>	cyklín D2		<i>COX5A</i>	cytochróm c oxidáza, podj. 5A
	<i>CCND3</i>	cyklín D3		<i>CPT2</i>	karnitín palmitoyl transferáza 2
	<i>CDC20</i>	CDC20 homológ (S. cerevisiae)		<i>G6PD</i>	glukóza-6-P dehydrogenáza
	<i>E2F4</i>	E2F transkripčný faktor 4		<i>GPD2</i>	glycerol-3-P dehydrogenáza 2
	<i>MCM2</i>	komponent komplexu údržby mini-chromozómov 2		<i>LPL</i>	lipoproteínová lipáza
	<i>MKI67</i>	marker proliferácie Ki-67		<i>PFKL</i>	pečeňová fosfofruktokináza
	<i>SKP2</i>	proteín 2 asociovaný s S-fázovou kinázou		<i>UQCRF51</i>	Rieskeho Fe-S proteín
	<i>STMN1</i>	stathimín 1		<i>DKC1</i>	dyskerín
	<i>WEE1</i>	wee1 homológ (S. pombe)		Teloméry a telomerázy	<i>PINX1</i>
<i>BMI1</i>	BMI1 proto-onkogén	<i>TEP1</i>	s telomerázou asoc. proteín 1		
<i>ETS2</i>	ETS proto-onkogén 2, transkripčný faktor	<i>TERF1</i>	na telomérne opakovania viažuci sa faktor 1		
<i>IGFBP3</i>	inzulínu podobný rastový faktor-viažuci proteín 3	<i>TERF2IP</i>	telomérny proteín 1 interagujúci s TERF2		
<i>IGFBP5</i>	IGFB proteín 5	<i>TINF2</i>	TERF1-interagujúci jadrový faktor 2		
<i>IGFBP7</i>	IGFB proteín 7	<i>TNKS</i>	tankyráza		
<i>MAP2K1</i>	MAP kináza kináza 1	<i>TNKS2</i>	tankyráza 2		
<i>MAP2K3</i>	MAP kináza kináza 3	Hypoxia	<i>ADM</i>		adrenomedulín
<i>MAPK14</i>	MAP kináza 14		<i>ARNT</i>		jadrový translokátorový proteín
<i>SERPINB2</i>	inhibítor typu 2 plazmogénového aktivátora		<i>CA9</i>		karbonická anhydráza 9
<i>SOD1</i>	superoxid dizmutáza 1		<i>EPO</i>	erytropoetín	
<i>TBX2</i>	T-box 2		<i>HMOX1</i>	hemoxygenáza 1	
			<i>LDHA</i>	laktát dehydrogenáza A	
		<i>SLC2A1</i>	glukózový transportér 1		

ATP – adenosíntrifosfát, Bcl-2 – B-cell lymphoma 2, CoA – koenzým A, FADD – Fas associated death domain, MAP – mitogen protein activated, VEGF – vaskulárny endoteliálny rastový faktor

Tab. 3. Násobky zmien regulácie génov.

Deregulované gény jednotlivých typov nádorov korelované oproti kontrolnej skupine (n = 3) sú identifikované hrubým písmom. Podregulované zmeny sú vyjadrené znamienkom „mínus“ pred číselnou hodnotou. Pri štatisticky významných rozdieloch je znázornená príslušná p-hodnota: \* < 0,05; \*\* < 0,01 a \*\*\* < 0,001.

Dráha	Gén	Násobná podregulácia/nadregulácia			Dráha	Gén	Násobná podregulácia/nadregulácia		
		MNG	AST	GBM			MNG	AST	GBM
Angiogenéza	ANGPT2	<b>4,73</b>	<b>3,35</b>	1,76	Epiteliálno-mezenchymálna tranzícia	CDH2	<b>-2,13</b>	-1,86	<b>-23,68***</b>
	CCL2	<b>3,07</b>	1,99	-1,14		DSP	<b>-2,21</b>	1,00	<b>35,13</b>
	FGF2	1,11	<b>3,19</b>	-1,48		FOXC2	-1,23	1,09	<b>54,77*</b>
	FLT1	<b>-4,20*</b>	1,46	<b>-3,55</b>		GSC	<b>128,47*</b>	<b>305,28*</b>	<b>24,05</b>
	KDR	-1,27	2,5	1,46		KRT14	1,42	<b>8,29</b>	<b>4,00</b>
	PGF	<b>3,81</b>	<b>21,02</b>	<b>14,10*</b>		OCLN	<b>-2,26</b>	<b>2,04</b>	-1,45
	SERPINF1	-1,01	-1,7	<b>5,18</b>		SNAI1	<b>1,08</b>	<b>2,51</b>	-1,16
	TEK	<b>-4,21</b>	-1,74	1,05		SNAI2	<b>5,29</b>	1,76	<b>12,67*</b>
	VEGFC	<b>-15,54</b>	<b>-3,76</b>	-1,46		SNAI3	<b>-3,14</b>	1,51	<b>-3,85</b>
Apoptóza	APAF1	-1,71	<b>5,87</b>	1,41		SOX10	<b>-28,7</b>	<b>-5,04</b>	<b>-247,79***</b>
	BCL2L11	<b>2,16</b>	<b>4,11</b>	1,74	ADM	<b>2,79</b>	<b>-3,47</b>	-1,51	
	BIRC3	2,01	1,79	1,16	CA9	<b>24,34</b>	<b>5,14</b>	<b>2,03</b>	
	CASP2	2,44	<b>2,89</b>	1,89	EPO	<b>2,56</b>	<b>2,94</b>	-1,39	
	CASP9	1,22	<b>2,85*</b>	1,02	HMOX1	<b>8,49</b>	<b>5,11*</b>	<b>2,11</b>	
	CFLAR	1,58	<b>4,46*</b>	2,21	SLC2A1	<b>-2,58</b>	<b>-4,02</b>	<b>-12,83***</b>	
	FASLG	<b>132,54</b>	<b>608,45</b>	<b>125,23</b>	ACSL4	<b>-2,78**</b>	-1,43	<b>-2,48***</b>	
	XIAP	-1,44	<b>2,60*</b>	-1,47	COX5A	-1,78	-1,37	<b>-2,75***</b>	
	BMI1	<b>-3,71***</b>	<b>3,28*</b>	<b>-2,47*</b>	CPT2	-1,26	<b>3,46</b>	-1,62	
Bunkové starnutie	ETS2	<b>-4,67***</b>	<b>-2,06</b>	<b>-2,57</b>	Metabolizmus	GPD2	-1,94	1,12	<b>-2,43</b>
	IGFBP3	<b>4,78</b>	1,06	<b>-2,32</b>		LPL	<b>4,1</b>	<b>6,72</b>	-1,5
	IGFBP5	<b>5,06</b>	-1,27	<b>11,35</b>		PFKL	-1,85	-1,18	-2,14
	IGFBP7	<b>4,56</b>	<b>2,81</b>	<b>2,28</b>		UQCRCF1	<b>-2,57*</b>	<b>-2,26</b>	<b>-2,99*</b>
	MAP2K1	<b>-6,32***</b>	<b>-3,58**</b>	<b>-5,68***</b>		DDB2	1,89	1,73	<b>2,97*</b>
	MAP2K3	<b>4,17</b>	<b>2,01</b>	<b>3,15</b>		DDIT3	<b>2,67</b>	1,23	-1,09
	SERPIN2	1,34	<b>2,7</b>	-1,32		ERCC3	<b>-2,21</b>	-1,19	<b>-2,95**</b>
	SOD1	<b>-2,33</b>	-1,65	<b>-2,00*</b>		ERCC5	1,16	<b>4,05</b>	1,63
	TBX2	<b>8,59</b>	<b>5,76</b>	<b>4,21</b>		GADD45G	1,33	<b>7,78*</b>	-1,72
Bunkový cyklus	AURKA	1,36	<b>2,51</b>	-1,16	Poškodenie a oprava DNA	LIG4	-3,16	<b>2,08</b>	-2,71*
	CCND2	1,96	<b>4,34</b>	-1,42		DKC1	-1,03	<b>2,78</b>	1,92
	CCND3	-1,42	-1,01	<b>-2,38</b>		PINX1	1,14	<b>3,87</b>	-1,28
	CDC20	<b>7,14</b>	<b>6,85*</b>	<b>2,3</b>		TEP1	<b>2,66</b>	<b>4,34*</b>	<b>4,70***</b>
	MCM2	1,6	<b>2,34</b>	-1,33		TERF2IP	<b>-3,75***</b>	<b>-3,91</b>	<b>-4,79***</b>
	MKI67	<b>228,63</b>	<b>183,63</b>	<b>32,55</b>		TNKS	-1,63	1,12	<b>-3,71***</b>
	STMN1	<b>-10,70***</b>	1,22	<b>-8,67***</b>		TNKS2	<b>-4,32**</b>	-1,14	<b>-2,24***</b>
	WEE1	<b>14,07</b>	<b>51,29</b>	<b>12,60*</b>					

AST – astrocytóm, GBM – glioblastóm, MNG – meningióm

avšak signifikantná negatívna regulácia sa potvrdila iba u GBM. U AST skupiny bol ale gén *LIG4* mierne nadregulovaný (2,08;  $p > 0,05$ ). Gén *DDB2* (2,97) u glioblastómov, *DDIT3* (2,67) u meningiómov a gény *ERCC5* (4,05) a *GADD45G* (7,78) u astrocytómov sme identifikovali ako nadregulované a to s rôznou hodnotou štatistickej významnosti (tab. 3).

### Epiteliálno-mezenchymálna tranzícia

Epiteliálno-mezenchymálna tranzícia alebo prechod (EMT) je vysoko dynamický proces, ktorým epitelové bunky získavajú mezenchymálny fenotyp. Hoci bunky glioblastómu nie sú epitelové, môžu podstúpiť proces podobný EMT. Táto udalosť je taktiež spojená s metastatickou expanziou nádorových buniek s charakteristikami kmeňových buniek, čo v konečnom dôsledku ovplyvňuje odpoveď na terapiu a spôsobuje rezistenciu. Najvýraznejšie zmeny v expresii sme zaznamenali v génoch *GSC* a *SOX10* (tab. 3). U meningiómov a astrocytómov sme zaznamenali vysoké hodnoty nadregulácie *GSC* so štatistickou významnosťou (128,47\* a 305,28\*). Expresia génu *SOX10* bola výrazne podregulovaná (−247,79;  $p < 0,001$ ) u glioblastómovej skupiny. Štatisticky významné deregulácie sme ďalej zaznamenali u génov *CDH2*, *FOXC2* a *SNAI2* všetky prítomné v skupine glioblastómov.

### Hypoxia

Hypoxia je bežným znakom solídnych nádorov spojená so zvýšenou chemoradiorezistenciou a zlou prognózou pacienta. Bunky na hypoxiu odpovedajú prostredníctvom hypoxiou indukovaných faktorov (HIF). HIF kontrolujú expresiu mnohých génov, zabezpečujúc tak ich prežitie aj pri nízkych koncentráciách kyslíka. V súčasnosti bolo identifikovaných niekoľko alternatívnych dráh, ktoré prispievajú k celkovej reakcii a adaptácii na hypoxické prostredie. Zo siedmich vyšetovaných génov sme identifikovali 2 štatisticky významné – *HMOX1* (5,11;  $p < 0,05$ ) u astrocytómov a *SLC2A1* (−12,83;  $p < 0,001$ ) u glioblastómov (tab. 3).

### Metabolizmus

V tejto skupine sa nachádzajú reprezentatívne gény spojené s mitochondriál-

nou funkciou a metabolizmom glukózy a mastných kyselín. Vo väčšine sledovaných génov sme detegovali zníženie expresie (tab. 3) z toho medzi štatisticky významné gény patria *ACSL4* (MNG a GBM), *COX5A* a *UQCRCF1* (GBM). U žiadneho zo sledovaných génov bunkového metabolizmu, ktorého expresia bola zvýšená, nebola identifikovaná  $p$ -hodnota  $< 0,05$ .

### Teloméry a telomerázy

Čo sa týka skupiny génov kódujúcich telomerázu a génov regulujúcich predĺžovanie telomér, nadregulácia *TEP1* génu bola zaznamenaná vo všetkých vyšetovaných skupinách, u GBM a AST so štatistickou významnosťou (4,70;  $p < 0,001$  a 4,34;  $p < 0,05$ ). Naproti tomu expresia génov *TERF2IP* a *TNKS2*, pre MNG a GBM, ako aj glioblastómová *TNKS*, boli oproti kontrolnej skupine signifikantne znížené (tab. 3).

### Diskusia

Glioblastóm je najrozšírenejšou formou primárneho mozgového nádoru a jeden z najsmrteľnejších ľudských nádorov [4], ktorý predstavuje maximálne štádium progresie astrocytómu klasifikovaného podľa histopatologických a molekulárnych charakteristík do štyroch stupňov malignity (I–IV) [1]. Zároveň, tento najčastejšie sa vyskytujúci gliálny nádor je asociovaný so zlou prognózou [5]. Napriek agresívnej multimodálnej terapii pozostávajúcej z chirurgickej resekcie, ožarovania a chemoterapie alkylačným činidlom temozolomid, je priemerná doba prežívania pacientov s GBM približne 12–15 mesiacov od diagnostikovania ochorenia [5,6]. Navzdory desaťročiam výskumu je neustále potrebné detailné pochopenie molekulárnych mechanizmov zapojených do tumorigenézy, invazívneho správania rakovinových buniek a progresie nádoru s možnosťou odhalenia potenciálnych markerov a prispenia k efektívnejšej terapii.

Cieľom našich experimentov bola všeobecná charakterizácia mozgových nádorov na transkriptomickú úroveň. Testovanú skupinu tvorili biopsie od pacientov s histologicky potvrdeným meningiómom, glioblastómom a as-

trocytómom. Kontrolnú skupinu reprezentovali komerčne dostupné RNA izolované zo zdravých ľudských mozgov. Takto jednoznačne definovaná kontrolná skupina predstavovala výnimočnosť našej korelačnej analýzy oproti viacerým štúdiám, kde brali do úvahy RNA získanú od epileptických pacientov alebo astrocytovej línie [7,8]. Výber správnej biologickej kontroly je jedným z rozhodujúcich faktorov pri definovaní výsledkov transkriptomických analýz a selekcie deregulovaných génov, na čo sme poukázali aj nedávnou štúdiou na nádorových líniiach mozgu [9]. Metódou kvantitatívnej RT-PCR sme pomocou array-e v 96-jamkovom formáte Cancer PathwayFinder™ sledovali relatívnu expresiu génov rozdelených do 9 signálnych dráh, ktorých deregulácia môže mať vplyv na tumorigenézu. Zo všetkých sledovaných génov sme zaznamenali dereguláciu v 44 génoch u meningiómov, v 42 génoch u glioblastómov a v 45 génoch u astrocytómov. Z nich deregulácia 23 % (MNG), 47 % (GBM) a 22 % (AST) génov bola aj štatisticky významná. Nadreguláciu sme identifikovali v 24 génoch u meningiómov, 20 (GBM) a 37 u AST, naopak zníženú expresiu sme zachytili u 20 (MNG), 22 (GBM) a 8 (AST) sledovaných prípadov.

Angiogenéza, ako jeden z charakteristických znakov rakoviny [2,10], hrá kľúčovú úlohu pri raste nádoru prostredníctvom aktivácie onkogénov a/alebo podregulácie tumor supresorových génov, čo v konečnom dôsledku vedie k nadregulácii angiogénnych dráh [11]. Spomedzi rôznych solídnych nádorov je glioblastóm jedným z vysoko angiogénnych a vyznačuje sa nadmernou vaskulárnou proliferáciou [12], čo však neplatí u gliómoch a meningiómoch nízkeho stupňa [13]. Na rozdiel od publikovaných výsledkov, kde identifikovali prevažne zvýšenú produkciu proteínov rodiny VEGF [14–16], sme potvrdili zníženie expresie génu *VEGFC* a to vo všetkých sledovaných skupinách nádorov. Vysoké hladiny mRNA pre VEGF boli pozorované práve v centrálnych oblastiach glioblastómov [17,18]. Na základe tohto zistenia by sme mohli predpokladať, že nami analyzované bioptické tkanivo pochádzalo z okrajovej časti nádoru a nie

z jeho nekrotického jadra, resp. že do angiogenézy sú zapojené aj ďalšie proteíny z rodiny VEGF, ktorých expresiu sme nestanovovali. Na druhej strane expresia *PGF* bola konštantne zvýšená u všetkých sledovaných skupín, u GBM aj so štatistickou významnosťou. Výsledky sa zhodujú aj s prácou iných vedeckých skupín, ktoré identifikovali zvýšenú expresiu *PGF* u gliómov [19] a meningiómov [20], bez ohľadu na grading.

Rakovinové bunky v okolí nekrotického jadra trpia nedostatkom živín a kyslíka. Transkripčný faktor HIF-1 reguluje správanie nádoru za hypoxických podmienok ovplyvňujúc génovú expresiu rastových faktorov [21]. Jedným z mnohých génov, ktorých expresia je počas hypoxie indukovaná HIF-1 je *HMOX1*. Nakoľko činnosť *HMOX1* indukuje angiogenézu, je tento enzým vhodným markerom neovaskularizácie gliómov [22,23]. Naše zistenia sú v súlade so súčasnou literatúrou [24,25], no štatistická významnosť bola preukázaná iba v prípade zvýšenej expresie *HMOX1* u AST. Za hypoxických a v niektorých prípadoch aj normoxických podmienok rakovinové bunky preferujú ako zdroj energie molekuly ATP získané glykolýzou. Energetická bilancia glykolýzy je v porovnaní s oxidatívnou fosforyláciou veľmi nízka, rakovinové bunky preto potrebujú zvýšiť príjem glukózy a to nadprodukciou glukózových prenášačov, najmä GLUT1 a GLUT3, ktoré sú indukované hypoxiou [26,27]. Napriek preukázateľnej expresii génu *SLC2A1* (kódujúci GLUT1) v mozgových nádoroch [28,29], sa nám nepodarilo identifikovať zvýšenú hladinu génu v našich vzorkách, dokonca sme so štatistickou významnosťou identifikovali pokles expresie génu u GBM; čo môže naznačovať aeróbnou tvorbu energie, pretože je známe, že nádorové bunky sú schopné voľne „prepínať“ medzi aeróbnym a anaeróbnym metabolizmom [28], či anaplerotické dopĺňanie metabolitov Krebsovej cyklu napr. z glutamínu [30]. Zaujímavou je štúdia Silvu a kolektívu, ktorí vo vzorkách meningiómov identifikovali znížené množstvo GLUT1 u žien v porovnaní s mužmi [31]. To môže podporovať naše výsledky, nakoľko väčšina bioptických vzoriek nášho súboru meningiómov pochádzala od pacientiek.

Väčšina úmrtí u pacientov súvisiacich s onkologickým postihnutím je spájaná s metastatickým charakterom nádoru [32]. U mozgových nádorov a GBM sú extrakraniálne metastázy zriedkavé [33]. Častejším javom je migrácia gliómových buniek do oblastí mozgu vzdialených od primárneho tumoru [3,34]. Epiteliálno-mezenchymálna tranzícia je proces, v ktorom epiteliálne bunky strácajú epiteliálne charakteristiky získajúc mezenchymálny fenotyp vedúci ku zvýšenej mobilite a rezistencii [35]. Kadheríny tvoria skupinu transmembránových proteínov podieľajúcich sa na stavbe medzibunkových spojov [36]. Expresia génu *CDH2* kódujúceho N-kadherín, proteín zabezpečujúci bunkovú adhéziu, bola u MNG, AST aj GBM znížená (u GBM štatisticky významne). Strata expresie *CDH2* ale vedie ku polarizácii a abnormálnej pohyblivosti, čo významne zvyšuje migráciu a invazívny charakter nádorových buniek [37,38]. Na druhej strane, u arachnoidálnych buniek a meningiómov je prevažne exprimovaný *CDH1* kódujúci E-kadherín [36], čo vysvetľuje nami zaznamenanú zníženú expresiu *CDH2* v patientských biopsiách MNG. medzi transkripčné faktory zapojené do EMT-podobného procesu patria proteíny *SNAI* rodiny, najmä *SNAI1* a *SNAI2* [39,40], na rozdiel od *SNAI3*, ktorého schopnosť indukcie EMT je veľmi slabá [41]. Z vyšetovaných *SNAI* génov sa nám podarilo identifikovať nadreguláciu génu *SNAI1* a *SNAI2* a podreguláciu *SNAI3*. Štatisticky významná zmena bola pozorovaná iba pri nadexpresii *SNAI2* u GBM. Ďalším proteínom pozitívne ovplyvňujúcim EMT a invazívny charakter nádorových buniek je protoonkogénom kódovaný transkripčný faktor *FOXC2*. Zaujímavé zistenia publikovali Wang et al., ktorí RT-PCR metódou analyzovali expresiu *FOXC2* u astrocytómov (I–III) a glioblastómov (IV). Ich výsledky naznačujú pozitívnu závislosť medzi stupňom malignity a vysokou expresiou *FOXC2* [42]. Tieto zistenia korelujú s výsledkami našich analýz – u GBM sme identifikovali až 54-násobne zvýšenú ( $p < 0,05$ ) expresiu *FOXC2* oproti kontrolnej vzorke; u AST bola expresia výrazne nižšia (1,09-násobne vyššia na oproti kontrole).

Apoptóza je proces programovanej bunkovej smrti charakterizovanej nezápalovou bunkovou fragmentáciou. Proces apoptózy môže byť iniciovaný vnútornou alebo vonkajšou dráhou, čo vedie k proteolytickej aktivácii kaspáz a riadenej bunkovej smrti. Nádorové bunky si však vyvinuli mechanizmus na udržanie proliferatívnej signalizácie a vyhýbanie sa bunkovej smrti [43]. Signifikantnú zmenu expresie prokaspázových génov sme zaznamenali iba v prípade *CASP9* (2,85;  $p < 0,05$ ) a výlučne u astrocytómov. Tirapelli et al. sledovali zmeny v expresii apoptotických génov v bioptickom tkanive meningiómov. U *CASP9* nezachytili v zmenách žiadnu signifikanciu, naopak z antiapoptotických génov pozorovali nadexpresiu v *XIAP* [44]. *XIAP*, člen rodiny apoptotických inhibítorov, inhibuje apoptózu väzbou na kaspázu 9 a efektorové kaspázy 3 a 7 [45]. Murphy et al. identifikovali zníženú expresiu *XIAP* génu u pacientov s GBM a rôzne hladiny expresie v glioblastómových bunkových líniiach [46]. Podreguláciu v géne *XIAP* sme identifikovali v GBM a MNG skupine, no u pacientov s astrocytómom bola expresia *XIAP* zvýšená viac ako dvojnásobne (2,60;  $p < 0,05$ ). Rôznorodosť výsledkov môže vysvetľovať výber kontrolnej skupiny, ale aj fakt, že niektorí pacienti podstúpili pred operáciou liečbu, čo sa mohlo odraziť na odpovedi nádoru apoptózou. *CFLAR* je ďalším z mnohých antiapoptotických génov. Kóduje štruktúrny homolog iniciatívnej kaspázy 8, čím zabraňuje šíreniu apoptotického signálu [47]. Nadreguláciu v tomto géne sme pozorovali vo všetkých skúmaných skupinách nádorov (AST 4,46;  $p < 0,05$ ), čo naznačuje ochranu nádorových buniek pred apoptózou vyvolanou vonkajšími podnetmi na receptoroch smrti.

Starnutie bunky je ireverzibilný proces zastavenia rastu [48]. *BMI1* pôsobí ako transkripčný represor génov regulujúcich bunkovú diferenciáciu a proliferáciu [49]. Jeho absencia má na tieto procesy negatívny dopad [50]. Expresia *BMI1* je zvýšená u viacerých typov nádorov vrátane mozgových [51,52]. Nám sa však podarilo zachytiť nárast expresie iba u AST (3,28;  $p < 0,05$ ). Ďalším transkripčným faktorom regulujú-

cim apoptotické, angiogénne a diferenciáciu zabezpečujúce gény je *ETS2* [53]. Výsledky našej práce sa zhodujú s transkriptomickou analýzou Babalu et al., kde od pacientov s gliómom zaznamenali zníženú expresiu *ETS2* a to bez ohľadu na stupeň malignity [54]. My sme navyše u MNG vzoriek potvrdili aj štatistickú významnosť ( $p < 0,001$ ). Superoxid dízmutáza 1 kódovaná génom *SOD1* je enzým premieňajúci voľné superoxidové radikály na telu menej škodlivý peroxid vodíka a kyslík [55]. U glioblastómov bol identifikovaný pokles v expresii *SOD1*, ktorý je spájaný s lepšou odpoveďou na rádioterapiu a prognózou pre pacientov [56,57]. Rovnaké výsledky sme analýzou získali aj my – expresia *SOD1* bola u GBM oproti zdravému mozgovému tkanivu 2× znížená ( $p < 0,05$ ). Mitogénom aktivovaná proteín kináza 1 (*MAP2K1*) je súčasťou Ras/*MAPK* dráhy, zohrávajúcou kľúčovú úlohu v prenose chemických signálov v rámci bunky [58]. Jej expresia bola vo všetkých vyšetovaných vzorkách štatisticky významne znížená (MNG  $-6,32$ ,  $p < 0,001$ ; GBM  $-5,68$ ,  $p < 0,001$ ; AST  $-3,58$ ,  $p < 0,01$ ), čo koreluje aj s výsledkami na gliómoch s nižším stupňom malignity [58,59].

Hlavným cieľom bunkového cyklu je zabezpečenie presnej replikácie DNA v S fáze a konečné vytvorenie dvoch identických dcérskych buniek v mitotickej fáze. Deregulácie dráh bunkového cyklu sú charakteristické pre viaceré nádorové ochorenia. Vďaka tomu môžu rakovinové bunky uniknúť bunkovej smrti a starntiu, čo sa prejaví nadmernou proliferáciou a rastom nádoru [60]. *STMN1* je onkoproteín distribuovaný v cytoplazme buniek regulujúci kinetiku mikrotubulov [61]. Tým vplyva na riadenie bunkového cyklu, proliferácie a diferenciácie [62]. Mnohé štúdie poukazujú na zvýšenú expresiu *STMN1* u rôznych ľudských malignít [63–65], ako aj u glioblastómov [66] a meningiómov. Autori Wang et al. korelovali expresiu *STMN1* so stupňom malignity. V porovnaní s benignými meningiómami (WHO stupeň malignity I) bola expresia *STMN1* u MNG II/III štatisticky významne zvýšená [67]. Našimi analýzami sme identifikovali štatisticky významnú podreguláciu *STMN1* u MNG a GBM, čo naznačuje zníženú bunkovú proliferáciu

a migráciu nádorových buniek. Ďalším kľúčovým regulátorom bunkového cyklu je Wee1 kináza. Jej hlavnou úlohou je zastavenie progresie bunkového cyklu na prechode z G2 do mitotickej fázy u buniek s poškodenou DNA [68]. Nadregulácia expresie *WEE1* spojená so zhoršeným prežívaním pacientov [69,70] bola dokázaná aj u glioblastómov [71,72]. Naše zistenia potvrdzujú predchádzajúce poznatky – niekoľkonásobný nárast expresie *WEE1* bol identifikovaný vo všetkých sledovaných nádorových skupinách.

Ľudské teloméry sú tandemové nukleotidové opakovania krátkej DNA sekvencie asociované s rôznymi teloméry-viažucimi proteínmi, ktoré majú zväčša ochrannú funkciu [73]. V bunkách vyžadujúcich nepretržitú obnovu (napr. v kmeňových bunkách) je dĺžka časom skrácovaných telomér udržiavaná telomerázou. Telomeráza je neaktívna vo väčšine maturovaných buniek, avšak je často reaktivovaná u buniek rakovinových [74]. S telomerázou asociovaný proteín 1 (*TEP1*) sa považuje za štruktúrnu podjednotku telomerázy a je spájaný s jej aktiváciou. Vo vzorkách GBM, AST aj MNG sme identifikovali výrazne zníženú expresiu génu *TEP1*. Iní autori však nezaznamenali rozdiely v jeho expresii oproti zdravému tkanivu, či bunkám normálnych ľudských astrocytov [75]. Tankyrázy (*TNKS*, *TNKS2*) sú proteíny podieľajúce sa na udržiavaní dĺžky telomér [76], čo je spolu s reguláciou Wnt/ $\beta$ -katenín dráhy dôležité pre obnovu a prežívanie rakovinových buniek [77]. Shervington et al. pozorovali zvýšenú expresiu *TNKS* u glioblastómových bunkových línií v porovnaní s normálnymi ľudskými astrocytmi, pri bioptických vzorkách však rozdiely v expresii nestanovili, nakoľko *TNKS* bol exprimovaný u GBM aj v zdravom mozgovom tkanive [75]. Táto skutočnosť môže vysvetľovať prečo sme vo všetkých nádorových skupinách identifikovali zníženie expresie *TNKS* aj *TNKS2*.

Hlavnou úlohou DNA opravných mechanizmov je odpoveď na poškodenie DNA indukované vonkajšími faktormi prostredia [78]. Mutácie v týchto génoch môžu viesť k obmedzenej až defektnej schopnosti opravy DNA a akumulácii poškodenej DNA, čo v konečnom dôsledku zvyšuje riziko vzniku rakoviny.

Na druhej strane, nádorové bunky nadmerne exprimujú gény DNA opravných mechanizmov, čo má za následok väčšiu opravnú kapacitu spojenú s rezistenciou na liečbu [79]. *DDB2* je považovaný za tumor supresorový gén [80]. Jeho proteínový produkt *DDB2* sa podieľa na mechanizme opravy DNA vytváraním medzivláknových krížových väzieb, ktorého funkčnosť je spájaná s dobrou prognózou u pacientov s glioblastómom. Naproti tomu nízka expresia *DDB2* znamená zhoršenú prognózu [81,82]. Nami získané výsledky boli v súlade s údajmi v dostupnej literatúre, avšak štatisticky štatisticky významné násobné zvýšenie expresie *DDB2* sme zaznamenali iba u glioblastómov (2,97;  $p < 0,05$ ).

Jedným z charakteristických znakov nádorových ochorení je reprogramovanie metabolických dráh [83]. *ACSL4* patrí do rodiny syntetáz acyl-CoA s dlhým reťazcom [84], ktorej primárnym substrátom je arachidonát [85]. Expresia *ACSL4* sa u rôznych typoch nádorov líši – zatiaľ čo u nádorových ochorení močového mechúra, prsníka alebo pľúc je expresia znížená, u kolorektálnych karcinómov, myelómov či tumorov pečene je expresia výrazne zvýšená [86]. U mozgových nádorov je gén *ACSL4* podregulovaný, čo je vo všeobecnosti spájané so zlou prognózou pre pacientov [86,87]. Výsledky získané našou analýzou sa zhodujú s poznatkami ostatných autorov, nakoľko u všetkých 3 skupín sme identifikovali pokles v expresii *ACSL4*, u AST a GBM aj so štatistickou významnosťou.

V nádorových bunkách je prítomná vysoká glykolytická aktivita aj za aeróbnych podmienok, pričom samotné glykolytické enzýmy sa môžu využívať ako terapeutické ciele pri liečbe glioblastómu [88]. Rozsiahlu štúdiu expresie vybraných metabolických génov zapojených do glukózového metabolizmu a oxidačnej fosforylácie u gliómov iba nedávno publikoval kolektív autorov Stanke, Wilson a Kidambi [89]. Glukóza-6-fosfát dehydrogenáza (*G6PD*) je enzým pentózového cyklu katalyzujúci redukciu  $NADP^+$  na  $NADPH$ . Expresia *G6PD* bola u GBM pacientov oproti kontrolnej skupine štatisticky významne znížená a v porovnaní s astrocytómami s nižším gradingom zas zvýšená. Naše výsledky

korelujú so štúdiou Stankeho et al., avšak pravdepodobne kvôli nízkemu počtu vzoriek v jednotlivých skupinách nie sú pozorované zmeny signifikantné.

COX5A je jednou z troch podjednotiek cytochróm c oxidázy – komplexu IV dýchacieho reťazca kódovaných mitochondriálnou DNA [90]. COX5A aj gén kódujúci ďalšiu podjednotku komplexu III UQCRB, sú u pacientov s glioblastómom v porovnaní so zdravými jedincami podregulované. Naopak, pri porovnaní s expresiou u gliómov s nižším stupňom malignity je expresia COX5A u GBM signifikantne zvýšená a UQCRB na približne rovnakej úrovni. Znížená expresia bola tiež korelovaná so zlou prognózou [89]. Aj v našom súbore sme boli schopní identifikovať poklesy v expresii týchto génov a to vo všetkých skúmaných skupinách. Zvýšenie expresie génov glykolyzy, pentózoového cyklu a dýchacieho reťazca u GBM naznačuje metabolické zmeny pri progresii z astrocytómom s nižším gradíngom. Avšak pokles v expresii génov oxidáčnej fosforylácie by mohol vysvetľovať prítomnosť hypoxických oblastí obklopených pseudopalisádovými bunkami hlavne u nádorov s vyšším stupňom malignity (GBM) naznačujúc, že cieleňenie na glykolytické enzýmy môže byť zaujímavou stratégiou pre liečbu agresívnych mozgových nádorov [88].

## Záver

V ostatných rokoch bolo študovaných množstvo látok, ktoré vykazovali rôznu mieru úspešnosti v predklinických, či klinických testoch, avšak žiadna neprekázala dostatočne pozitívne výsledky pre predĺženie života alebo zlepšenie jeho kvality u pacientov s mozgovými nádormi. Preto je dôležité neustále hľadať nové terapeutické ciele, ktorých inhibícia by mohla zamedziť invazívnemu charakteru a rastu mozgového nádoru a zlepšiť prežívanie pacientov. Najvýraznejšia zmena expresie bola zaznamenaná v génoch EMT, kedy sme zachytili zníženie expresiu v génoch *CDH2* a *SOX10* so štatistickou významnosťou v glioblastómovej skupine a štatisticky zvýšenú expresiu génov *FOXC2* (u GBM), *GSC* (u AST a MNG) a *SNAI2* (u GBM). Ďalšími génmi, u ktorých sme zaznamenali štatisticky významné zmeny v expresii sú gény re-

gulujúce bunkové starnutie, dynamiku telomér a opravné mechanizmy DNA poškodenia. Našou kvantitatívnou analýzou sme poukázali na odlišne exprimované gény kódujúce proteíny, ktorých inhibícia by mohla mať vplyv na prežívanie mozgových rakovinových buniek a prispieť k personalizovanej terapii.

## Podporujúca agentúra a sponzori

Táto práca bola podporovaná Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-18-0088.

## Literatúra

- Louis DN, Perry A, Wesseling P et al. The 2021 WHO classification of tumors of the central nervous system: a summary. *Neuro Oncol* 2021; 23(8): 1231–1251. doi: 10.1093/neuonc/noab106.
- Norøxe DS, Poulsen HS, Lassen U. Hallmarks of glioblastoma: a systematic review. *ESMO Open* 2017; 1(6): e000144. doi: 10.1136/esmoopen-2016-000144.
- Altieri R, Zenga F, Fontanella MM et al. Glioma surgery: technological advances to achieve a maximal safe resection. *Surg Technol Int* 2015; 27: 297–302.
- Agnihotri S, Burrell KE, Wolf A et al. Glioblastoma, a brief review of history, molecular genetics, animal models and novel therapeutic strategies. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2013; 61(1): 25–41. doi: 10.1007/s00005-012-0203-0.
- Wen PY, Kesari S. Malignant gliomas in adults. *N Engl J Med* 2008; 359(5): 492–507. doi: 10.1056/NEJMra0708126.
- Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med* 2005; 352(10): 987–996. doi: 10.1056/NEJMoa043330.
- Blahovcova E, Richterova R, Kolarovszki B et al. Apoptosis-related gene expression in tumor tissue samples obtained from patients diagnosed with glioblastoma multiforme. *Int J Mol Med* 2015; 36(6): 1677–1684. doi: 10.3892/ijmm.2015.2369.
- Narsia N, Ramagiri P, Ehrmann J et al. Transcriptome analysis reveals distinct gene expression profiles in astrocytoma grades II-IV. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2017; 161(3): 261–271. doi: 10.5507/bp.2017.020.
- Majercikova Z, Dibidiakova K, Gala M et al. Different approaches for the profiling of cancer pathway-related genes in glioblastoma cells. *Int J Mol Sci* 2022; 23(18): 10883. doi: 10.3390/ijms231810883.
- Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; 100(1): 57–70. doi: 10.1016/s0092-8674(00)81683-9.
- Takano S, Yamashita T, Ohneda O. Molecular therapeutic targets for glioma angiogenesis. *J Oncol* 2010; 2010: 351908. doi: 10.1155/2010/351908.
- Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta Neuropathol* 2007; 114(2): 97–109. doi: 10.1007/s00401-007-0243-4.
- Siedlecki Z, Nowak K, Grzyb S et al. Angiogenesis in brain tumors: gliomas and meningiomas – a review. *Eur J Mol Clin Med* 2021; 8(2): 2354–2359.
- Winter RC, Antunes ACM, de Oliveira FH. The relationship between vascular endothelial growth factor and histological grade in intracranial meningioma. *Surg Neurol Int* 2020; 11: 328. doi: 10.25259/SNI\_528\_2020.
- Reszec J, Hermanowicz A, Rutkowski R et al. Expression of MMP-9 and VEGF in meningiomas and their correlation with peritumoral brain edema. *Biomed Res Int* 2015; 2015: 646853. doi: 10.1155/2015/646853.
- Loureiro LVM, Neder L, Callegaro-Filho D et al. The immunohistochemical landscape of the VEGF family and its

- receptors in glioblastomas. *Surg Exp Pathol* 2020; 3(9). doi: 10.1186/s42047-020-00060-5.
- Plate KH, Breier G, Weich HA et al. Vascular endothelial growth factor is a potential tumour angiogenesis factor in human gliomas in vivo. *Nature* 1992; 359(6398): 845–848. doi: 10.1038/359845a0.
- Phillips H, Armani M, Stavrou D et al. Intense focal expression of vascular endothelial growth-factor messenger-RNA in human intracranial neoplasms – association with regions of necrosis. *Int J Oncol* 1993; 2(6): 913–919. doi: 10.3892/ijo.2.6.913.
- Schneider K, Weyerbrock A, Doostkam S et al. Lack of evidence for PlGF mediating the tumor resistance after anti-angiogenic therapy in malignant gliomas. *J Neurooncol* 2015; 121(2): 269–278. doi: 10.1007/s11060-014-1647-3.
- Hess K, Spille DC, Adeli A et al. Occurrence of fibrotic tumor vessels in grade I meningiomas is strongly associated with vessel density, expression of VEGF, PlGF, IGFBP-3 and tumor recurrence. *Cancers (Basel)* 2020; 12(10): 3075. doi: 10.3390/cancers12103075.
- Liao D, Johnson RS. Hypoxia: a key regulator of angiogenesis in cancer. *Cancer Metastasis Rev* 2007; 26(2): 281–290. doi: 10.1007/s10555-007-9066-y.
- Nishie A, Ono M, Shono T et al. Macrophage infiltration and heme oxygenase-1 expression correlate with angiogenesis in human gliomas. *Clin Cancer Res* 1999; 5(5): 1107–1113.
- El Andaloussi A, Lesniak MS. CD44+ CD25+ FoxP3+ T-cell infiltration and heme oxygenase-1 expression correlate with tumor grade in human gliomas. *J Neurooncol* 2007; 83(2): 145–152. doi: 10.1007/s11060-006-9314-y.
- Sferrazzo G, Di Rosa M, Barone E et al. Heme oxygenase-1 in central nervous system malignancies. *J Clin Med* 2020; 9(5): 1562. doi: 10.3390/jcm9051562.
- Ye W, Liu Z, Liu F et al. Heme oxygenase-1 predicts risk stratification and immunotherapy efficacy in lower grade gliomas. *Front Cell Dev Biol* 2021; 9: 760800. doi: 10.3389/fcell.2021.760800.
- Airley RE, Mobasher A. Hypoxic regulation of glucose transport, anaerobic metabolism and angiogenesis in cancer: novel pathways and targets for anticancer therapeutics. *Chemotherapy* 2007; 53(4): 233–256. doi: 10.1159/000104457.
- Pliszka M, Szablewski L. Glucose transporters as a target for anticancer therapy. *Cancers (Basel)* 2021; 13(16): 4184. doi: 10.3390/cancers13164184.
- van de Nes JA, Griewank KG, Schmid KW et al. Immunocytochemical analysis of glucose transporter protein-1 (GLUT-1) in typical, brain invasive, atypical and anaplastic meningioma. *Neuropathology* 2015; 35(1): 24–36. doi: 10.1111/neup.12148.
- Komaki S, Sugita Y, Furuta T et al. Expression of GLUT1 in pseudopalisaded and perivascular tumor cells is an independent prognostic factor for patients with glioblastomas. *J Neuropathol Exp Neurol* 2019; 78(5): 389–397. doi: 10.1093/jnen/nly124.
- Marie SK, Shinjo SM. Metabolism and brain cancer. *Clinics (Sao Paulo)* 2011; 66 (Suppl 1): 33–43. doi: 10.1590/s1807-59322011001300005.
- Silva JM, Wippel HH, Santos MDM et al. Proteomics pinpoints alterations in grade I meningiomas of male versus female patients. *Sci Rep* 2020; 10(1): 10335. doi: 10.1038/s41598-020-67113-3.
- Xu W, Yang Z, Lu N. A new role for the PI3K/Akt signaling pathway in the epithelial-mesenchymal transition. *Cell Adh Migr* 2015; 9(4): 317–324. doi: 10.1080/19336918.2015.1016686.
- Johansen MD, Rochat P, Law I et al. Presentation of two cases with early extracranial metastases from glioblastoma and review of the literature. *Case Rep Oncol Med* 2016; 2016: 8190950. doi: 10.1155/2016/8190950.
- Chaffer CL, Weinberg RA. A perspective on cancer cell metastasis. *Science* 2011; 331(6024): 1559–1564. doi: 10.1126/science.1203543.



35. Armento A, Ehlers J, Schötterl S et al. (2017) Molecular mechanisms of glioma cell motility. In: De Vleeschouwer S (ed). *Glioblastoma*. Brisbane: Codon Publications 2017: 73–93.
36. Noronha C, Ribeiro AS, Taipa R et al. Cadherin expression and EMT: a focus on gliomas. *Biomedicines* 2021; 9(10): 1328. doi: 10.3390/biomedicines9101328.
37. Asano K, Duntsch CD, Zhou Q et al. Correlation of N-cadherin expression in high grade gliomas with tissue invasion. *J Neurooncol* 2004; 70(1): 3–15. doi: 10.1023/b:neon.0000040811.14908.f2.
38. Camand E, Peglion F, Osmani N et al. N-cadherin expression level modulates integrin-mediated polarity and strongly impacts on the speed and directionality of glial cell migration. *J Cell Sci* 2012; 125(Pt 4): 844–857. doi: 10.1242/jcs.087668.
39. Wang HW, Menon LG, Black PM et al. SNAI2/Slug promotes growth and invasion in human gliomas. *BMC Cancer* 2010; 10: 301. doi: 10.1186/1471-2407-10-301.
40. Liu B, Dong H, Lin X et al. RND3 promotes Snail 1 protein degradation and inhibits glioblastoma cell migration and invasion. *Oncotarget* 2016; 7(50): 82411–82423. doi: 10.18632/oncotarget.12396.
41. Gras B, Jacquoud L, Wierinckx A et al. Snail family members unequally trigger EMT and thereby differ in their ability to promote the neoplastic transformation of mammary epithelial cells. *PLoS One* 2014; 9(3): e92254. doi: 10.1371/journal.pone.0092254.
42. Wang YW, Yin CL, Zhang HY et al. High expression of forkhead box protein C2 is related to poor prognosis in human gliomas. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014; 15(24): 10621–10625. doi: 10.7314/apjcp.2014.15.24.10621.
43. Wong RS. Apoptosis in cancer: from pathogenesis to treatment. *J Exp Clin Cancer Res* 2011; 30(1): 87. doi: 10.1186/1756-9966-30-87.
44. Tirapelli DP, Menezes SB, Franco IM et al. High expression of anti-apoptotic genes in grade I and II meningiomas. *Arq Neuropsiquiatr* 2017; 75(4): 209–215. doi: 10.1590/0004-282X20170027.
45. Deveraux QL, Roy N, Stennicke HR et al. IAPs block apoptotic events induced by caspase-8 and cytochrome c by direct inhibition of distinct caspases. *EMBO J* 1998; 17(8): 2215–2223. doi: 10.1093/emboj/17.8.2215.
46. Murphy AC, Weyhenmeyer B, Schmid J et al. Activation of executioner caspases is a predictor of progression-free survival in glioblastoma patients: a systems medicine approach. *Cell Death Dis* 2013; 4(5): e629. doi: 10.1038/cddis.2013.157.
47. Irmiler M, Thome M, Hahne M et al. Inhibition of death receptor signals by cellular FLIP. *Nature* 1997; 388(6638): 190–195. doi: 10.1038/40657.
48. Sharpless NE, Sherr CJ. Forging a signature of in vivo senescence. *Nat Rev Cancer* 2015; 15(7): 397–408. doi: 10.1038/nrc3960.
49. Schuringa JJ, Vellenga E. Role of the polycomb group gene BMI1 in normal and leukemic hematopoietic stem and progenitor cells. *Curr Opin Hematol* 2010; 17(4): 294–299. doi: 10.1097/MOH.0b013e328338c439.
50. Molofsky AV, Pardoll R, Iwashita T et al. Bmi-1 dependence distinguishes neural stem cell self-renewal from progenitor proliferation. *Nature* 2003; 425(6961): 962–967. doi: 10.1038/nature02060.
51. Abdouh M, Facchino S, Chatoo W et al. BMI1 sustains human glioblastoma multiforme stem cell renewal. *J Neurosci* 2009; 29(28): 8884–8896. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0968-09.2009.
52. Vora P, Seyfrid M, Venugopal C et al. Bmi1 regulates human glioblastoma stem cells through activation of differential gene networks in CD133+ brain tumor initiating cells. *J Neurooncol* 2019; 143(3): 417–428. doi: 10.1007/s11060-019-03192-1.
53. Fry EA, Inoue K. Aberrant expression of ETS1 and ETS2 proteins in cancer. *Cancer Rep Rev* 2018; 2(3): 10.15761/CRR.1000151. doi: 10.15761/CRR.1000151.
54. Babal YK, Kandemir B, Kurnaz IA. Gene regulatory network of ETS domain transcription factors in different stages of glioma. *J Pers Med* 2021; 11(2): 138. doi: 10.3390/jpm11020138.
55. Noor R, Mittal S, Iqbal J. Superoxide dismutase – applications and relevance to human diseases. *Med Sci Monit* 2002; 8(9): RA210–RA215.
56. Gao Z, Sarsour EH, Kalen AL et al. Late ROS accumulation and radiosensitivity in SOD1-overexpressing human glioma cells. *Free Radic Biol Med* 2008; 45(11): 1501–1509. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2008.08.009.
57. Lu WC, Xie H, Yuan C et al. Identification of potential biomarkers and candidate small molecule drugs in glioblastoma. *Cancer Cell Int* 2020; 20: 419. doi: 10.1186/s12935-020-01515-1.
58. Zhou Z, Peng B, Li J et al. Integrative pan-cancer analysis of MEK1 aberrations and the potential clinical implications. *Sci Rep* 2021; 11(1): 18366. doi: 10.1038/s41598-021-97840-0.
59. Cheaney B 2nd, Bowden S, Krause K et al. An unusual recurrent high-grade glioneuronal tumor with MAP2K1 mutation and CDKN2A/B homozygous deletion. *Acta Neuropathol Commun* 2019; 7(1): 110. doi: 10.1186/s40478-019-0763-x.
60. Gousias K, Theocharous T, Simon M. Mechanisms of cell cycle arrest and apoptosis in glioblastoma. *Biomedicines* 2022; 10(3): 564. doi: 10.3390/biomedicines10030564.
61. Ozon S, Maucuer A, Sobel A. The stathmin family – molecular and biological characterization of novel mammalian proteins expressed in the nervous system. *Eur J Biochem* 1997; 248(3): 794–806. doi: 10.1111/j.1432-1033.1997.t01-2-00794.x.
62. Devred F, Tsvetkov PO, Barbier P et al. Stathmin/Op18 is a novel mediator of vinblastine activity. *FEBS Lett* 2008; 582(17): 2484–2488. doi: 10.1016/j.febslet.2008.06.035.
63. Howitt BE, Nucci MR, Drapkin R et al. Stathmin-1 expression as a complement to p16 helps identify high-grade cervical intraepithelial neoplasia with increased specificity. *Am J Surg Pathol* 2013; 37(1): 89–97. doi: 10.1097/PAS.0b013e3182753f5a.
64. Hemdan T, Lindén M, Lind SB et al. The prognostic value and therapeutic target role of stathmin-1 in urinary bladder cancer. *Br J Cancer* 2014; 111(6): 1180–1187. doi: 10.1038/bjc.2014.427.
65. Sun R, Liu Z, Wang L et al. Overexpression of stathmin is resistant to paclitaxel treatment in patients with non-small cell lung cancer. *Tumour Biol* 2015; 36(9): 7195–7204. doi: 10.1007/s13277-015-3361-y.
66. Dong B, Mu L, Qin X et al. Stathmin expression in glioma-derived microvascular endothelial cells: a novel therapeutic target. *Oncol Rep* 2012; 27(3): 714–718. doi: 10.3892/or.2011.1525.
67. Wang H, Li W, Wang G et al. Overexpression of STMN1 is associated with the prognosis of meningioma patients. *Neurosci Lett* 2017; 654: 1–5. doi: 10.1016/j.neulet.2017.06.020.
68. Ghelli Luserna di Rorà A, Cerchione C, Martinelli G et al. A WEE1 family business: regulation of mitosis, cancer progression, and therapeutic target. *J Hematol Oncol* 2020; 13(1): 126. doi: 10.1186/s13045-020-00959-2.
69. Magnussen GI, Holm R, Emilsen E et al. High expression of Wee1 is associated with poor disease-free survival in malignant melanoma: potential for targeted therapy. *PLoS One* 2012; 7(6): e38254. doi: 10.1371/journal.pone.0038254.
70. Slipicevic A, Holth A, Hellesylt E et al. Wee1 is a novel independent prognostic marker of poor survival in post-chemotherapy ovarian carcinoma effusions. *Gynecol Oncol* 2014; 135(1): 118–124. doi: 10.1016/j.ygyno.2014.07.102.
71. Lescarbeau RS, Lei L, Bakken KK et al. Quantitative phosphoproteomics reveals Wee1 kinase as a therapeutic target in a model of proneural glioblastoma. *Mol Cancer Ther* 2016; 15(6): 1332–1343. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-15-0692.
72. Tashnizi AH, Jaberipour M, Razmkhah M et al. Tumour suppressive effects of WEE1 gene silencing in neuroblastomas. *J Cancer Res Ther* 2016; 12(1): 221–227. doi: 10.4103/0973-1482.165861.
73. Griffith JD, Comeau L, Rosenfield S et al. Mammalian telomeres end in a large duplex loop. *Cell* 1999; 97(4): 503–514. doi: 10.1016/s0092-8674(00)80760-6.
74. Wang C, Meier UT. Architecture and assembly of mammalian H/ACA small nucleolar and telomerase ribonucleoproteins. *EMBO J* 2004; 23(8): 1857–1867. doi: 10.1038/sj.emboj.7600181.
75. Shervington A, Patel R, Lu C et al. Telomerase subunits expression variation between biopsy samples and cell lines derived from malignant glioma. *Brain Res* 2007; 1134(1): 45–52. doi: 10.1016/j.brainres.2006.11.093.
76. Canudas S, Houghtaling BR, Kim JY et al. Protein requirements for sister telomere association in human cells. *EMBO J* 2007; 26(23): 4867–4878. doi: 10.1038/sj.emboj.7601903.
77. Clevers H, Loh KM, Nusse R. Stem cell signaling. An integral program for tissue renewal and regeneration: wnt signaling and stem cell control. *Science* 2014; 346(6205): 1248012. doi: 10.1126/science.1248012.
78. Wood RD, Mitchell M, Sgouras J et al. Human DNA repair genes. *Science* 2001; 291(5507): 1284–1289. doi: 10.1126/science.1056154.
79. Dizdaroglu M. Oxidatively induced DNA damage and its repair in cancer. *Mutat Res Rev Mutat Res* 2015; 763: 212–245. doi: 10.1016/j.mrrev.2014.11.002.
80. Zhao R, Cui T, Han C et al. DDB2 modulates TGF- $\beta$  signal transduction in human ovarian cancer cells by down-regulating NEDD4L. *Nucleic Acids Res* 2015; 43(16): 7838–7849. doi: 10.1093/nar/gkv667.
81. Batista LF, Roos WP, Christmann M et al. Differential sensitivity of malignant glioma cells to methylating and chloroethylating anticancer drugs: p53 determines the switch by regulating xpc, ddb2, and DNA double-strand breaks. *Cancer Res* 2007; 67(24): 11886–11895. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-07-2964.
82. Kun S, Duan Q, Liu G et al. Prognostic value of DNA repair genes based on stratification of glioblastomas. *Oncotarget* 2017; 8(35): 58222–58230. doi: 10.18632/oncotarget.17452.
83. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011; 144(5): 646–674. doi: 10.1016/j.cell.2011.02.013.
84. Soupene E, Kuypers FA. Mammalian long-chain acyl-CoA synthetases. *Exp Biol Med* (Maywood) 2008; 233(5): 507–521. doi: 10.3181/0710-MR-287.
85. Lopes-Marques M, Cunha I, Reis-Henriques MA et al. Diversity and history of the long-chain acyl-CoA synthetase (Acs) gene family in vertebrates. *BMC Evol Biol* 2013; 13: 271. doi: 10.1186/1471-2148-13-271.
86. Chen WC, Wang CY, Hung YH et al. Systematic analysis of gene expression alterations and clinical outcomes for long-chain acyl-coenzyme A synthetase family in cancer. *PLoS One* 2016; 11(5): e0155660. doi: 10.1371/journal.pone.0155660.
87. Cheng J, Fan YQ, Liu BH et al. ACSL4 suppresses glioma cells proliferation via activating ferroptosis. *Oncol Rep* 2020; 43(1): 147–158. doi: 10.3892/or.2019.7419.
88. Sanzey M, Abdul Rahim SA, Oudin A et al. Comprehensive analysis of glycolytic enzymes as therapeutic targets in the treatment of glioblastoma. *PLoS One* 2015; 10(5): e0123544. doi: 10.1371/journal.pone.0123544.
89. Stanke KM, Wilson C, Kidambi S. High expression of glycolytic genes in clinical glioblastoma patients correlates with lower survival. *Front Mol Biosci* 2021; 8: 752404. doi: 10.3389/fmolb.2021.752404.
90. Bai X, Tan TY, Li YX et al. The protective effect of cordyceps sinensis extract on cerebral ischemic injury via modulating the mitochondrial respiratory chain and inhibiting the mitochondrial apoptotic pathway. *Biomed Pharmacother* 2020; 124: 109834. doi: 10.1016/j.biopha.2020.109834.

# Psychological care reflecting the specifics of the course of viral infection in SARS-CoV-2 oncological patients with oxygenation disorder – a case series

Psychologická péče reflektující průběh a specifika virové infekce SARS-CoV-2 u onkologických pacientů s oxygenační poruchou – série kazuistik

Skřivanová K.<sup>1</sup>, Smetana K. Jr<sup>2,3</sup>, Korbička T.<sup>4</sup>, Hudec J.<sup>4,5</sup>, Jaborník M.<sup>6</sup>, Procházka V.<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Department of Clinical Psychology, University Hospital Brno, Czech Republic

<sup>2</sup> Institute of Anatomy, First Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic

<sup>3</sup> BIOCEV, First Faculty of Medicine, Charles University, Vestec, Czech Republic

<sup>4</sup> Department of Anesthesiology and Intensive Care Medicine, University Hospital Brno and Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic

<sup>5</sup> Department of Simulation Medicine, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic

<sup>6</sup> Department of Surgery, University Hospital Brno and Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic

## Summary

**Background:** During the severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) pandemic, patients treated with acute coronavirus disease 2019 (COVID-19) in intensive care units (ICU) have suffered from neuropsychiatric complications such as anxiety, depression, and confusion. Conditions related to the environment have the potential to worsen these symptoms. In combination with virus-dependent neuroinflammation, they form a “toxic” mixture. Discussion and planning strategies for providing psychological care in the ICU during the pandemic have revealed a great current challenge. **Case series:** We share our experience concerning psychological interventions for oncological patients with oxygen saturation depletion. Our observation of two SARS-CoV-2 patients suggests a close time-related association between the increase in inflammatory markers interleukin 6 (IL-6) and C-reactive protein (CRP) and intensive anxiety in the fast development of breath shortening in acute COVID-19 infection due to brain hypoxia and potential neuroinflammation. **Conclusion:** As cytokine IL-6 regulates induction of CRP gene expression, the changes in IL-6 concentrations associated with anxiety symptoms and breath shortening in the observed cluster can be detected hours earlier than changes in CRP levels, with a diagnostic implication for the clinicians. The SARS-CoV-2 patients with oncological diseases treated in our ICU asked for personal bedside contact with clinical psychologists, considered it irreplaceable and reported this psychological care as beneficial.

## Key words

psychological care – SARS-CoV-2 – anxiety – interleukin 6 – C-reactive protein – neuroinflammation – brain hypoxia – intensive care unit

The authors declare that they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.

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



Jan Hudec, MD  
Department of Anesthesiology  
and Intensive Care Medicine  
University Hospital Brno  
Jihlavská 20  
625 00 Brno  
Czech Republic  
e-mail: hudeja@gmail.com

Submitted/Obdrženo: 8. 9. 2022

Accepted/Přijato: 21. 10. 2022

doi: 10.48095/ccko2023234

## Souhrn

**Východiska:** V průběhu pandemie virem SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2) trpěli pacienti, léčení pro COVID-19 (coronavirus disease 2019) infekci na jednotkách intenzivní péče (JIP), neuropsychiatrickými problémy jako byla úzkost, deprese či zmatenost. Samotné prostřední JIP mělo tendenci výše zmíněné příznaky zhoršovat. Prostředí JIP tak spolu s neuroinflamací, vyvolanou virovou infekcí, může vést k „toxické“ kombinaci. Diskuze a plánování strategií poskytování psychologické péče se tak ukázaly během pandemie COVID-19 jako nová velká výzva. **Série případů:** Autoři uvádějí vlastní zkušenosti s poskytováním psychologické péče na JIP u dvou onkologických pacientek s oxygenační poruchou při infekci SARS-CoV-2. Naše pozorování naznačuje těsnou časovou souvislost mezi elevací zánětlivých markerů interleukinu 6 (IL-6), resp. C-reaktivního proteinu (CRP) a rychlým rozvojem intenzivní úzkosti při progresi dechové tísně, asociované s mozkovou hypoxií a potenciální neuroinflamací. **Závěr:** Vzhledem k tomu, že IL-6 reguluje indukci exprese genu pro CRP, mohou být změny hladin IL-6, spojené s úzkostí při potenciální neuroinflamaci detekovány řádově o několik hodin dříve oproti změnám hladin CRP, což může lékařům pomoci v diagnostice. Onkologičtí pacienti s infekcí virem SARS-CoV-2 léčení na naší JIP žádali o osobní kontakt s klinickými psychology u lůžka a tento přístup považovali za nenahraditelný. Psychologickou péči vnímali pacienti jako přínosnou.

## Klíčová slova

psychologická péče – SARS-CoV-2 – úzkost – interleukin-6 – C-reaktivní protein – neuroinflamace – hypoxie mozku – jednotka intenzivní péče

## Introduction

Coronavirus disease 2019 (COVID-19) is a respiratory infection caused by severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). Bilateral pneumonia resulting from respiratory failure with subsequent lung fibrosis represents the most severe complication of the disease [1,2]. The virus entry to a sensitive cell depends on the expression of angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) and human transmembrane protease serine 2 (TMPRSS2), which are required for the interaction with the SARS-CoV-2 spike protein in target cells [3]. The disease's severity depends on the infected person's age and health status, and it seems that women of fertile age are more protected from a severe course of the disease than men [4]. Because of SARS-CoV-2 mutations, the virus is under selection pressure, and its rapid evolution and formation of new variants are in progress [5,6]. The particular viral mutation influences the course of the disease, and it is well known that e.g. the delta variant is more dangerous than the omicron. Hyperactivation of immunity associated with the cytokine release syndrome/cytokine storm plays an essential role in the progression of COVID-19 disease. Active factors such as interleukin 6 (IL-6) seem to be at the centre of the etiopathogenesis of severe COVID-19 [7]. IL-6 is a multifunctional cytokine of early phase immune response produced by numerous cell types [8]. In addition to the serum elevation of IL-6 in severe COVID-19 in the course of cytokine storm, this inter-

leukin is also elevated in the elderly (inflammaging), chronic inflammation, and cancer [9]. The inflammation-supporting cytokines, including IL-6, influence the metabolism of hepatocytes, adipocytes, and striated muscle, which in the case of cancer terminates the patient's life in the form of tumour wasting/cachexia, as was summarized by Brábek et al. [9]. Numerous patients after SARS-CoV-2 exhibit symptoms of neuroinflammation and many neurological problems can even be preserved several months after the recovery from the acute infection [10]. Subunit S1 of the viral spike protein seems to be an inductor of this neuroinflammation [11]. COVID-19 history is responsible for the deterioration of cognitive functions and psychiatric affections such as depression [12–14]. These problems are dependent on inflammation-supporting factors. IL-6 can cross the blood-brain barrier and participate in troubles with food intake, depression, and increased risk of suicide [15–17]. As a consequence of the topic of this article, lowered oxygen saturation, cytokine release syndrome, and elevated IL-6, tumour necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), or interleukin 8 (IL-8) were defined as potential mediators of encephalitis and neuropsychiatric COVID-19 symptoms [18–21]. These data explain the evidence-based background of neuropsychiatric problems of COVID-19 patients and persons suffering from the postcovid syndrome and provide a severe platform for employing psychological approaches to treating acute COVID-19.

## Case series

Psychological care was provided in the specially established ICU for COVID-19 patients led by physicians specialized in intensive care medicine in University Hospital Brno since January 2021 according to the indication of the attending physician after verbal agreement of the patient noted to the patient's medical record following the ethical standards of the Institutional and National Research Committee and according to the 1964 Helsinki Declaration and its later amendments or comparable ethical standards. We decided to offer psychological care to all patients with oncological comorbidities, as we assumed that these patients could have suffered from distress.

The first presented case is an 86-year-old woman, a widow with two adult sons. She has no previous history of mental illness. A series of seven crisis interventions were conducted. The first one was performed in the surgical ICU for post-operative subdepressive mood and anxiety. On February 16<sup>th</sup>, she was admitted with COVID-19 to the COVID ICU (Fig. 1), and on February 17<sup>th</sup>, psychological support was provided for intensive anxiety followed by delirium. She was aware of her disorientation, asked whether it was morning or evening, and called her sons in an attempt to get orientated. She suffered from fear of death and loss of her mind. She described the complex of her hallucinations – many dark specters trying to touch her. Her dreams were also disturbing; she was in prison with no

chance to escape. She recognized the psychologist from the previous contact and asked her to visit her again. At that time, she needed the touch of hands in gloves and supportive words. A young physician touched her hands and informed her about remdesivir treatment. The patient told the physician that the touches of living persons were the opposite of the touches of the dark side of her mind. She considered them as lights in the darkness. The next day, on February 18<sup>th</sup>, she felt better and was well oriented in time, person and situation. There was a change in her attitude to COVID-19 – she appeared with a fighting spirit, considering the possibility of surviving. On February 19<sup>th</sup>, she was exhausted – a CT scan was taken during the night shift, and the patient could not breathe well. She hoped she could get remdesivir. In the day, she was well oriented, but her mood was getting worse and depressive, with signs of intensive anxiety. The next contact followed after the weekend on Monday, February 22<sup>nd</sup>, when only a short visit and support were provided – the patient was still in a depressive state of mind, anxious, coughed frequently, and was exhausted. On February 23<sup>rd</sup>, she felt better – she wanted to survive and get home. She said she was trying not to be stressed with every cough

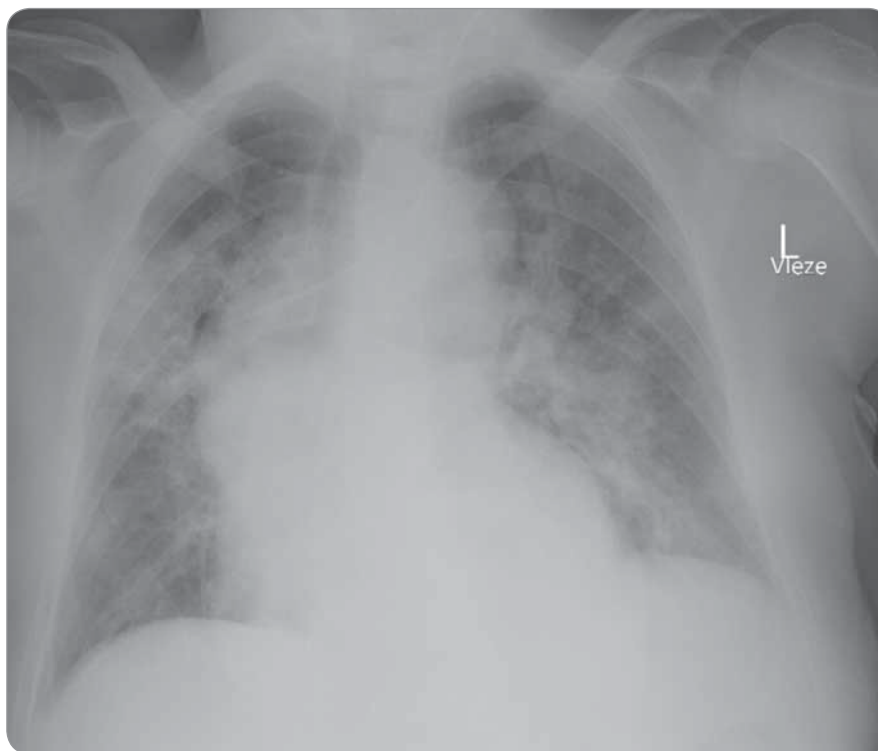


Fig. 1. Chest X-ray of patient 1.

and to stop pitying herself. She was not confused any longer. The next day, February 24<sup>th</sup>, the collaboration ended when she was without any signs of severe depression, anxiety, or confusion. Note that there is a time-related association between higher values of inflammatory

markers (IL-6, C-reactive protein (CRP)), breath shortening, and symptoms of revealed psychopathology (Tab. 1) on February 19<sup>th</sup>, you can see an increase in IL-6, associated with the anxiety state and depressive mood according to psychological reports.

Tab. 1. Characteristics of patient 1.

Date	Drugs				Oxygen saturation					Arterial astrup 6:00			
	paracetamol	trazodone	citalopram	quetiapine	8:00	9:00	10:00	11:00	12:00	pH	pO <sub>2</sub>	pCO <sub>2</sub>	HCO <sub>3</sub>
16.2.2021	1 g à 8 h	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
17.2.2021	1 g à 8 h	×	×	×	97%	97%	96%	96%	98%	7,34	13,3	5,8	23,3
18.2.2021	1 g à 8 h	×	×	×	97%	99%	100%	94%	96%	7,36	9,8	5,4	22,8
19.2.2021	1 g à 8 h	75 mg/N	×	×	93%	92%	93%	95%	95%	7,43	8,5	5,2	25,9
20.2.2021	1 g à 8 h	75 mg/N	×	×	87%	88%	88%	87%	87%	7,49	9,1	5,3	30,1
21.2.2021	×	75 mg/N	×	×	92%	87%	82%	96%	94%	7,48	6,6	5,9	33,1
22.2.2021	×	75 mg/N	20 mg/N	×	95%	95%	97%	95%	95%	7,45	14,3	6,7	35,2
23.2.2021	×	75 mg/N	20 mg/N	25 mg à 8 h	90%	93%	94%	96%	95%	×	×	×	×
24.2.2021	×	75 mg/N	20 mg/N	25 mg à 8 h	94%	93%	95%	96%	97%	×	×	×	×
25.2.2021	×	75 mg/N	20 mg/N	25 mg à 8 h	96%	95%	95%	95%	97%	×	×	×	×
26.2.2021	×	75 mg/N	20 mg/N	25mg à 8 h	95%	96%	96%	95%	90%	×	×	×	×

CRP – C-reactive protein, IL-6 – interleukin 6, N – night

**Tab. 1 – continuing. Characteristics of patient 1.**

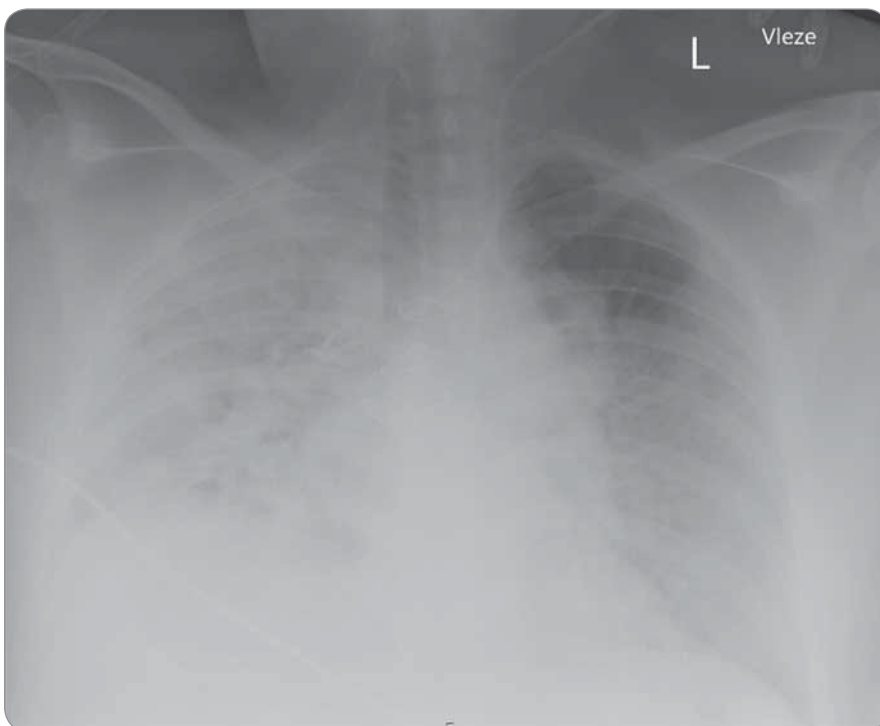
Date	Ventilation support	Parameters	Arterial astrup 2:00				Inflammatory markers		Status praesens psychicus – dominant symptomatology
			pH	pO <sub>2</sub>	pCO <sub>2</sub>	HCO <sub>3</sub>	CRP (mg/L)	IL-6 (ng/L)	
16.2.2021	×	×	7,4	8,7	5,2	24,1	237,8	119	no intervention
17.2.2021	nasal cannula	2 L	7,33	11,6	5,5	21,7	269,5		anxiety signs in confusion, “giving up”
18.2.2021	nasal cannula	2 L	×	×	×	×	216,9	43,7	without signs of confusin, subdepressive mood (but fighting spirit)
19.2.2021	nasal cannula	2 L	×	×	×	×	142	136	anxiety, depressive mood (cough, breathlessness)
20.2.2021	nasal cannula	7 L	×	×	×	×	152,5	7,6	no intervention
21.2.2021	O <sub>2</sub> mask	5 L	7,49	9,3	5,5	31,3	67,5	27,6	no intervention
22.2.2021	nasal cannula	5 L	×	×	×	×	49,3	57	anxiety, depressive mood (cough, breathlessness)
23.2.2021	nasal cannula	8 L	×	×	×	×	51,4	23,7	less anxious, depressive mood (but stenic quality appeared)
24.2.2021	nasal cannula	4 L	×	×	×	×	27,7	10,8	without signs of confusin, serious anxiety or serious depressive symptoms
25.2.2021	nasal cannula	3 L	×	×	×	×	15,3	21,1	no intervention
26.2.2021	nasal cannula	3 L	×	×	×	×	10,9	47,2	no intervention

CRP – C-reactive protein, IL-6 – interleukin 6, N – night

The second presented case is a 49-year-old married woman with two adult children and no previous history of men-

tal illness. She takes a disability pension for oncology illness. A series of eight psychological interventions were con-

ducted. On March 11<sup>th</sup>, psychological support was provided when she came to the COVID ICU with fever and breath shortening (Fig. 2); despite her somatic state, she showed no signs of anxiety, depression, or confusion. The next day, March 12<sup>th</sup>, she felt worse and was worried about her father and daughter being infected with SARS-CoV-2 as well. She was very anxious on Monday morning, March 15<sup>th</sup>, with low oxygen saturation (60–70%). Probably because of opiates, her psychomotor rate was getting slow. She reported fears from intubation. The next day, March 16<sup>th</sup>, she still revealed signs of anxiety, her mood was subdepressive, and she verbalized ruminating thoughts about the threat of intubation. That day, she tried to speak more extensively and change the direction of her mind, looking forward to arranging her son’s wedding plans in May. She tried to imagine the picture of a complete family on a wedding day, including herself, her father, and her daughter. This “wedding imagination” was very helpful in her crisis. After that, her blood oxygen saturation increased from 70 to 90%. She



**Fig. 2. Chest X-ray of patient 2.**

**Tab. 2. Characteristics of patient 2.**

Date	Drugs					Oxygen saturation					Arterial astrup 6:00			
	morphine	quetiapine	codeine	tofisopam	trazodone	8:00	9:00	10:00	11:00	12:00	pH	pO <sub>2</sub>	pCO <sub>2</sub>	HCO <sub>3</sub>
11.3.2021	2 mg/h	×	×	×	×	96%	95%	96%	90%	92%	7,46	4,3	5,5	23
12.3.2021	2 mg/h	×	×	×	×	80%	84%	80%	82%	94%	7,41	7,1	6,3	×
13.3.2021	4 mg/h	×	×	50 mg 14:00	×	76%	77%	70%	60%	64%	7,42	5,2	6,8	33,3
14.3.2021	4 mg/h	25 mg 3×/D	×	×	×	60%	63%	63%	64%	62%	7,41	5,2	7,3	34,1
15.3.2021	2 mg/h	25 mg 3×/D	×	×	75 mg tbl	81%	70%	85%	85%	85%	7,49	6,1	6,2	35,5
16.3.2021	2 mg/h	25 mg 3×/D	×	×	75 mg tbl	89%	85%	90%	88%	88%	7,49	6,5	6,3	37,2
17.3.2021	2 mg/h	25 mg 3×/D	×	×	×	86%	91%	89%	88%	90%	7,49	7,1	6,4	36,3
18.3.2021	2 mg/h	50 mg/N	×	×	×	86%	80%	92%	86%	85%	7,51	6,6	5,9	35
19.3.2021	1 mg/h	50 mg/N	×	×	×	93%	87%	86%	86%	87%	7,49	6,8	5,8	33,1
20.3.2021	1 mg/h	50 mg/N	30 mg 4×/D	×	×	95%	94%	92%	94%	96%	7,45	6,2	8,9	32,2
21.3.2021	×	50 mg/N	30 mg 4×/D	×	×	90%	90%	96%	96%	96%	7,48	8	5,5	30,3
22.3.2021	×	25 mg/N	30 mg 3×/D	×	×	95%	95%	96%	90%	93%	7,44	9,1	5,7	29,1
23.3.2021	×	×	30 mg/N	×	×	92%	94%	93%	91%	90%	7,44	12,1	5,9	29,9
24.3.2021	×	×	30 mg/N	×	×	94%	94%	95%	96%	93%	×	×	×	×
25.3.2021	×	×	30 mg/N	×	×	94%	93%	93%	95%	×	×	×	×	×

Date	Ventilation support	Parameters	Arterial astrup 14:00				Inflammatory markers		Status praesens psychicus – dominant symptomatology
			pH	pO <sub>2</sub>	pCO <sub>2</sub>	HCO <sub>3</sub>	CRP (mg/L)	IL-6 (ng/L)	
11.3.2021	HFNO, O <sub>2</sub> mask	Q 60 L/92%; 15 L	7,42	7,5	5,1	24,8	184,9	111	without any signs of psychopathology
12.3.2021	HFNO, O <sub>2</sub> mask	Q 60 L/92%; 15 L	7,4	4,95	6,71	31,2	149,7	7	slightly anxious mood
13.3.2021	HFNO, O <sub>2</sub> mask	Q 60 L/95%; 15 L	7,4	4,5	7	32,7	60,1	9,6	no intervention
14.3.2021	HFNO, O <sub>2</sub> mask	Q 60 L/95%; 15 L	7,39	4,8	7,6	34,1	43	31,2	no intervention
15.3.2021	HFNO, O <sub>2</sub> mask	Q 60 L/95%; 15 L	7,48	6	5,7	33,9	76,4	13	slow PM rate, intensive anxiety signs
16.3.2021	HFNO, O <sub>2</sub> mask	Q 60 L/95%; 15 L	7,49	6,4	6,3	35,7	61,6	8,7	anxiety – subdepressive symptoms, but stenic attitude appeared – “the breaking point in coping with the illness”
17.3.2021	HFNO	Q 60 L/95%	7,45	3,7	6,99	36,4	29	13,2	slightly anxious mood
18.3.2021	HFNO	Q 60 L/90%	7,49	6,9	5,8	32,8	39,8	15,6	slightly anxious mood
19.3.2021	HFNO	Q 50 L/80%	7,49	6,8	5,3	30,5	61,9	11,4	no intervention
20.3.2021	HFNO	Q 50 L/80%	7,48	6,4	5,1	28,5	23,7	2,5	no intervention
21.3.2021	HFNO	Q 45 L/45%	7,47	9,1	5,3	29	8,5	2,3	no intervention
22.3.2021	O <sub>2</sub> mask	Q 10–15 L	7,43	10,1	5,6	27,5	6,2	14,7	without signs of serious psychopathology
23.3.2021	O <sub>2</sub> mask	Q 3–5 L	×	×	×	×	7,5	15,3	no intervention
24.3.2021	O <sub>2</sub> mask	Q 3–5 L	×	×	×	×	7,9	7,2	no intervention
25.3.2021	O <sub>2</sub> mask	Q 3–5 L	×	×	×	×	4,9	3,7	

CRP – C-reactive protein, D – day, HFNO – high flow nasal oxygenation, IL-6 – interleukin 6, N – night, PM – vysvětlení zkratky

took a monitor picture using her phone and sent the picture home. She reported relief and a better mood immediately after that. She said to the clinical psychologist, “My family is the sense of my life, and I want to return to them. My approach is to be active in my attitude to the COVID treatment – so, visit me daily, train my mind and my breathing during the conversation, and stay a bit longer daily. I will move my legs in the bed and walk with a rehabilitation nurse. The plan of visits of all the healthcare providers means the promise of the next days.” On March 17<sup>th</sup> and 18<sup>th</sup>, she felt better with a retreat of anxiety and mood clearing. The collaboration ended on March 22<sup>nd</sup>, when she was without any signs of severe depression or anxiety. Note that there is a time-related association between the increase in IL-6 (day 4) and CRP (day 5) and an intense anxiety state followed by breath shortening and low blood oxygen saturation values (Tab. 2).

## Discussion

Depression and anxiety symptoms were more common among COVID-19 patients than in normal controls in a study conducted by Guo et al. [22]. The presence of mood and anxiety disorders may be highly correlated to the severity of physiological status, mainly as it is reflected in blood levels of peripheral inflammation markers [22]. Guo and his co-workers found the associations between the severity of depression symptoms and the level of CRP and suggested them as an indication where the virus could affect the central nervous system and induce neuropsychiatric symptoms by activation of immune-inflammatory response [22]. In addition, the improvement in CRP concentration strongly correlated with the levels of depression at the time of their observation [22]. Our observation in two SARS-COV-2 treated patients suggests a close time-related association between inflammatory markers (IL-6, CRP) and intense anxiety in the fast development of breath shortening in acute COVID-19 infection. Rapid detection of the cluster of symptoms related to blood inflammation markers could have a significant impact on the strategy of diagnostic decision-

making and on effective multidisciplinary treatment of acute COVID-19 infection when the acute distress respiratory syndrome accompanied by the cytokine storm [7,23] could be a severe threat to patients with oxygenation disorder. As cytokine IL-6 regulates induction of CRP gene expression [24], the changes in IL-6 concentrations associated with anxiety symptoms and breath shortening in the observed cluster can be detected hours earlier than changes in CRP levels, with a diagnostic implication for the clinicians, e.g. diagnostic accounts about the potential progression of viral infection or intensive bacterial colonization of the surgical wounds in operated SARS-CoV-2 oncological patients.

## Conclusion

Our observations in two oncological patients with oxygenation disorder suggest a close time-related association between inflammatory markers (IL-6, CRP) and intense anxiety in the fast development of breath shortening in acute COVID-19 infection due to brain hypoxia and potential neuroinflammation. Our SARS-CoV-2-positive oncological patients with oxygenation disorder reported psychological care in bedside contact as beneficial and were capable of conversation and imagination. Our preliminary psycho-neuro-immunological findings need to be verified by other research studies.

## Authors' contribution

Corresponding author: Jan Hudec  
 Concept and design: Kateřina Skřivanová, Vladimír Procházka, Karel Smetana Jr  
 Acquisition, analysis, or interpretation of data: Kateřina Skřivanová, Tomáš Korbička, Jan Hudec, Martin Jaborník  
 Drafting of the manuscript: Kateřina Skřivanová, Tomáš Korbička, Jan Hudec, Martin Jaborník, Karel Smetana Jr  
 Critical revision of the manuscript for important intellectual content: Vladimír Procházka, Karel Smetana Jr  
 Administrative, technical, or material support: Martin Jaborník, Kateřina Skřivanová, Karel Smetana Jr  
 Supervision: Vladimír Procházka, Karel Smetana Jr  
 All authors contributed to the critical revision of the manuscript and approved the final version of the manuscript.

## Competing interests

Karel Smetana Jr is a co-inventor of U.S. patent No. 11,246,874 B1 and cooperates with Oxygen Biotech LLC 108 W 13th St. Wilmington DE 19801. This company had no role in the design of the study, in the collection, analyses, or interpretation of data, in the writing of the manuscript, or in the decision to publish the results. Other authors declare no conflict of interest.

## Funding

This project was supported by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic, project “Centre for Tumour Ecology – Research of the Cancer Micro-environment Supporting Cancer Growth and Spread”, No. CZ.02.1.01/0.0/0.0/16\_019/0000785. Supported by Ministry of Health of the Czech Republic, grant number NU-C-113. All rights reserved.

## Acknowledgment

The authors would also like to express great admiration for each healthcare provider's work during the COVID-19 pandemic. The authors are grateful to Dr. Šárka Takáčová for language revision.

## References

1. Aul R, Gates J, Draper A et al. Complications after discharge with COVID-19 infection and risk factors associated with the development of post-COVID pulmonary fibrosis. *Respir Med* 2021; 188: 106602. doi: 10.1016/j.rmed.2021.106602.
2. Hall DJ, Schulte JJ, Lewis EE et al. Successful lung transplantation for severe post COVID-19 pulmonary fibrosis. *Ann Thorac Surg* 2022; 114(1): e17–e19. doi: 10.1016/j.athoracsur.2021.10.004.
3. Chaves-Medina MJ, Gómez-Ospina JC, García-Perdomo HA. Molecular mechanisms for understanding the association between TMPRSS2 and beta coronaviruses SARS-CoV-2, SARS-CoV and MERS-CoV infection: scoping review. *Arch Microbiol* 2021; 204(1): 77. doi: 10.1007/s00203-021-02727-3.
4. Abramenko N, Vellieux F, Tesařová P et al. Estrogen receptor modulators in viral infections such as SARS-CoV-2: therapeutic consequences. *Int J Mol Sci* 2021; 22(12): 6551. doi: 10.3390/ijms22126551.
5. Freer G, Lai M, Quaranta P et al. Evolution of viruses and the emergence of SARS-CoV-2 variants. *New Microbiol* 2021; 44(4): 191–204.
6. Ghosh N, Nandi S, Saha I. A review on evolution of emerging SARS-CoV-2 variants based on spike glycoprotein. *Int Immunopharmacol* 2022; 105: 108565. doi: 10.1016/j.intimp.2022.108565.
7. Smetana K Jr, Brábek J, Růžek J. Role of interleukin-6 in lung complications in patients with COVID-19: therapeutic implications. *In Vivo* 2020; 34 (Suppl 3): 1589–1592. doi: 10.21873/invivo.11947.
8. Laciňa L, Brábek J, Král V et al. Interleukin-6: a molecule with complex biological impact in cancer. *Histol Histopathol* 2019; 34(2): 125–136. doi: 10.14670/HH-18-033.
9. Brábek J, Jakubek M, Vellieux F et al. Interleukin-6: molecule in the intersection of cancer, ageing and COVID-19. *Int J Mol Sci* 2020; 21(21): 7937. doi: 10.3390/ijms21217937.
10. Klein RS. Mechanisms of coronavirus infectious disease 2019-related neurologic diseases. *Curr Opin Neurol* 2022; 35(3): 392–398. doi: 10.1097/WCO.0000000000001049.
11. Frank MG, Nguyen KH, Ball JB et al. SARS-CoV-2 spike S1 subunit induces neuroinflammatory, microglial and behavioral sickness responses: evidence of PAMP-like properties. *Brain Behav Immun* 2022; 100: 267–277. doi: 10.1016/j.bbi.2021.12.007.
12. Yuan B, Li W, Liu H et al. Correlation between immune response and self-reported depression during convalescence from COVID-19. *Brain Behav Immun* 2020; 88: 39–43. doi: 10.1016/j.bbi.2020.05.062.
13. Alnefeesi Y, Siegel A, Lui LMW et al. Impact of SARS-CoV-2 infection on cognitive function: a systematic review. *Front Psychiatry* 2021; 10: 621773. doi: 10.3389/fpsy.2020.621773.
14. Gallo M, Leone B, Tarallo F et al. Onset psychosis and PTSS after severe respiratory symptomatology caused by SARS-CoV-2 infection: a case report. *Riv Psichiatr* 2022; 57(1): 40–43. doi: 10.1708/3749.37326.

15. Dwarkasing JT, Witkamp RF, Boekschoten MV et al. Increased hypothalamic serotonin turnover in inflammation-induced anorexia. *BMC Neurosci* 2016; 17(1): 26. doi: 10.1186/s12868-016-0260-0.
16. Shimura Y, Kurosawa H, Tsuchiya M et al. Serum interleukin 6 levels are associated with depressive state of the patients with knee osteoarthritis irrespective of disease severity. *Clin Rheumatol* 2017; 36(12): 2781–2787. doi: 10.1007/s10067-017-3826-z.
17. Keaton SA, Madaj ZB, Heilman P et al. An inflammatory profile linked to increased suicide risk. *J Affect Disord* 2019; 247: 57–65. doi: 10.1016/j.jad.2018.12.100.
18. Kappelmann N, Dantzer R, Khandaker GM. Interleukin-6 as potential mediator of long-term neuropsychiatric symptoms of COVID-19. *Psychoneuroendocrinology* 2021; 131: 105295. doi: 10.1016/j.psyneuen.2021.105295.
19. Ngo B, Lapp SA, Siegel B et al. Cerebrospinal fluid cytokine, chemokine, and SARS-CoV-2 antibody profiles in children with neuropsychiatric symptoms associated with COVID-19. *Mult Scler Relat Disord* 2021; 55: 103169. doi: 10.1016/j.msard.2021.103169.
20. Pilotto A, Masciocchi S, Volonghi I et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) encephalitis is a cytokine release syndrome: evidences from cerebrospinal fluid analyses. *Clin Infect Dis* 2021; 73(9): e3019–e3026. doi: 10.1093/cid/ciaa1933.
21. Al-Jassas HK, Al-Hakeim HK, Maes M. Intersections between pneumonia, lowered oxygen saturation percentage and immune activation mediate depression, anxiety, and chronic fatigue syndrome-like symptoms due to COVID-19: a nomothetic network approach. *J Affect Disord* 2022; 297: 233–245. doi: 10.1016/j.jad.2021.10.039.
22. Guo Q, Zheng Y, Shi J et al. Immediate psychological distress in quarantined patients with COVID-19 and its association with peripheral inflammation: a mixed-method study. *Brain Behav Immun* 2020; 88: 17–27. doi: 10.1016/j.bbi.2020.05.038.
23. Bahmani M, Chegini R, Ghanbari E et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 infection: role of interleukin-6 and the inflammatory cascade. *World J Virol* 2022; 11(3): 113–128. doi: 10.5501/wjv.v11.i3.113.
24. Ngwa DN, Pathak A, Agrawal A. IL-6 regulates induction of C-reactive protein gene expression by activating STAT3 isoforms. *Mol Immunol* 2022; 146: 50–56. doi: 10.1016/j.molimm.2022.04.003.



# Efekt imunoterapie u mladého pacienta s mismatch repair deficientním karcinomem rekta – kazuistika

The effect of immunotherapy in a young patient with mismatch repair-deficient rectal cancer – a case report

Sokop T., Obermannová R.

Klinika komplexní onkologické péče LF MU a MOÚ Brno

## Souhrn

**Východiska:** Incidence kolorektálního karcinomu (KRK) ve věkové skupině mladých nemocných roste. KRK je u těchto pacientů častěji histologicky agresivnějším typem nádoru, diagnostikovaným v pozdních klinických stádiích onemocnění. Dalším z charakteristických rysů je vyšší frekvence mismatch repair deficientních (dMMR) karcinomů. V jejich léčbě může být efektivní léčebnou modalitou imunoterapie, kterou lze dosáhnout prodloužení celkového přežití i zlepšení kvality života. Naopak efekt chemoterapie může být nižší. **Případ:** Prezentujeme případ 35letého pacienta léčeného primární terapií pro lokálně pokročilý dMMR karcinom rekta. Neoadjuvantní chemoradioterapii následovala resekce rekta, kterou doprovázely závažné pooperační komplikace. Navíc se objevil časný lokální relaps onemocnění, rezistentní vůči systémové léčbě chemoterapií. Po progresi onemocnění byla zahájena 2. linie léčby pembrolizumabem. **Výsledky:** Léčba pembrolizumabem vedla k částečné regresi onemocnění a následně jeho stabilizaci, která trvá již 15 měsíců. Výrazným benefitem je zlepšení kvality pacientova života – např. ustálení krevního obrazu a regrese průjmů. Navíc dosavadní léčba proběhla bez rozvoje závažné toxicity. **Závěr:** Testování mikrosatelitní instability v rámci managementu lokálně pokročilého i metastatického kolorektálního karcinomu má zásadní význam v nastavení správného léčebného postupu. Do budoucna můžeme očekávat výsledky dalších studií, které se budou snažit prokázat účinek imunoterapie nejen u metastatických onemocnění, ale i resekabilních a potenciálně resekabilních dMMR karcinomů rekta a kolonu v neoadjuvantním režimu.

## Klíčová slova

imunoterapie – checkpoint inhibitory – pembrolizumab – kolorektální karcinom – mladý dospělý

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare that they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

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

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



**MUDr. Tomáš Sokop**  
Klinika komplexní onkologické péče  
LF MU a MOÚ Brno  
Masarykův onkologický ústav  
Žlutý kopec 7  
656 53 Brno  
e-mail: tomas.sokop@mou.cz

Obdrženo/Submitted: 2. 2. 2023  
Přijato/Accepted: 28. 3. 2023

doi: 10.48095/ccko2023241

## Summary

**Background:** The incidence of colorectal cancer (CRC) in the age group of young patients has been increasing. Furthermore, in these patients, CRC is more frequently an aggressive histological type of tumor, diagnosed in the late clinical stages of the disease. Another characteristic feature is a higher frequency of mismatch repair deficient (dMMR) tumors, in the treatment of which immunotherapy can be an effective treatment modality, used to prolong overall survival and improve quality of life. Conversely, the effect of chemotherapy may be lower. **Case:** We present the case of a 35-year-old patient treated with primary therapy for locally advanced dMMR rectal cancer. Neoadjuvant chemoradiotherapy was followed by rectal resection, which was accompanied by serious postoperative complications. In addition, there was an early local relapse of the disease, resistant to systemic chemotherapy treatment. After the progression of the disease, second line of the treatment with pembrolizumab was initiated. **Results:** The treatment with pembrolizumab led to a partial regression of the disease and subsequently its stabilization, which has been lasting for 15 months. The improvement of the patient's quality of life, e.g. stabilization of the blood count and regression of diarrhea, is a significant benefit. In addition, the treatment has been given without the development of serious toxicity, so far. **Conclusion:** Microsatellite instability testing in the management of locally advanced and metastatic colorectal cancer is of fundamental importance in setting the appropriate treatment procedures. In the future, we can expect results of several studies that will try to prove the effect of immunotherapy not only in metastatic disease, but also in the neoadjuvant regimen in resectable and potentially resectable dMMR rectal and colon cancers.

## Keywords

immunotherapy – immune checkpoint inhibitor – pembrolizumab – colorectal cancer – young adult

## Úvod

Kolorektální karcinom (KRK) je celosvětově třetím nejčastějším nádorovým onemocněním. ČR dlouhodobě patří mezi země s vysokou incidencí, dle statistiky Ústavu zdravotnických informací a statistiky v roce 2018 byla na 14. místě mezi evropskými zeměmi, s mediánem věku diagnózy 70 let [1]. Incidence i mortalita kolorektálního karcinomu ve většině rozvinutých zemí klesá, pravděpodobně z velké části vlivem screeningových programů [2]. Tento trend je ale dle epidemiologických analýz opačný u mladých nemocných [3]. Například v USA vzrostla incidence kolorektálního karcinomu ve věkové skupině 20–49 let z 8,6 na 100 000 obyvatel v roce 1992, na 13,1 na 100 000 v roce 2016, s výraznějším podílem nárůstu u karcinomu rekta [4]. V mezinárodním srovnání je tento nárůst zaznamenán ve většině ekonomicky vyspělých zemí [3], v ČR však podrobná analýza chybí. Předpokládá se, že v roce 2030 bude v USA diagnostikovaných 23 % rektálních karcinomů a 11 % karcinomů kolon u pacientů mladších 50 let [5]. Důvod vzestupu incidence zatím není objasněn. Nádory mladých nemocných mají odlišnou klinicko-patologickou charakteristiku. Podle velké studie publikované Rodriguezem et al. je u pacientů do 40 let častěji postižený levostranný tračník a sigma, onemocnění je diagnostikováno později, s vyšším výskytem lokálně pokročilých či metastatických nádorů a histologicky je charakterizováno agresivnějšími variantami

(signet cell karcinom) [6], z molekulárního hlediska vynikají nádory mladých nemocných vyšší mutační náloží [7] a častějším výskytem tumorů s deficiencí mismatch repair systému (dMMR), která vede k mikrosatelitové instabilitě (MSI-H) [8,9]. dMMR/MSI-H tumory jsou v populaci zastoupeny asi u 15–20 % tumorů kolon a 5–10 % tumorů rekta, nicméně s významným rozdílem mezi věkovými skupinami. Například dMMR tumory kolon jsou v některých studiích diagnostikovány až u 25 % pacientů mladších 50 let, oproti 7–10 % u pacientů starších 50 let [10]. Většina dMMR tumorů vzniká na podkladě sporadických mutací [5], menší část má hereditární příčinu. Zastoupení hereditárních syndromů u mladých pacientů je při srovnání věkových skupin vyšší. Celkově 5 % KRK vznikne na podkladě hereditárního syndromu, u pacientů mladších 50 let je Lynchův syndrom (LS) jako nejčastější hereditární predispozice příčinou asi 8 % nádorů kolorekta (vs. 2–4 % v celkové populaci), dalších 8 % časně vzniklých tumorů způsobí jiný hereditární syndrom [11]. Ve skupině pacientů mladších 40 let je prevalence hereditárního KRK až 30 % [12].

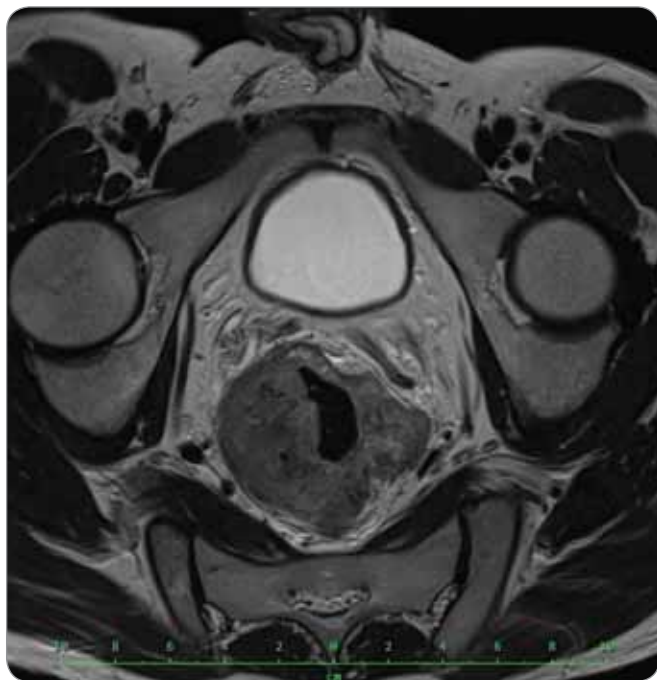
Současným standardem léčby lokálně pokročilého karcinomu rekta je neoadjuvantní chemoradiotherapie, případně totální neoadjuvantní terapie, a to bez ohledu na mutační stav dMMR [13]. Kurativní léčba však přináší riziko časných ale i pozdních nežádoucích účinků, které z dlouhodobého hlediska nega-

tivně ovlivňují kvalitu života vyléčeného pacienta. Jedná se zejména o nežádoucí účinky střevní (amputace rekta, dehiscence anastomózy...), urogenitální (inkontinence) či sexuální dysfunkce (erektilní dysfunkce, dyspareunie) [13]. Pacienti s metastatickým kolorektálním karcinodem jsou léčeni na základě prediktivních markerů kombinací chemoterapie a cílené léčby. dMMR/MSI-H tumory jsou rezistentní vůči standardní systémové léčbě, a naopak senzitivní k imunoterapii checkpoint inhibitory. Dle evropských a českých guidelines je imunoterapie checkpoint inhibitory léčebným standardem dMMR metastatického KRK již v 1. linii [14,15]. Vysoká léčebná odpověď u této skupiny onemocnění vedla ke studiím, které ověřují klinickou účinnost imunoterapie v neoadjuvantním podání. Malá americká akademická studie fáze II dokladuje 100% počet kompletních remisí u dMMR nádorů rekta a nastiňuje možnost kurativní léčby imunoterapií jako orgán zachovného postupu. Podobné pozitivní výsledky byly zaznamenány i u nádorů kolon [16–18]. Nadějně výsledky těchto studií naznačují možnou změnu terapeutického postupu do budoucna.

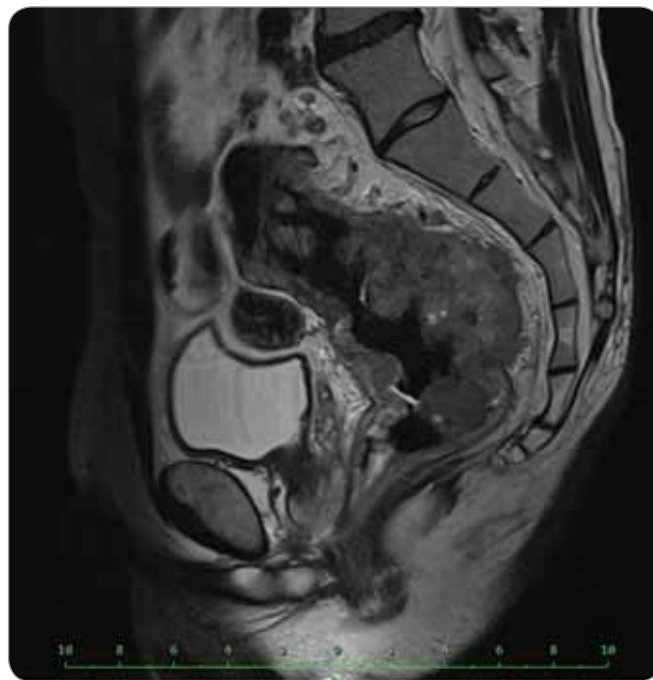
V následující kazuistice popisujeme případ 35letého pacienta léčeného pro lokálně pokročilý dMMR kolorektální karcinom.

## Případ

V prosinci 2019 byl 35letý pacient hospitalizován na interním oddělení okresní



Obr. 1. Lokálně pokročilý karcinom rekta na vstupním stagingovém MR pánve (axiální projekce).



Obr. 2. Lokálně pokročilý karcinom rekta na vstupním stagingovém MR pánve (sagitální projekce).

nemocnice pro měsíc trvající příměs čerstvé krve ve stolici, intermitentní průjmy s tenesmy a pro celkové zhoršení stavu, především výraznou únavu, námahové palpitate s dušností a nechutenství. Laboratorně byla zjištěna mikrocytární hypochromní anemie G4 s hladinou hemoglobinu 42 g/l, klinicky manifestovaná anemickým syndromem. Pacientův stav byl kompenzován intenzivní hemosubstitucí a bylo zahájeno došetřování etiologie. Kolonoskopické vyšetření odhalilo cirkulární tumor středního rekta ve vzdálenosti 10–19 cm od anu. V lednu 2020 pacient podstoupil stagingová vyšetření – na MR pánve popsán objemný, převážně exofyticky rostoucí tumor rekta v délce 13 cm, přesahující muscularis propria o 17 mm, s patrnou regionální lymfadenopatií (min. 10 zvětšených uzlin), bez infiltrace ostatních orgánů malé pánve (obr. 1, 2). CT plic a břicha neprokázalo vzdálenou diseminaci. TNM klasifikace tumoru byla cT3d N2b M0, klinické stadium IIIC. Histologicky byl tumor popsán jako low grade adenokarcinom intestinálního typu, prediktivní vyšetření prokázalo defekt ve dvou proteinech MMR systému, šlo tedy o dMMR tumor (následně bez germinálně prokazaného

Lynchova syndromu), RAS a BRAF wild type.

Pacient byl indikován k zahájení neoadjuvantní terapie, tři cykly chemoterapie v režimu FOLFOX následoval dlouhý kurz chemoradioterapie (CHTRT) v celkové dávce 45 Gy ve 25 frakcích, konkomitantně s 5-fluorouracilem. Neoadjuvantní léčbu pacient absolvoval ve spádovém Komplexním onkologickém centru, s průměrnou tolerancí – trvala anemizace a intermitentní průjmy. Neoadjuvantní CHTRT byla ukončena v březnu 2020. Na restagingovém vyšetření magnetickou rezonancí v dubnu 2020 byla popsána výraznější velikostní regrese výše, délky i hloubky propagace tumoru a také velikostní regrese většiny regionálních lymfatických uzlin.

Následně se v květnu přistoupilo k nízké přední resekci rekta, výkon proběhl bez komplikací, resekát rekta byl odeslán k histologickému vyšetření. Sedmý pooperační den ovšem u pacienta došlo ke zhoršení stavu, desaturaci a krátkodobé ztrátě vědomí. Akutní CT vyšetření odhalilo pneumoperitoneum na podkladě dehiscence anastomózy rekta, sterkorální peritonitis, ileozní změny tenkých kliček a bazální pneumonii. Byla indikována akutní reo-

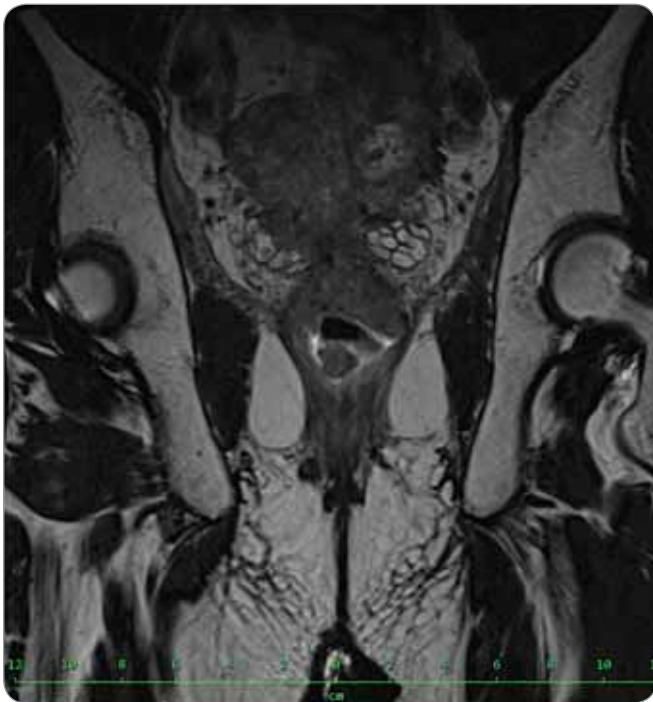
perace z vitální indikace, při níž byla založena derivační sigmoideostomie a pahýl rekta překryt omentem. Pooperačně byl pacient dále stabilní, intenzivně se řešil trvající katabolismus vyžadující aktivní nutriční podporu. O dalším postupu rozhodovala multioborová indikační komise. Histologické vyšetření resekátu rekta popsalo blíže nespecifikovaný low grade adenokarcinom s mucinózní komponentou, se střední regresí po neoadjuvantní léčbě (TRG grade 2 podle Dworaka), s transperitoneální invazí, distální resekční linie bez dysplazie – ypT4 ypN0 (0/16) M0. S ohledem na celkový stav pacienta, těžké pooperační komplikace a rizikové faktory nebyla komisí indikována adjuvantní terapie. Devět měsíců od operace, v lednu 2021, byla diagnostikována lokální recidiva tumoru rekta s infiltrací mezorektální fascie, m. levator ani a semenných váčků (obr. 3). Indikována operace. Nález byl pooperačně vyhodnocen jako inoperabilní a s ohledem na MMR deficienci bylo u pacienta požádáno o schválení pembrolizumabu na základě studie Keynote 177. V mezidobí byl pacient řešen urologem pro maligní levostrannou hydronefrózu s nutností zavedení JJ stentu, kvalitu života dále snižoval trvající únik

stolice per vias naturales při enterorektální fistulaci a recidiva závažné chronické mikrocytární anemie s výraznou transfuzní dependencí (graf 1). Léčba imunoterapií byla revizním lékařem zamítnuta, proto pacient zahájil 1. linii chemoterapie režimem FOLFIRI.

Po šesti cyklech došlo k další progresi, která vyústila v oboustrannou hydro-nefrózu, řešenou bilaterální punkční nefrostomií.

Opakovanou žádost o imunoterapii již pojišťovna schválila, proto pacient od září 2021 zahájil léčbu pembrolizumabem.

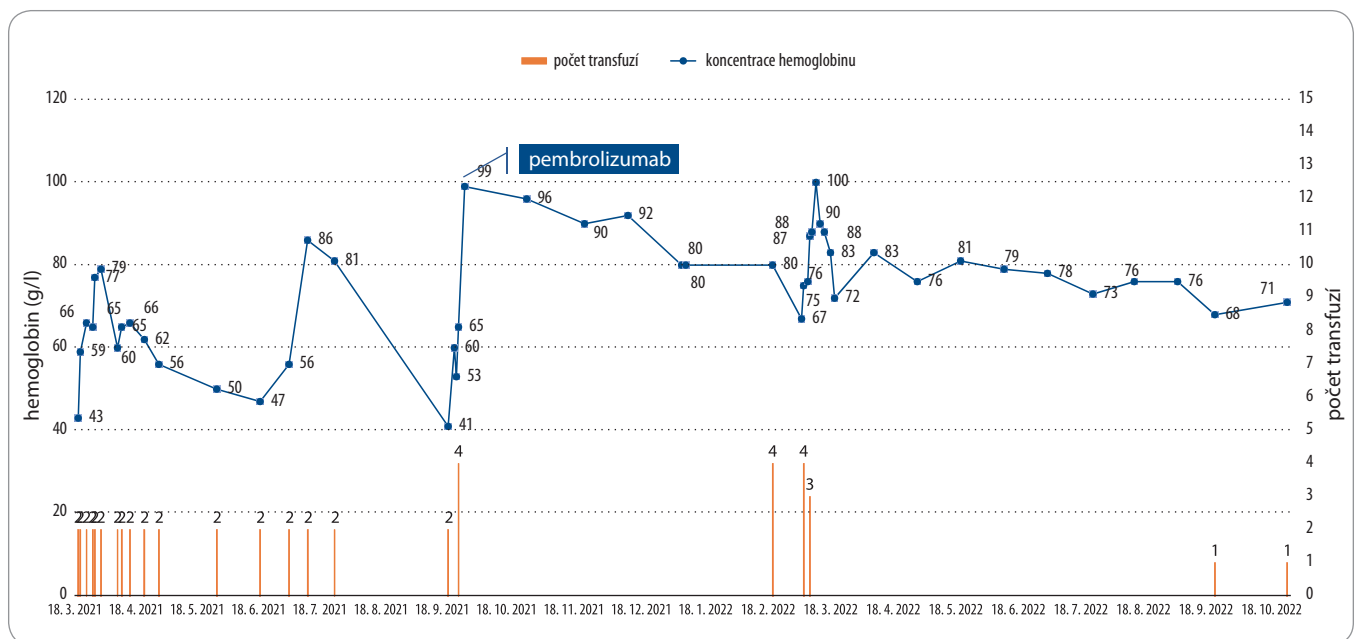
Léčba pembrolizumabem vedla k dosažení parciální remise onemocnění, dále k výraznému zlepšení kvality života zejména stabilizací krevního obrazu, úpravou astenie, remisí chronických průjmů a intermitentní enterorrhagie. V průběhu terapie nebyla zaznamenána žádná toxi-



Obr. 3. Relaps onemocnění v pánvi na restagingové MR pánve, leden 2021.



Obr. 4. Stabilizace onemocnění, srpen 2022.



Graf 1. Měřená koncentrace hemoglobinu od prokázaného relapsu onemocnění v březnu 2021 a transfuzní dependencie pacienta (celkový počet transfuzí = 51).

cita. V prosinci 2022, po 15 měsících léčby, trvá stabilizace onemocnění (obr. 4).

## Diskuze

Totální neoadjuvantní terapie je standardním postupem v léčbě lokálně pokročilého karcinomu rekta. Léčba totální neoadjuvantní terapií snižuje riziko lokální recidivy a ve srovnání s dlouhým kurzem chemoradioterapie dosahuje až ve 28 % případů patologické kompletní remise [19]. dMMR karcinom rekta je ovšem biologicky odlišným podtypem, rezistentnějším na léčbu chemoterapií. Cercek et al. popisuje progresi tumoru na indukční chemoterapii až u 29 % pacientů [20]. Efekt chemoterapie u těchto pacientů musí být tedy intenzivněji sledován a v případě špatné odpovědi je ke zvažování rychlejší přístup k chemoradioterapii, zvláště u symptomatických pacientů, event. časnější provedení operačního výkonu. Recentně publikované studie hodnotící přínos imunoterapie u dMMR lokálně pokročilého kolorektálního karcinomu prokázaly vysokou účinnost samostatné imunoterapie, a představují tak nadějnou alternativu léčby této skupiny pacientů. První publikovanou studií byla v roce 2020 studie fáze II NICHE, která hodnotila kombinaci nivolumab/ipilimumab u pacientů s deficientním MMR (dMMR) a proficientním MMR (pMMR) kolorektálním karcinodem stadia I–III. U dMMR tumorů bylo dosaženo ve 100 % patologické odpovědi, ve 12/20 případech se jednalo o kompletní patologickou odpověď [21]. Následně v září 2022 uveřejněná studie NICHE II se 112 zařazenými pacienty potvrdila úspěšnost imunoterapie; u 99 % pacientů byla zaznamenána léčebná odpověď, přičemž 67 % z nich dosáhlo kompletní patologické remise. Podobná studie se zaměřením na lokálně pokročilý karcinom rekta, prozatím s výrazně menší kohortou pacientů, kterou publikovala Cercek et al., hodnotila

6měsíční léčbu dostarlimabem v neoadjuvanci následovanou chemoradioterapií a resekci v případě nedostatečné odpovědi. Patologické kompletní remise dosáhlo po 6 měsících léčby imunoterapií 100 % pacientů. V souhlasu s protokolem studie byli pacienti, kteří dosáhli kompletní remise, dále pouze sledováni.

## Závěr

Imunoterapie v neoadjuvantním podání u této malé skupiny pacientů (dMMR/MSI-H představující cca 12 % pacientů) umožňuje orgán zachovný postup. Na délku léčebné odpovědi v této a dalších probíhajících studiích nicméně zatím čekáme. Testování exprese mismatch repair proteinů a mikrosatelitní instability je důležitým předpokladem ke správnému zvolení léčby nejen u metastatického onemocnění, ale i u lokálně pokročilých karcinomů rekta. Imunoterapie představuje nadějnou léčebnou alternativu, která umožňuje orgán zachovný postup, a tím zlepšení kvality života pacientů s dMMR/MSI-H kolorektálním karcinodem.

## Literatura

1. ÚZIS. Novotvary 2018 – současné epidemiologické trendy novotvarů v České republice. [online]. Dostupné z: <https://www.uzis.cz/res/f/008352/novotvary2018.pdf>.
2. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019. *CA Cancer J Clin* 2019; 69(1): 7–34. doi: 10.3322/caac.21551.
3. Siegel RL, Torre LA, Soerjomataram I et al. Global patterns and trends in colorectal cancer incidence in young adults. *Gut* 2019; 68(12): 2179–2185. doi: 10.1136/gutjnl-2019-319511.
4. Stoffel EM, Murphy CC. Epidemiology and mechanisms of the increasing incidence of colon and rectal cancers in young adults. *Gastroenterology* 2020; 158(2): 341–353. doi: 10.1053/j.gastro.2019.07.055.
5. Holowatyj AN, Lewis MA, Pannier ST et al. Clinicopathologic and racial/ethnic differences of colorectal cancer among adolescents and young adults. *Clin Transl Gastroenterol* 2019; 10(7): e00059. doi: 10.14309/ctg.000000000000059.
6. Rodriguez L, Brennan K, Karim S et al. Disease characteristics, clinical management, and outcomes of young patients with colon cancer: a population-based study. *Clin Colorectal Cancer* 2018; 17(4): e651–e661. doi: 10.1016/j.clcc.2018.06.007.

7. Weinberg BA, Marshall JL. Colon cancer in young adults: trends and their implications. *Curr Oncol Rep* 2019; 21(1): 3. doi: 10.1007/s11912-019-0756-8.
8. Tricoli JV, Boardman LA, Patidar R et al. A mutational comparison of adult and adolescent and young adult (AYA) colon cancer. *Cancer* 2018; 124(5): 1070–1082. doi: 10.1002/cncr.31136.
9. Cheong C, Oh SY, Kim YB et al. Differences in biological behaviors between young and elderly patients with colorectal cancer. *PLoS One* 2019; 14(6): e0218604. doi: 10.1371/journal.pone.0218604.
10. Chang C-C, Lin P-C, Lin C-C et al. Molecular and clinicopathological differences by age at the diagnosis of colorectal cancer. *Int J Mol Sci* 2017; 18(7): 1441. doi: 10.3390/ijms18071441.
11. Pearlman R, Frankel WL, Swanson B et al. Prevalence and spectrum of germline cancer susceptibility gene mutations among patients with early-onset colorectal cancer. *JAMA Oncol* 2017; 3(4): 464. doi: 10.1001/jamaoncol.2016.5194.
12. Durhuus JA, Adam R, Roselló S et al. Colorectal cancer in adolescents and young adults with Lynch syndrome: a Danish register-based study. *BMJ Open* 2021; 11(12): e053538. doi: 10.1136/bmjopen-2021-053538.
13. Glynne-Jones R, Wyrwicz L, Tiret E et al. Rectal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2017; 28 (Suppl 4): iv22–iv40. doi: 10.1093/annonc/mdx224.
14. Cervantes A, Adam R, Roselló S et al. Metastatic colorectal cancer: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2023; 34(1): 10–32. doi: 10.1016/j.annonc.2022.10.003.
15. ČLS JEP. Modrá kniha České onkologické společnosti. 28. aktualizace. Brno: Masarykův onkologický ústav 2022.
16. Chalabi M, Verschoor YL, van den Berg J et al. LBA7 – neoadjuvant immune checkpoint inhibition in locally advanced MMR-deficient colon cancer: the NICHE-2 study. *Ann Oncol* 2022; 33 (Suppl 7): S808–S869. doi: 10.1016/annonc/annonc1089.
17. Andre T, Amonkar M, Norquist JM et al. Health-related quality of life in patients with microsatellite instability-high or mismatch repair deficient metastatic colorectal cancer treated with first-line pembrolizumab versus chemotherapy (KEYNOTE-177): an open-label, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2021; 22(5): 665–677. doi: 10.1016/S1473-0445(21)00064-4.
18. Cercek A, Lumish M, Sinopoli J et al. PD-1 blockade in mismatch repair-deficient, locally advanced rectal cancer. *N Engl J Med* 2022; 386(25): 2363–2376. doi: 10.1056/NEJMoa2201445.
19. NCCN. Rectal Cancer (Version 3.2022). [online]. Available from: [https://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/pdf/rectal.pdf](https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/rectal.pdf).
20. Cercek A, Dos Santos Fernandes G, Roxburgh CS et al. Mismatch repair-deficient rectal cancer and resistance to neoadjuvant chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2020; 26(13): 3271–3279. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-19-3728.
21. Chalabi M, Fanchi LF, Dijkstra KK et al. Neoadjuvant immunotherapy leads to pathological responses in MMR-proficient and MMR-deficient early-stage colon cancers. *Nat Med* 2020; 26(4): 566–576. doi: 10.1038/s41591-020-0805-8.

# Hepatosplenic T-cell lymphoma presented with massive splenomegaly and pancytopenia – a case report

## Hepatosplenický T-lymfom s přítomností masivní splenomegalie a pancytopenie – kazuistika

Sukrisman L.<sup>1</sup>, Rajabto W.<sup>1</sup>, Harahap A. S.<sup>2</sup>, Fanggidae E. S. D. E.<sup>2</sup>, Ham M. F.<sup>2</sup>, Priantono D.<sup>1</sup>,

<sup>1</sup> Division of Hematology-Medical Oncology, Department of Internal Medicine Dr. Cipto Mangunkusumo General Hospital/ Faculty of Medicine Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia

<sup>2</sup> Department of Anatomical Pathology, Dr. Cipto Mangunkusumo General Hospital/ Faculty of Medicine Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia

### Summary

**Background:** Hepatosplenic T-cell lymphoma (HSTCL) is a rare subtype of peripheral T-cell lymphoma. Patients usually present with splenomegaly and pancytopenia but without lymphadenopathy. Immunohistochemistry (IHC) staining of bone marrow biopsy shows intra-sinusoidal infiltration of CD3 and CD56 T-lymphocytes. Current treatment strategy of HSTCL includes a CHOP regimen (cyclophosphamide, adriamycine, vincristine, prednisone) followed by autologous transplantation. **Case:** A 28-year-old male presented with abdominal fullness, weight loss, and massive splenomegaly. Laboratory findings revealed pancytopenia. A CT scan of the abdomen displayed hepatomegaly and massive splenomegaly. The bone marrow pathology examination showed monotonous medium-sized lymphocytes with some cluster of atypical lymphocytes with loosely condensed chromatin and pale cytoplasm. The intra-sinusoidal location was more prominent after using IHC staining of CD3 and CD56, which are characteristics of HSTCL. We administered CHOP-based regimen every 3 weeks for 3 cycles; however, the response was a stable disease. Since the splenomegaly was still massive and compromised the patient, the multidisciplinary team decided to perform splenectomy. Unfortunately, the patient did not survive the surgery. **Conclusion:** Hepatosplenic T-cell lymphoma is a rare aggressive disease, which is part of peripheral T-cell lymphoma. CHOP-based chemotherapy appeared to be ineffective, and we need further studies to find the optimal treatment of HSTCL.

### Key words

HSTCL – massive splenomegaly – pancytopenia – CHOP-based chemotherapy

The authors declare that they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.

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



**Wulyo Rajabto, MD**

Division of Hematology-Medical Oncology

Department of Internal Medicine  
Dr. Cipto Mangunkusumo General Hospital/ Faculty of Medicine

Universitas Indonesia  
Jakarta, Indonesia

e-mail: wulyo02@gmail.com

Obdrženo/Submitted: 15. 12. 2022

Přijato/Accepted: 7. 2. 2023

doi: 10.48095/ccko2023246

## Souhrn

**Background:** Hepatosplenický T-lymfom (hepatosplenic T-cell lymphoma – HSTCL) je vzácný podtyp periferního T-lymfomu. U pacientů je obvykle přítomna splenomegalie a pancytopenie, ale bez lymfadenopatie. Imunohistochemické (IHC) barvení vzorků z biopsie kostní dřeně ukazuje intrasinusoidální infiltraci CD3 a CD56 T-lymfocytů. Mezi současné léčebné strategie při HSTCL patří režim CHOP (cyklofosfamid, adriamycin, vinkristin, prednison), po kterém následuje autologní transplantace. **Případ:** Přijali jsme 28letého muže s pocitem plnosti v břiše, úbytkem na váze a masivní splenomegalií. Laboratorní vyšetření odhalila pancytopenii. CT snímek břicha ukázal hepatomegalií a masivní splenomegalií. Patologické vyšetření kostní dřeně ukázalo monotónní středně velké lymfocyty se shlukem atypických lymfocytů s volně kondenzovaným chromatinem a světlou cytoplazmou. Intrasinusoidální umístění bylo patrnější po použití IHC barvení CD3 a CD56, které jsou pro HSTCL charakteristické. Podávali jsme chemoterapii v režimu CHOP každé 3 týdny, a to ve 3 cyklech; odpovědí bylo nicméně stabilní onemocnění. Jelikož splenomegalie byla stále masivní a pacienta omezovala, multidisciplinární tým rozhodl o provedení splenektomie. Pacient bohužel zákrok nepřežil. **Závěr:** Hepatosplenický T-lymfom je vzácné agresivní onemocnění, které spadá pod periferní T-lymfom. Chemoterapie v režimu CHOP se ukázala neúčinná a pro stanovení optimální léčby HSTCL je zapotřebí dalších studií.

## Klíčová slova

HSTCL – masivní splenomegalie – pancytopenie – chemoterapie v režimu CHOP

## Introduction

Hepatosplenic T-cell lymphoma (HSTCL) is a rare and aggressive malignancy of peripheral T-cell lymphoma. It accounts for less than 5% of all peripheral T-cell lymphomas [1,2]. HSTCL occurs in young adults and predominantly affect males. Patients often present with weight loss, abdominal discomfort due to hepatomegaly and massive splenomegaly, and pancytopenia [2]. Lymphadenopathy is usually absent. In order to establish the diagnosis of HSTCL, clinicians should perform bone marrow puncture, aspiration, and biopsy. Here, we reported a comprehensive case demonstration of HSTCL from its diagnosis to the treatment.

## Case description

A 28-year-old male presented with abdominal fullness, fatigue, and weight

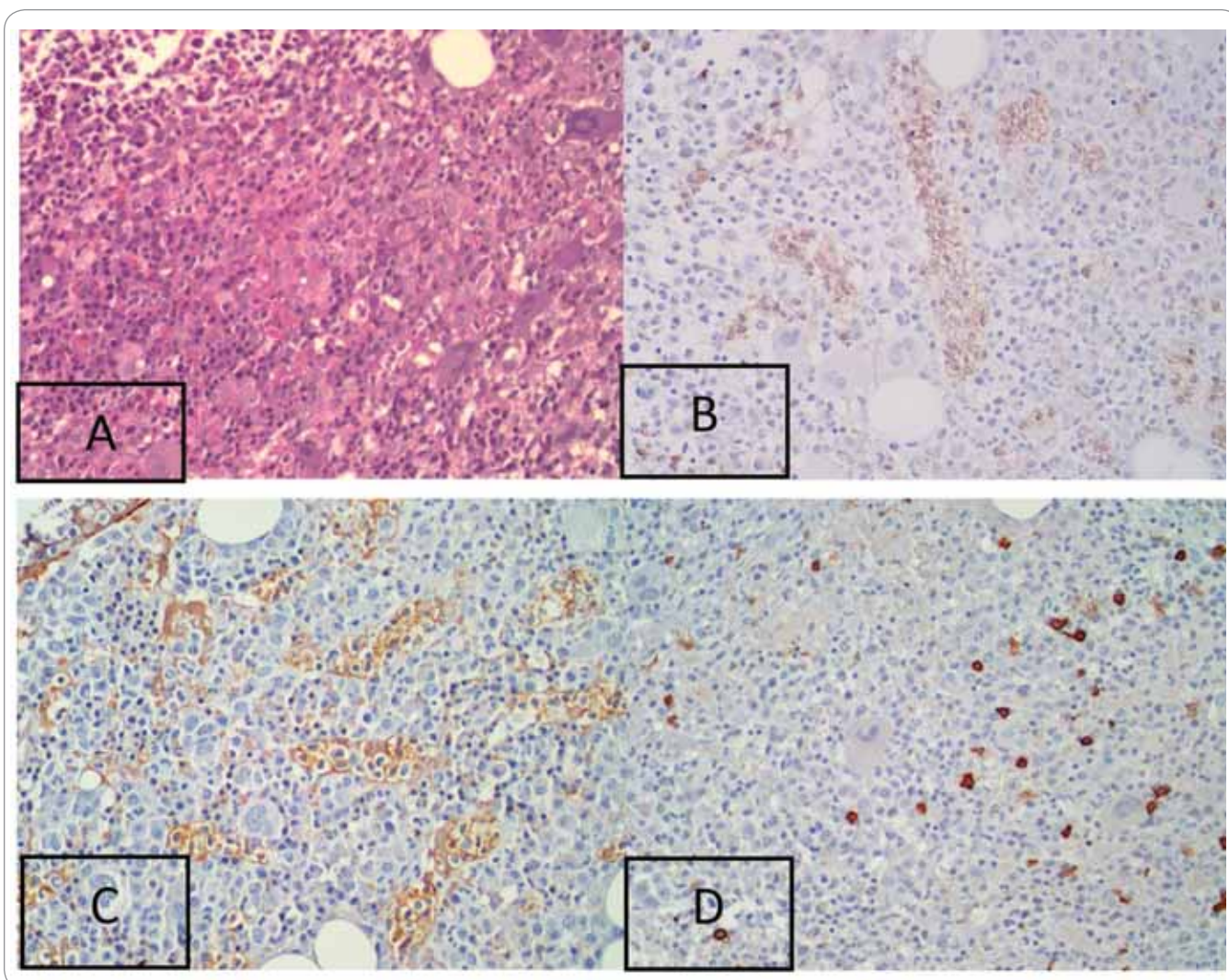
loss of 10 kilograms within the last six months. On physical examination, the patient was fully alert, had pale conjunctiva, and splenomegaly on Schuffner 8. There were no palpable superficial lymph nodes. Laboratory findings showed pancytopenia, with hemoglobin 9.6 g/dL; white blood cells 1,000/μL; lymphocyte count 490/μL, and platelets 110,000/μL. Renal and liver functions were within normal limits. Viral markers HBsAg, anti HCV, and anti-HIV were all found to be non-reactive. Computed tomography (CT) scan of the abdomen showed hepatomegaly and massive splenomegaly (Fig. 1). The bone marrow pathology examination showed monotonous medium-sized lymphocytes with some cluster of atypical lymphocytes with loosely condensed chromatin and pale cytoplasm. The intra-sinusoidal location was more prominent after using immunohis-

tochemistry (IHC) staining of CD3 and CD56 (Fig. 2) which are characteristics of hepatosplenic T-cell lymphoma.

Based on constitutional symptoms, massive splenomegaly, pancytopenia, and bone marrow biopsy with IHC, we established the diagnosis of hepatosplenic T-cell lymphoma (HSTCL). We administered CHOP every 3 weeks for 3 cycles. Evaluation after 3 cycles of chemotherapy showed a stable disease. The chemotherapy regimen was changed into etoposide, prednisone, vincristine, cyclophosphamide, and doxorubicin every 3 weeks. However, the response to this subsequent regimen was a stable disease and the patient was still symptomatic. The patient also had febrile neutropenia despite primary prophylaxis using growth factors. After a multidisciplinary team meeting, the recommendation was to perform splenectomy. The resected spleen is seen on Fig. 3. Splenic irradiation was not performed considering the limited experience of this procedure and the risk of infection. The patient survived the surgery, but massive refractory bleeding occurred in the intensive care unit, and despite optimal resuscitation, the patient did not survive. Pathology results from the removed spleen showed diffuse pattern of monotonous lymphocytes with medium sized and pale cytoplasm. IHC staining showed positive for CD3, CD56, gamma delta T-cell receptor (TCR) and negative for CD20, alpha/beta TCR and TCL1 (Fig. 4). This post-operative pathologic study was consistent with HSTCL.



Fig. 1. Clinical examination and abdominal CT-scan showing massive splenomegaly.

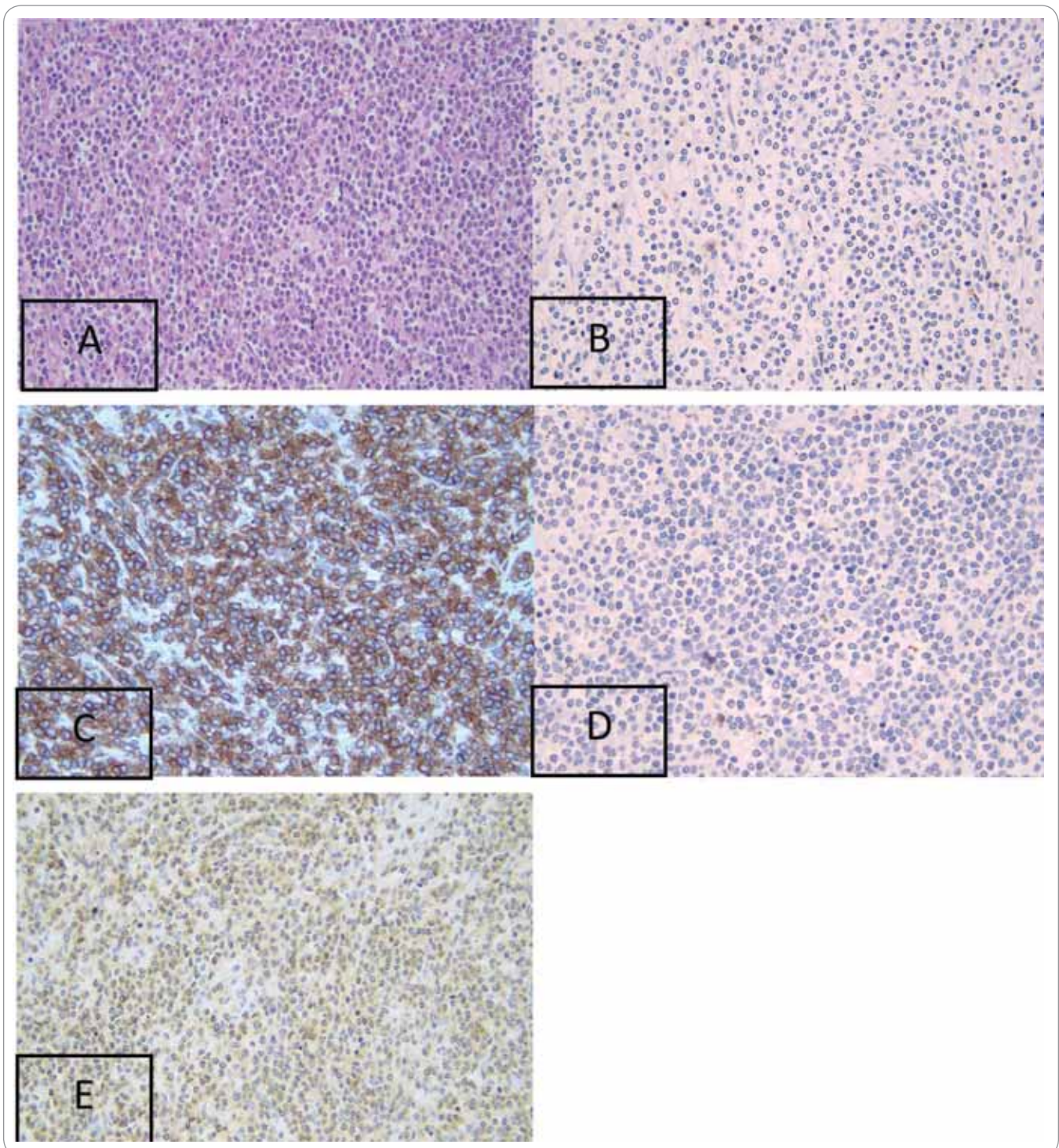


**Fig. 2.** (A) Bone marrow trephine biopsy showed monotonous lymphocytes with medium-size nuclei arranged in cords that were sometimes difficult to be assessed using hematoxylin-eosin staining (400×). (B) Immunohistochemistry staining showed positive CD3 in neoplastic cells in sinusoids (400×). (C) CD56 was also positive in neoplastic cells in the sinusoids (400×). (D) CD20 staining was negative (400×).



**Fig. 3.** Gross appearance of the resected spleen.





**Fig. 4.** (A) Spleen tissue showed monotonous lymphocytes with medium-size nuclei arranged diffusely with hematoxylin-eosin staining (400×). (B) Immunohistochemistry examination of T-cell receptor (TCR) beta showed negative results (400×). (C) T-cell receptor (TCR) gamma positive (400×). (D) Negative T-cell lymphoma protein-1 (TCL-1) (400×). (E) CD3 positive (400×).

### Discussion

HSTCL affects young male adults with median age at initial diagnosis in the range 32–47 years. Traditionally, biopsy and IHC from splenectomy were

used to diagnose HSTCL. In the present case, bone marrow aspiration and biopsy are essential components for baseline evaluation of HSTCL. The proliferation of small-medium-sized mature

T-cells infiltrating the spleen and liver is the characterization of this disease. The splenic red pulp cord and sinuses are usually involved with the white pulp atrophy. Neoplastic cells constantly pre-

sent in the bone marrow and show predominantly intrasinusoidal distribution. Large cell or blastic changes may be seen as the disease is progressing. In this patient, morphology from bone marrow biopsy displayed intrasinusoidal atypical lymphocytes. With the help of IHC, HSTCL neoplastic cells are usually CD3 and gamma/delta TCR positive with typically double negative markers (CD4– and CD8–), although CD8 might be positive in some cases. The expressions of surface CD3, CD2 and CD7 are usually positive without the expressions of CD5, CD1a, terminal deoxynucleotidyl and CD10. The majority of cases have positive CD56 and negative expression of CD57 [2–5].

There are several differential diagnoses for HSTCL, including other T-cell lymphomas as well as non-neoplastic conditions. The gamma/delta T-cell large granular lymphocyte leukemia (T-LGL) with CD4– and CD8– has significant features that overlap with HSTCL. T-lymphoblastic leukemia, primary cutaneous gamma delta T-cell lymphoma, intestinal T-cell lymphomas such as monomorphic epitheliotropic intestinal T-cell lymphoma, and EBV+ T-cell lymphoma of childhood are also considered as the differential diagnosis of HSTCL [2,3,5].

HSTCL has a rapidly progressive course and no standard therapy for treatment [6]. The efficacy of standard anthracycline-containing chemotherapy may have variable responses with high relapse rates and short median survival in most cases [6,7]. Splenectomy may sometimes be a useful therapeutic option. The reported median overall survival (OS) was 6–28.3 months, regardless of the treatment modalities [8].

The problem with refractory HSTCL is that conventional regimens of chemotherapy often yield unsatisfactory responses. Additional alternative induction chemotherapy along with allogenic

bone marrow transplantation have demonstrated efficacy and is recommended for the management of refractory HSTCL [3,9]. Additional regimens include gemcitabine, carboplatin, and dexamethasone as a bridging treatment for allogeneic bone marrow transplant; etoposide, methylprednisolone, high dose cytarabine, and cisplatin, alemtuzumab, and also purine analogs [2]. It was reported that non-CHOP based induction chemotherapy are superior to CHOP/CHOP-like induction in achieving durable survival. Non-CHOP based chemotherapy regimen can intensify the induction therapy of HSTCL followed by allogeneic transplant in selected patients [10].

Current evidence suggests that splenic irradiation (SI) is considered a treatment for patients that are not eligible for splenectomy [11]. It was also reported that the optimal radiation dose of SI remains unknown. There is also a higher risk of myelosuppression from SI. Therefore, the decision to proceed with splenectomy in our patient was considered the best option at the time.

In the future encounter of HSTCL patients who require splenectomy, the risk of severe bleeding after surgery should warrant the multidisciplinary team to reconsider the splenectomy as the choice of treatment.

### Conclusion

We should consider HSTCL in young male patient presents with constitutional symptoms, massive splenomegaly, no palpable superficial lymph nodes, and pancytopenia. The characteristic finding of biopsy and IHC in patients with HSTCL is the presence of small- to medium-sized mature T-cells, which typically involve the sinusoids of the spleen, liver, and bone marrow.

Current treatment modalities with systemic chemotherapy often fail to reach

satisfying response. Therefore, we need further studies to find the optimal therapeutic options for patients with HSTCL. The decision to perform splenectomy should be based on multidisciplinary team meeting. Fatal complication of splenectomy should be communicated to the patient and splenic irradiation might be chosen.

### Acknowledgements

This paper is self-funded.

### References

1. Montgomery M, van Santen MM, Biemond BJ et al. Hepatosplenic T-cell lymphoma: a population-based study assessing incidence and association with immune-mediated disease. *Gastroenterol Hepatol (N Y)* 2015; 11(3): 160–163.
2. Pro B, Allen P, Behdad A. Hepatosplenic T-cell lymphoma: a rare but challenging entity. *Blood* 2020; 136(18): 2018–2026. doi: 10.1182/blood.2019004118.
3. Horwitz SM, Ansell S, Ai WZ et al. NCCN Guidelines insights: T-cell lymphomas, version 1.2021. *J Natl Compr Canc Netw* 2020; 18(11): 1460–1467. doi: 10.6004/JNCCN.2020.0053.
4. Lee B, Lim DJ, Heo WY et al. Aberrant loss of surface CD3 and TCR $\gamma\delta$  expression in relapsed hepatosplenic T-cell lymphoma. *Ann Lab Med* 2021; 41(6): 598. doi: 10.3343/ALM.2021.41.6.598.
5. Chowdhury Z, Khonglah Y, Raphael V et al. Hepatosplenic T cell lymphoma: diagnostic conundrum. *Int J Hematol Oncol Stem Cell Res* 2022; 16(1): 66–73. doi: 10.18502/IJHOSCR.V16I1.8444.
6. Bojanini L, Jiang L, Tun AJ et al. Outcomes of hepatosplenic T-cell lymphoma: the Mayo Clinic experience. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2021; 21(2): 106–112.e1. doi: 10.1016/j.clml.2020.09.013.
7. Krishnan M, Lunning M. Hepatosplenic  $\gamma\delta$  T-cell lymphoma: who is on your speed dial? *J Oncol Pract* 2019; 15(6): 307–312. doi: 10.1200/JOP.18.00594.
8. Li Y, Chen K, Zuo C et al. Survival analysis of hepatosplenic T-cell lymphoma: a population-based study using SEER. *Int J Gen Med* 2021; 14: 8399. doi: 10.2147/IJGM.S335464.
9. Wang Q, Jiang Y, Zhu Q et al. Clinical features and treatment outcomes of 14 patients with hepatosplenic  $\delta$  T-cell lymphoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2021; 147(11): 3441–3445. doi: 10.1007/S00432-021-03587-6.
10. Klebaner D, Koura D, Tzachanis D et al. Intensive induction therapy compared with CHOP for hepatosplenic T-cell lymphoma. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2020; 20(7): 431–437.e2. doi: 10.1016/j.clml.2019.10.007.
11. Sankar K, Pettit K. Non-pharmacologic management of splenomegaly for patients with myelofibrosis: is there any role for splenectomy or splenic radiation in 2020? *Curr Hematol Malig Rep* 2020; 15(5): 391–400. doi: 10.1007/S11899-020-00598-X.

# ZENTIVA

## VÁŠ PARTNER V ONKOLOGII A HEMATOONKOLOGII

Zentiva, k.s., marketingové oddělení  
U Kabelovny 130, 102 37 Praha 10  
Česká republika, [www.zentiva.cz](http://www.zentiva.cz)

547793/10/2022



MINISTERSTVO ZDRAVOTNICTVÍ  
ČESKÉ REPUBLIKY



# NCONZO



# ÚZIS



# AV N Z P

**Vážené dámy, vážení pánové,**  
dovolujeme si Vás pozvat na první národní konferenci

**„ZDRAV - EDU 2023“**, která se bude konat  
**23.–24. října 2023 v hotelu International v Brně**

Záštitu nad konferencí převzal **ministr zdravotnictví ČR**  
**prof. MUDr. Vlastimil Válek, CSc., MBA, EBIR.**

[www.zdrav-edu.cz](http://www.zdrav-edu.cz)

Cílem konference je představení možných směrů v oblasti vzdělávání zdravotnických pracovníků. Významná část sdělení bude věnována analýzám stavu vzdělávání ve zdravotnictví, personálním kapacitám ve zdravotnictví a strategiím ministerstva zdravotnictví v optimalizaci vzdělávání. Součástí programu budou tematické workshopy určené účastníkům konference. Protože je v Brně skvěle vybavené simulační centrum při LF MU, nabízíme účastníkům konference a zájemcům z řad studentů zdravotnických oborů exkurzi tohoto centra.

Věříme, že Vás program konference zaujme.

Těšíme se na Vaši účast a setkání s Vámi  
*programový výbor konference*

# Nová naděje pro pacienty s metastatickým uveálním melanomem

**Uveální melanom je nejčastějším zhoubným nádorem oka. Navzdory lokální radikální léčbě až polovina všech případů přechází do metastatického onemocnění, jehož prognóza byla donedávna tristní. Po vzniku vzdálených metastáz je přežití pacientů jeden rok po první linii léčby 50 % a po druhé linii léčby jen 37 %. Tebentafusp, který již vstoupil i do české klinické praxe, přináší zásadní obrat v podobě snížení relativního rizika úmrtí o 49 % v porovnání se standardní systémovou léčbou.**

Aktuální poznatky o patofyziologii uveálního melanomu (UM) shrnul v úvodu symposia podpořeného společností Medison, které se konalo 30. března u příležitosti Jihočeských onkologických dnů v Českém Krumlově, MUDr. Jindřich Kopecký, Ph.D., z Kliniky onkologie a radiotherapie LF UK a FN Hradec Králové.

UM se u pacientů vyskytuje nejčastěji v páté a šesté dekádě věku. Mezi rizikovými faktory (byť příčinná souvislost u některých z nich dosud nebyla prokázána) se uvádějí barva očí, světlá kůže, působení UV záření, xeroderma pigmentosum, okulodermální melancytóza či syndrom dysplastických névů. UM vzniká v uveálním traktu – podle literárních údajů bývá nejčastěji postižena cévnatka (85–90 %), následují ciliární tělíčko (5–8 %) a duhovka (3–5 %).

Geneze UM je odlišná od jiných melanomů – slizničních, akrálních i kožních. Je charakterizována bodovými mutacemi podjednotky  $\alpha$  G-proteinu kódované geny *GNAQ* a *GNA11* (jejich mutace byly zjištěny u 83–96 % pacientů s UM).

Pacienti s UM často bývají asymptomatictí nebo mají jen nespecifické příznaky, jako je rozmazané vidění či mírná porucha zraku. UM proto bývá zachycen spíše náhodně při běžné oční prohlídce. Naprostá většina nemocných (až 98 %) má v čase diagnózy pouze primární UM, zbývající < 2 % jsou zachyceni již s metastatickým onemocněním (mUM).

Základem léčby nemetastatického UM je radioterapie (brachyterapie, protonová či fotonová terapie) a chirurgie (enukleace, stereotaktická radiochirurgie pomocí Leksellova gama nože, vzácně resekce). Využívá se i laserová terapie (transpupilární termoterapie), fo-

todynamická terapie (fotokoagulace), vzácně i kryoterapie.

Jak připomněl MUDr. Kopecký, navzdory lokální radikální léčbě přechází do metastazující formy až polovina všech UM. Jelikož v oku není lymfatický systém, šíření UM probíhá hematogenní cestou a metastázy se tvoří nejčastěji (až v 90 %) v játrech.

Je-li vzdálené onemocnění omezené pouze na játra, léčba spočívá v chemo- nebo radioembolizaci, regionální perfuzi jater (perkutánní, izolované) či imunoembolizaci.

Pro systémovou terapii se vedle chemoterapie využívá imunoterapie (v ČR je o ni nutno žádat na paragraf 16), v určitých případech přichází v úvahu i cílená terapie (rovněž na par. 16). MUDr. Kopecký v této souvislosti zdůraznil, že všichni pacienti s mUM by měli projít molekulárním tumor boardem a absolvovat sekvenování nové generace (NGS), kterým by bylo možné odhalit případnou terapeuticky využitelnou řídicí mutaci. Pokud probíhají klinické studie s novými léky, pacienti s mUM by do nich rozhodně měli být zařazováni.

## Tebentafusp pomáhá měnit imunitně „studený“ mUM na „horký“

MUDr. Kopecký zdůraznil, že imunologie oka je specifická – v této oblasti nejsou přítomny prakticky žádné imunitní buňky –, což znamená, že imunitní systém UM nerozpoznává. I proto je UM považován za imunologicky „studený“ nádor s nízkou mírou odpovědi na léčbu inhibitory kontrolních bodů imunitní odpovědi. V zájmu dosažení lepších výsledků imunoterapie je obecnou snahou přeměnit imunologicky „studený“ nádor

na „horký“. Tedy takový, který s vyšší pravděpodobností vyvolá silnou imunitní odpověď, protože exprimuje řadu molekul, které umožňují infiltraci T buňkami. A právě to by se mělo díky nové léčbě tebentafusem podařit i v případě mUM.

Jak vysvětlil MUDr. Kopecký, tebentafusp je fúzní protein s dvojitou specifíčností. Je složen z cílové domény (targeting domain – TCR), kterou je receptor pro T buňky, a z efektorové domény tvořené fragmentem protilátky zacílené na CD3.

TCR se s vysokou afinitou váže na peptid gp100, který je prezentován lidským leukocytárním antigenem HLA-A\*02:01 na povrchu nádorových buněk UM u 40–50 % pacientů. Podmínkou léčby tebentafusem je tedy pozitivita HLA-A\*02:01.

Po navázání TCR na buňky UM se efektorová doména váže na CD3 receptor polyklonálních T-lymfocytů a dokáže je aktivovat. Tato imunitní synapse vede k přesměrování a aktivaci polyklonálních T buněk bez ohledu na nativní specifitu jejich TCR. Polyklonální T buňky aktivované tebentafusem uvolňují zánetlivé cytokiny a cytolytické proteiny, což vede k přímé lýze nádorových buněk UM.

Účinnost a bezpečnost tebentafuspu v léčbě mUM ověřila registrační otevřená randomizovaná studie fáze III IMCgp100-202, o jejích výsledcích informoval doc. MUDr. Radek Lakomý, Ph.D., z Kliniky komplexní onkologické péče LF MU a MOÚ, Brno.

Byli do ní zařazeni dospělí pacienti s pokročilým histologicky nebo cytologicky potvrzeným mUM HLA-A\*02:01-pozitivním, ve výkonnostním stavu ECOG 0–1 a s jakýmkoli hladinami lak-

tátdehydrogenázy (LDH), kteří dosud nepodstoupili systémovou léčbu svého onemocnění ani cílenou léčbu jater (kromě operace).

Byli randomizováni v poměru 2 : 1 buď k podávání tebentafuspu (n = 252), nebo k léčbě podle volby zkoušejícího (n = 156) dakarbazinem, ipilimumabem, nebo nejčastěji pembrolizumabem (82 % pacientů v kontrolním rameni). Léčba probíhala do radiologické progresse podle kritérií RECIST v1.1 nebo do závažné toxicity, příp. podle rozhodnutí zkoušejícího nebo odmítnutí pacientem. U imunoterapie byla možná léčba i po radiologické progresi, pokud nebyly známky klinické progresse, nebo pokud nedošlo ke zhoršení výkonnostního stavu pacienta.

Koprimárním cílem studie IMCgp100-202 bylo celkové přežití (overall survival – OS) s tebentafuspem oproti kontrolní skupině v celé populaci, kterou bylo v úmyslu léčit (intention-to-treat – ITT), a dále OS v subpopulaci pacientů, u kterých se během 1. týdne léčby tebentafuspem vyskytla kožní vyrážka, opět v porovnání s OS v kontrolní skupině (pro ověření předpokladu z předchozích studií, že vyrážka během léčby tebentafuspem může být spojena s lepším přežitím). Hlavními sekundárními cíli studie IMCgp100-202 byla míra dosažení objektivní odpovědi (objective response rate – ORR) a doba do progresse onemocnění (progression free survival – PFS) podle hodnocení zkoušejícího.

Doc. Lakomý shrnul nejdůležitější výsledky studie IMCgp100-202 při léčbě tebentafuspem oproti kontrolní skupině (Nathan et al., NEJM 2021):

- medián OS 21,7 vs. 16 měsíců,
- míra dosažení ročního přežití 73 vs. 59 %,
- snížení míry relativního rizika úmrtí o 49 % (vše statisticky významně, pro OS  $p < 0,0001$ ),
- medián PFS 3,3 vs. 2,9 měsíce,
- míra dosažení šestiměsíčního PFS 31 vs. 19 %,
- snížení míry relativního rizika progresse onemocnění nebo smrti o 27 % (rovněž statisticky významně, pro PFS  $p = 0,0139$ ).

Podle analýzy (Piperno-Neumann et al.) prezentované na kongresu AACR

2021 bylo v rameni s tebentafuspem oproti kontrolní skupině dosaženo vyšší míry ORR (9 vs. 5 %), stabilizace onemocnění (37 vs. 22 %) i kontroly onemocnění  $\geq 12$  týdnů (46 vs. 27 %).

Doc. Lakomý v této souvislosti upozornil na fakt, že míra dosažení léčebných odpovědí na první pohled nekorluje s benefitem v podobě celkového přežití, tzn. kritéria RECIST výsledek výrazně podhodnocují. Pro vysvětlení této nekonzistence bude třeba dalšího výzkumu.

Další zajímavostí je analýza nejlepší procentuální změny velikosti nádoru oproti výchozí hodnotě a jejího vztahu k OS (Nathan et al., NEJM 2021). V rameni s tebentafuspem oproti kontrolní skupině bylo 55 vs. 69,5 % pacientů se zvětšením nádoru, z nich po  $\geq 12$  měsících žilo 19,9 vs. 17,9 %. Naopak 39,4 vs. 24,2 % pacientů dosáhlo zmenšení nádoru a po  $\geq 12$  měsících z nich žilo 23,4 vs. 14,7 %. Znamená to, že i když pacienti nesplnili kritéria ORR, ale dosáhli „pouze“ stabilizace onemocnění, evidentně z léčby tebentafuspem profitovali.

Za úplně nejzajímavější z celé studie IMCgp100-202 označil doc. Lakomý poznatek, že i pacienti, u kterých byla zaznamenána progresse jako nejlepší léčebná odpověď, přežívali s tebentafuspem déle (15,3 vs. 6,5 měsíce). Proč tomu tak je, se zatím neví. Existuje hypotéza, že když onemocnění progreduje, může při léčbě tebentafuspem i nadále docházet k imunitní odpovědi – a díky změně imunitně „studeného“ nádoru na „horký“ možná navzdory progresi nastává určitá konzervace onemocnění, což se projeví delším přežíváním.

### **Tebentafusp příznivě ovlivňuje i výsledky další systémové léčby**

O celkovém přežití pacientů samozřejmě rozhoduje i následná léčba po ukončení studované terapie. Doc. Lakomý proto představil i výsledky analýzy (Orloff et al., ASCO 2021) sledující další osud pacientů ze studie IMCgp100-202.

Pacienti z ramene s tebentafuspem měli oproti kontrolní skupině o něco delší čas do potřeby zahájení následné léčby (medián 5,3 vs. 4 měsíce), kterou u nich byla častěji (39,3 vs. 31 %) imunoterapie inhibitory kontrolních bodů imu-

nitní odpovědi (immune checkpoint inhibitors – ICI). Medián OS od zahájení první následující léčby ICI byl u pacientů předléčených tebentafuspem delší než u pacientů, kteří na následnou léčbu ICI přešli z kontrolní skupiny (13,4 vs. 9,4 měsíce). Míra dosažení ročního přežití činila (ve stejném pořadí) 58 vs. 45 %. Míra relativního rizika úmrtí při následné léčbě ICI byla u pacientů předléčených tebentafuspem snížena o 42 %. I pacienti s progresí onemocnění jako nejlepší léčebnou odpovědí, pokud byli předléčení tebentafuspem, měli lepší přežití oproti těm pocházejícím z kontrolní skupiny (snížení míry relativního rizika úmrtí o 57 %).

Nebyla prokázána souvislost mezi OS a přítomností protilátek vůči tebentafuspu, které nezvyšovaly riziko hypersenzitivních reakcí.

Přítomnost vyrážky během 1. týdne léčby tebentafuspem se jako nezávislý prediktor lepšího OS nepotvrdila.

### **Krotitelé cytokinových bouří aneb management nežádoucích účinků**

Specifické nežádoucí účinky (NÚ) související s léčbou tebentafuspem, které se projeví ve studiích, lze rozdělit do dvou skupin – na NÚ mediované cytokiny a na kožní NÚ.

Ve studii IMCgp100-202 byl syndrom z uvolnění cytokinů (cytokine release syndrome – CRS) hlášen u 89 % pacientů, pouze u 1 % však dosáhl stupně  $\geq 3$ . Vyskytoval se zpravidla v řádu hodin po několika prvních dávkách a s postupující léčbou v čase jeho výskyt klesal.

Prof. MUDr. Samuel Vokurka, Ph.D., z Onkologické a radioterapeutické kliniky LF UK a FN Plzeň připomněl, že CRS neboli „cytokinová bouře“ opravdu někdy bouřku připomíná – přichází rychle během několika mála hodin, ale někdy i v řádu minut. Mezi pacienty, u kterých byl CRS ve studii IMCgp100-202 zaznamenán, se v 84 % projevil v den podání infuze. K jeho nástupu však může dojít i následující den po infuzi – proto je nezbytné alespoň první tři infuze tebentafuspu podávat při hospitalizaci s observací do druhého dne.

Všem stupňům závažnosti CRS, jejichž definice je založena na konsen-

zuální klasifikaci Americké společnosti pro transplantační a buněčnou terapii, je společná horečka  $\geq 38^\circ\text{C}$  provázená často zimnicí a třesavkou. Další příznaky se podle tíže CRS liší.

CRS 1. stupně: Horečka  $\geq 38^\circ\text{C}$ , bez známek hypotenze a hypoxie.

CRS 2. stupně: Horečka  $\geq 38^\circ\text{C}$ . Hypotenze, která reaguje na podání tekutin a nevyžaduje podání vazopresorů. Hypoxie/dušnost vyžadující zavedení nosní kanyly pro aplikaci nízkého průtoku kyslíku ( $\leq 6\text{ l/min}$ ) nebo zvýšení koncentrace kyslíku v okolí pacienta.

CRS 3. stupně: Horečka  $\geq 38^\circ\text{C}$ . Hypotenze vyžadující podání vazopresoru s vazopresinem, nebo bez něho. Hypoxie vyžadující zavedení nosní kanyly pro aplikaci vysokého průtoku kyslíku ( $> 6\text{ l/min}$ ) nebo obličejovou masku, masku bez zpětného vdechování nebo Venturiho masku.

CRS 4. stupně: Horečka  $\geq 38^\circ\text{C}$ . Vyžaduje podávání vazopresorů (s výjimkou vazopresinu) a přetlakovou ventilaci (např. CPAP, BiPAP, intubaci a mechanickou ventilaci).

Při znalosti řešení CRS (praktickými zkušenostmi disponují vzhledem ke své standardně používané léčbě zejména hematologové) se jedná o dobře

zvládnutelný stav. Z pacientů s CRS ve studii IMCgp100-202 jich 90 % vyžadovalo podávání antipyretik, 50 % infuzní podporu z důvodu poklesu krevního tlaku a cca třetina podávání systémových kortikosteroidů. Pouze desetina potřebovala nějakou míru oxygenace, podání vazopresorů bylo výjimečné (1 %), stejně jako tocilizumabu, protilátky proti silnému prozánětlivému mediátoru interleukinu IL-6 (1 %).

S ohledem na riziko rozvoje CRS v prvních dnech po zahájení léčby je třeba tebentafusp na začátku postupně dávkovat z  $20\ \mu\text{g}$  v 1. týdnu přes  $30\ \mu\text{g}$  ve 2. týdnu na  $68\ \mu\text{g}$  ve 3. týdnu a dále. Intravenózní aplikace by měla trvat 15–20 minut, nutná je dostatečná prehydratace.

Při aplikaci prvních tří infuzí v týdenních intervalech má být pacient sledován 16 hodin po podání. To předpokládá jeho hospitalizaci přes noc, a to nikoli na standardním, ale raději intermediárním lůžku, ještě lépe na monitorovaném lůžku jednotky intenzivní péče. Monitoring (teplota, puls, dechová frekvence a krevní tlak) je nutný min. každé 4 hodiny.

Po prvních 3–4 týdenních dávkách lze přejít na ambulantní aplikaci, minimem

je 30 minut sledování po podání a monitoring alespoň dvakrát během infuze.

Jak připomněl prof. Vokurka, u pacientů se při léčbě tebentafuspem mohou objevit i kožní reakce, které souvisejí s jeho mechanismem účinku. Peptid gp100, na který se lék váže, totiž není exprimován pouze na buňkách UM, ale i na povrchu normálních melanocytů v kůži. Akutní kožní reakce zahrnují zejména vyrážku, svědění, erytém a kožní edém. Stejně jako v případě CRS se objevují spíše jen po každé z prvních tří až čtyř infuzí tebentafuspu a v průběhu času se snižuje jejich četnost i závažnost. Lze je standardně dobře léčit antihistaminiky a topickými kortikosteroidy, přičemž většina symptomů odeznívá během 6 dnů bez potřeby systémových kortikosteroidů nebo dlouhodobých následků.

Všechna doporučení týkající se podávání tebentafuspu a managementu nežádoucích účinků léčby jsou k dispozici v edukačních materiálech pro lékaře na stránkách Státního ústavu pro kontrolu léčiv ([www.sukl.cz/leciva/em-tebentafusp](http://www.sukl.cz/leciva/em-tebentafusp)).

*Ing. Kateřina Michnová,  
šéfredaktorka Care Comm s.r.o.*

# KIMMTRAK (tebentafusp)

100 µg/0,5 ml koncentrát pro infuzní roztok

## Prodlužuje přežití pacientů s metastatickým uveálním melanomem<sup>1,2</sup>

KIMMTRAK® ▼ (tebentafusp) je indikován jako monoterapie pro léčbu dospělých pacientů s neresekovatelným nebo metastatickým uveálním melanomem s pozitivním lidským leukocytárním antigenem (HLA)-A\*02:01<sup>2</sup>

**Reference:** 1. Nathan P, Hassel JC, Rutkowski P, et al. IMCgp100-202 Investigators. Overall survival benefit with tebentafusp in metastatic uveal melanoma. N Engl J Med. 2021 Sep 23; 385(13): 1196-1206. doi: 10.1056/NEJMoa2103485. 2. Kimmtrak EMA SmPC [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/kimmtrak-epar-product-information\\_cs.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/kimmtrak-epar-product-information_cs.pdf).

### Zkrácená informace o přípravku Kimmtrak ▼

**Název přípravku:** KIMMTRAK 100 µg/0,5ml koncentrát pro infuzní roztok • **Účinná látka:** tebentafuspum • **Složení:** Jedna injekční lahvička o objemu 0,5 ml obsahuje tebentafuspum 100 µg, což odpovídá koncentraci před naředěním 200 µg/ml. • **Léková forma:** koncentrát pro infuzní roztok • **Terapeutická indikace:** monoterapie pro léčbu dospělých pacientů s neresekovatelným nebo metastatickým uveálním melanomem s pozitivním lidským leukocytárním antigenem (HLA)-A\*02:01 • **Dávkování a způsob podání:** Doporučená dávka je 20 µg v den 1, 30 µg v den 8, 68 µg v den 15 a následně 68 µg jednou týdně. Intravenózní podání, doporučená doba podávání infuze je 15 až 20 minut. Přípravek se musí naředit injekčním roztokem chloridu sodného 9mg/ml (0,9%) s obsahem lidského albuminu pro intravenózní infuzi • **Kontraindikace:** hypersenzitivita na léčivou látku nebo pomocnou látku • **Upozornění pro použití:** **Syndrom z uvolnění cytokinů (CRS)** – CRS vznikl ve většině případů v den infuze. U pacientů je třeba sledovat známky CRS (pyrexie, hypotenze, hypoxie, zimnice, nauzea, zvracení, únava a bolest hlavy) nejméně 16 hodin po prvních třech infuzích. Pokud je zjištěn CRS, musí být zahájena léčba (viz SPC). **Akutní kožní reakce** – vyrážka, svědění, erytém a kožní edém se objevily po každé z prvních tří infuzí a v průběhu času se snižovala jejich závažnost a četnost. V případě potřeby je lze léčit antihistaminiky a topickými kortikosteroidy. Při přetrvávajících a závažných příznacích je třeba zvážit podávání systémových steroidů. **Srdeční onemocnění** – Byly pozorovány srdeční příhody, jako je sinusová tachykardie a arytmie. Pacienti s kardiovaskulárními poruchami mohou být vystaveni zvýšenému riziku následků souvisejících s CRS a mají být pečlivě sledováni. Léčba tebentafusem se má provádět s opatrností u pacientů s predispozicí nebo anamnézou prodloužení QT intervalu a užívajících léčiva prodloužující QT interval. U všech pacientů má být před podáním tebentafusu a po něm během prvních 3 týdnů léčby a následně podle klinické indikace proveden elektrokardiogram (detaily viz SPC). **Antikoncepce** – Ženy ve fertilním věku musí používat účinnou antikoncepci během léčby tebentafusem a alespoň 1 týden po poslední dávce. • **Nežádoucí účinky:** Nejčastějšími nežádoucími účinky léčiva u pacientů léčených přípravkem KIMMTRAK byly syndrom z uvolnění cytokinů (88 %), vyrážka (85 %), pyrexie (79 %), svědění (72 %), únava (66 %), nauzea (56 %), zimnice (55 %), bolest břicha (49 %), edém (49 %), hypo/hyperpigmentace (48 %), hypotenze (43 %), suchá kůže (35 %), bolest hlavy (32 %) a zvracení (34 %) • **Interakce:** Nejvyšší riziko interakcí je během prvních 24 hodin po prvních třech dávkách u pacientů současně užívajících substráty CYP450 s úzkým terapeutickým indexem. Je třeba sledovat toxicitu (např. u warfarinu) nebo koncentraci léčiva (např. u cyklosporinu). Podle potřeby se má dávka současně užívaných léků upravit. • **Těhotenství a kojení:** Podávání tebentafusu se těhotným a ženám v reprodukčním věku, které nepoužívají antikoncepci, nedoporučuje. Kojení má být během léčby přerušeno. • **Podmínky uchovávání:** Uchovávejte a převázejte v chladu (2 °C – 8 °C). Uchovávejte injekční lahvičku v krabici chráněnou před světlem. • **Držitel rozhodnutí o registraci:** Immunocore Ireland Limited, Unit 1, Sky Business Centre, Dublin 17, D17 FY82, Irsko • **Registrační číslo:** EU/1/22/1630/001 • **Datum první registrace:** 1/4/2022 • **Datum revize textu:** 1/4/2022

Výdej léčivého přípravku je vázán na lékařský předpis. Přípravek není hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění. Podrobné informace o přípravku naleznete v platném Souhrnu údajů o přípravku, který je k dispozici na <https://www.ema.europa.eu/>. Před předepsáním přípravku si přečtěte Souhrn údajů o přípravku.

▼ Tento léčivý přípravek podléhá dalšímu sledování. To umožní rychlé získání nových informací o bezpečnosti. Žádáme zdravotnické pracovníky, aby hlásili jakákoli podezření na nežádoucí účinky na [www.sukl.cz/nahlasit-nezadouci-ucinek](http://www.sukl.cz/nahlasit-nezadouci-ucinek).

Určeno pouze pro zdravotnické pracovníky.

Medison Pharma s. r. o., Scott.Weber Workspace, Plynární 10/1617, 170 00 Praha 7, e-mail: [office.czech@medisonpharma.com](mailto:office.czech@medisonpharma.com)

CZ-KIM-030-05/2023-R02, datum přípravy: 05.2023

MEDISON

IMMUNOCORE

# NEJVĚTŠÍ DISTRIBUTOR VAKCÍN DO ORDINACÍ

S námi máte o starost méně.



## Pečujeme o Vás

- Zákaznická linka zdarma
- Objednávání online



## Jsme profesionální

- Odborně a spolehlivě
- Individuální přístup



## Dodáváme

- Po celé ČR
- Pravidelně a zdarma

NA TRHU  
OD ROKU  
**2007**

Objednávejte ještě dnes:



[vakciny.avenier.cz](http://vakciny.avenier.cz)

800 11 22 33





# S NÁMI MÁTE O STAROST MÉNĚ.

Největší síť očkovacích center v ČR.



Odborník v oblasti očkování  
a cestovní medicíny



Objednání online na čas bez čekání



Hlídní termínů a účinnosti očkování



Elektronický očkovací průkaz



Přijímáme platební karty  
a poukázky

Naše očkovací  
centra najdete po  
celé České republice.

Objednejte se ještě dnes:



[www.ockovacentrum.cz](http://www.ockovacentrum.cz)

545 123 321



# KLINICKÁ ONKOLOGIE

Časopis České onkologické společnosti a Slovenskej onkologickej spoločnosti  
The Journal of the Czech and Slovak Oncological Societies

## REDAKČNÍ RADA

### Výkonná redakční rada (Brno)

#### vedoucí redaktor

doc. MUDr. Vuk Fait, CSc.

MUDr. Petr Čoupek  
doc. MUDr. Tomáš Kazda, Ph.D.  
prof. MUDr. Martin Klabusay, Ph.D.  
MUDr. Ivo Kocák, Ph.D.

#### výkonný redaktor

prof. MUDr. Marek Svoboda, Ph.D.

MUDr. Rudolf Nenutil, CSc.  
MUDr. Jiří Novák  
PharmDr. Roman Goněc  
MUDr. Peter Grell, Ph.D.

doc. RNDr. Sabina Ševčíková, Ph.D.  
prof. MUDr. Jan Žaloudík, CSc.

### Širší redakční rada

prof. MUDr. Zdeněk Adam, CSc., Brno  
doc. MUDr. Igor Andrašina, CSc., Košice  
doc. MUDr. Soňa Balogová, Ph.D., Bratislava  
doc. MUDr. Tomáš Büchler, Ph.D., Praha  
prof. MUDr. David Cibula, CSc., Praha  
MUDr. Karel Cwiertka, Ph.D., Olomouc  
doc. MUDr. Martin Doležel, Ph.D., Olomouc  
doc. MUDr. Luboš Drgoňa, CSc., Bratislava  
prof. MUDr. Ladislav Dušek, Ph.D., Brno  
prof. MUDr. Tomáš Eckschlager, CSc., Praha  
prof. MUDr. David Feltl, Ph.D., Ostrava  
prof. MUDr. Jindřich Finek, Ph.D., MHA, Plzeň  
doc. MUDr. Lenka Foretová, Ph.D.  
doc. MUDr. Marián Hajdúch, Ph.D., Olomouc  
prof. MUDr. Roman Hájek, CSc., Ostrava  
MUDr. Jana Halámková, Ph.D., Brno

doc. MUDr. Igor Kiss, Ph.D., MBA  
prof. MUDr. Alexandra Kolenová, Ph.D., Bratislava  
MUDr. Jiří Kubeš, Ph.D., Praha  
Andrea Lancia, M.D., Rome  
assoc. prof. Jeong Eon Lee, M.D., Ph.D., Seoul  
prof. MUDr. Jiří Mayer, CSc., Brno  
prof. MUDr. Michal Mego, DrSc., Bratislava  
prof. MUDr. Bohuslav Melichar, Ph.D., Olomouc  
prof. MUDr. Beata Mladosievičová, CSc., Bratislava  
doc. MUDr. Jan Novotný, Ph.D., Praha  
prof. MUDr. Dalibor Ondruš, DrSc., Bratislava  
doc. RNDr. Martina Ondrušová, Ph.D., MPH, Bratislava  
prof. Yeon Hee Park, M.D., Ph.D., Seoul  
prof. MUDr. Luboš Petruželka, CSc., Praha  
prof. RNDr. Šárka Pospíšilová, Ph.D., Brno  
prof. MUDr. Luděk Pour, Ph.D., Brno

doc. MUDr. Jana Prausová, Ph.D., MBA, Praha  
doc. MUDr. Igor Pužanov, Nashville  
prof. MUDr. Lukáš Rob, CSc., Praha  
prof. MUDr. Miroslav Ryska, CSc., Praha  
prof. MUDr. Aleš Ryška, Ph.D., Hradec Králové  
prof. MUDr. Jana Skříčková, CSc., Brno  
prof. MUDr. Martin Smrčka, Ph.D., Brno  
MUDr. Tomáš Svoboda, Ph.D., Plzeň  
doc. MUDr. Michal Staník, Ph.D., Brno  
MUDr. Tomáš Šálek, Bratislava  
prof. MUDr. Pavel Šlampa, CSc., Brno  
prof. MUDr. Jaroslav Štěrba, Ph.D., Brno  
prof. MUDr. Dalibor Valík, Ph.D., Brno  
prof. MUDr. Anna Vašků, CSc., Brno  
doc. MUDr. Mária Wagnerová, CSc., Košice  
prof. MUDr. Stanislav Špánek, CSc., Bratislava

### Čestní členové redakční rady

doc. MUDr. Juraj Kaušitz, CSc., Bratislava  
prof. MUDr. Jan Klášterský, Brusel  
prof. MUDr. Pavel Klener, DrSc., Praha  
prof. RNDr. Jan Kovařík, DrSc., Brno

doc. MUDr. Jozef Mardiak, CSc., Bratislava  
prof. MUDr. Zdeněk Mechl, CSc., Brno  
MUDr. Jaroslav Němec, CSc., Brno  
prof. RNDr. Ondřej Slabý, Ph.D., Brno

MUDr. Viliam Ujházy, DrSc., Bratislava  
prof. MUDr. Jiří Vorlíček, CSc., dr.h.c., Brno  
prof. MUDr. Rostislav Vyzula, CSc., Brno

© Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně, Praha 2023

## KLINICKÁ ONKOLOGIE

Vydává Česká lékařská společnost J. E. Purkyně.

Registrační značka MK ČR 5158. ISSN 0862-495X. ISSN pro on-line přístup 1802-5307.

On-line verze je přístupná na adrese [www.linkos.cz](http://www.linkos.cz).

Nakladatel: Care Comm s.r.o., Klicperova 604/8, 150 00 Praha 5

Odpovědná redaktorka: Ing. Petra Polsen, e-mail: [petra.polsen@carecomm.cz](mailto:petra.polsen@carecomm.cz)

Grafická úprava: Karel Zlevor. Jazyková korektura: Mgr. Ivana Dachary, Mgr. Lucie Pokorná, Ing. Jaroslav Zámečník

Vychází 6x ročně. Předplatné na rok 2023 činí 540 Kč (22 eur).

Informace o podmínkách inzerce poskytuje a objednávky přijímá: Jan Laitl, e-mail: [jan.laitl@carecomm.cz](mailto:jan.laitl@carecomm.cz), tel. +420 725 778 001.

Rukopisy vkládejte do redakčního systému: <https://redakce.carecomm.cz/ko>; případné dotazy směřujte na e-mail [klinickaonkologie@mou.cz](mailto:klinickaonkologie@mou.cz)

Redakce časopisu Klinická onkologie, Masarykův onkologický ústav, Žlutý kopec 7, 656 53 Brno, e-mail: [klinickaonkologie@mou.cz](mailto:klinickaonkologie@mou.cz).

Pokyny pro autory naleznete na [www.linkos.cz](http://www.linkos.cz) v sekci časopisu.

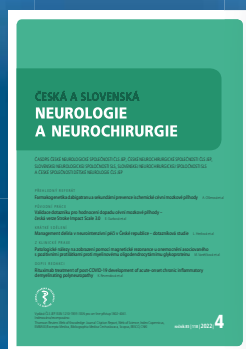
Toto číslo vychází 15. 6. 2023

# Care Comm s.r.o.

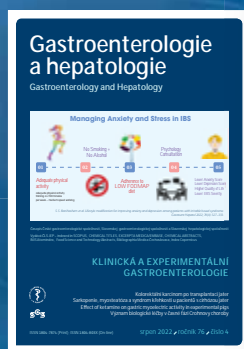
nabízí předplatné následujících odborných titulů:



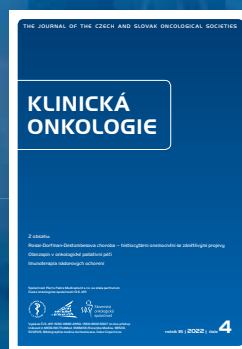
**Florence**  
450 Kč/rok  
(6 čísel)



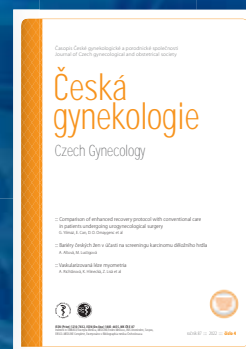
**Cesk Slov  
Neurol N**  
875 Kč/rok  
(6 čísel)



**Gastroent  
Hepatol**  
600 Kč/rok  
(6 čísel)



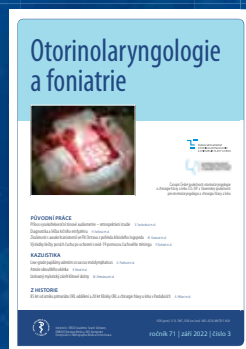
**Klin Onkol**  
540 Kč/rok  
(6 čísel)



**Ceska  
Gynekol**  
550 Kč/rok  
(6 čísel)



**Transfuzní  
Hematol Dnes**  
550 Kč/rok  
(4 čísla)



**Otorinolaryngol  
Foniatr**  
825 Kč/rok  
(4 čísla)



**Acta Chir  
Plast**  
957 Kč/rok  
(4 čísla)



**Rehabil  
Fyz Lek**  
600 Kč/rok  
(4 čísla)

Předplatné objednávejte na [predplatne@carecomm.cz](mailto:predplatne@carecomm.cz).  
Více informací naleznete na [www.carecomm.cz](http://www.carecomm.cz).



**Care Comm**  
we care...

