

# KLINICKÁ ONKOLOGIE

Z obsahu:

ABLI, SRC a další nереceptorové tyrozinkinázy  
jako nové cíle specifické protinádorové léčby

Změny cílových objemů při použití magnetické rezonance  
pro plánování radioterapie lůžka prostaty – předběžné výsledky

Cílená léčba bronchioloalveolárního plicního adenokarcinomu  
inhibitory tyrozinkinázové aktivity EGFR



# Kontrola onemocnění – otevření nových možností

**SUTENT**<sup>®</sup> *tobolky*  
*sunitinibi malas*



**SUTENT<sup>®</sup> v 1. a 2. linii  
metastatického renálního  
karcinomu (mRCC)<sup>2,3,4</sup>**

**STANDARD v I. linii<sup>5</sup>**

**HRAZEN  
v 1. linii  
mRCC<sup>\*6</sup>**



\* pro pacienty s nízkým a středním rizikem

**Zkrácená informace o přípravku**  
**SUTENT 12,5 mg, 25 mg, 37,5 mg,  
50 mg tvrdé tobolky**

**Léčivá látka:** Sunitinibi malas odpovídající 12,5 mg, 25 mg, 37,5 mg nebo 50 mg sunitinibum v jedné tobolce. **Indikace:** Neresekovatelný a/nebo metastatický maligní gastrointestinální stromální tumor po selhání léčby imatinib-mesylátem v důsledku rezistence nebo intolerance, pokročilý a/nebo metastatický adenokarcinom ledviny. **Dávkování a způsob podávání:** Doporučená dávka je 50 mg denně perorálně po dobu 4 po sobě následujících týdnů, následuje 2týdenní pauza (režim 4/2). Na základě individuální bezpečnosti a snášenlivosti možnost úpravy dávky v přírustcích po 12,5 mg. Denní dávka by neměla překročit 75 mg ani by neměla klesnout pod 25 mg. **Kontraindikace:** hypersenzitivita na sunitinibi-malát nebo na kteroukoli pomocnou látku. **Zvláštní upozornění:** Současné podávání se silnými induktory CYP3A4 může snížit koncentrace sunitinibu v plazmě, současné podávání se silným inhibítorem CYP3A4 může zvýšit koncentrace sunitinibu v plazmě a kombinaci s nimi je třeba se vyhnout. Změna barvy kůže je častým nežádoucím účinkem přibližně u 30% pacientů. Pacienti by měli být upozorněni na to, že během léčby přípravkem SUTENT může dojít k reverzibilní depigmentaci kůže/vlasů. Hypertenze byla zaznamenána u 16% pacientů se solidními tumory. U pacientů by měl být prováděn screening hypertenze a v případě potřeby její léčba. Dále by se mělo provádět vyšetření úplného krevního obrazu na začátku každého léčebného cyklu. Snížení ejekční frakce levé komory o  $\geq 20\%$  a pod dolní hranici normálních hodnot se objevilo u 2% pacientů s GIST a u 4% pacientů s mRCC. Tyto poklesy LVF se ukázaly jako neprogresivní a často se při pokračující léčbě zlepšily. Pečlivé sledování klinických známek a příznaků městnavého srdečního selhání (CHF) je nutné provádět zejména u pacientů s kardálními rizikovými faktory a/nebo s onemocněním koronárních arterií v anamnéze. Pokud jsou přítomny příznaky pankreatitidy nebo jaterního selhání, pacient musí užívání přípravku SUTENT přerušit a musí mu být poskytnuta náležitá podpůrná léčba. **Interakce:** S látkami ze skupiny silných inhibitorů CYP3A4 a ze skupiny silných induktorů CYP3A4 – viz zvláštní upozornění. U pacientů užívajících současně antiokoagulancia by se měl pravidelně sledovat celkový krevní obraz, koagulační faktory a tělesný stav. **Těhotenství a kojení:** U těhotných žen nebyly provedeny žádné studie. Není známo, zda je sunitinibi nebo jeho primární aktivní metabolit vylučován do lidského mateřského mléka. **Účinky na schopnost řídit a obsluhovat stroje:** Pacienti by měli být upozorněni, že během léčby se mohou vyskytnout závratě. **Nežádoucí účinky:** Případy krvácení, některé s fatálním průběhem, zahrnovaly gastrointestinální, dýchací a močový trakt, krvácení do tumoru a mozkové krvácení. Případy kardiovaskulárních účinků, některé s fatálním průběhem, zahrnovaly snížení ejekční frakce levé komory a srdeční selhání. Jiné fatální účinky zahrnovaly multisystémové orgánové selhání, diseminovanou intravaskulární koagulaci, peritonální krvácení, rabdomyolýzu, cerebrovaskulární příhody, dehydrataci, adrenální insuficienci, renální selhání, respirační selhání, pleurální efúze, pneumotorax, šok a náhlé úmrtí. Nejdůležitější závažnými nežádoucími účinky vztahujícími se k léčbě pacientů se solidními nádory byly plicní embolie, trombocytopenie, krvácení do tumoru, febrilní neutropenie a hypertenze. Mezi nejčastější nežádoucí účinky všech stupňů závažnosti související s léčbou patří: únava; gastrointestinální poruchy, jako jsou průjem, nauzea, stomatitida, dyspepsie, abd.bolest, flatulence, zvracení, zácpa, glossodynie, sucho v ústech, bolest v ústech; změna barvy kůže; anemie, neutropenie, hypotyreóza, bolest hlavy, dysgeuzie a anorexie; zežloutnutí kůže, palmo-plantární erytrodysestézie; změny barvy vlasů, vyrážka; bolest končetin; pokles hmotnosti; zánět slznice; otok; suchá pokožka, alopecie; epistaxe. **Předávkování:** Nebyl hlášen žádný případ akutního předávkování. **Uchovávání:** Přípravek nevyžaduje žádné zvláštní podmínky uchovávání. **Balení:** 30 tobolek v HDPE lahvičce. **Jméno a adresa držitele rozhodnutí o registraci:** Pfizer Ltd, Ramsgate Road, Sandwich, Kent CT13 9NJ, Velká Británie. **Registrační číslo:** EMEA/1/06/347/001-008. **Datum poslední revize textu:** 05/2009. Výdej léčivého přípravku je vázán na lékařský předpis. Před předepsáním se, prosím, seznámte s úplnou informací o přípravku. Přípravek je hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění.

**LITERATURA:** 1) Ljungberg et al. European Association of Urology guidelines, update 2010. 2) Motzer RJ, Rini BI, Bukowski RM et al. Sunitinibi in patients with metastatic renal cell carcinoma. JAMA. 2006 Jun 7; 295(21): 2516-24. 3) Motzer RJ, Michaelson MD, Redman BG et al. Activity of SU11248, a multitargeted inhibitor of vascular endothelial growth factor receptor and platelet-derived growth factor receptor, in patients with metastatic renal cell carcinoma. J Clin Oncol. 2006 Jan 1; 24(1): 16-24. 4) Motzer RJ, Hutson TE, Tomczak P et al. Sunitinibi versus interferon alfa in metastatic renal-cell carcinoma. N Engl J Med. 2007 Jan 11; 356(2): 115-24. 5) Figlin RA, Hutson TE et al. Overall survival with sunitinibi versus interferon-alfa as first-line treatment of metastatic renal cell cancer (mRCC). ASCO 2008, Oral 5024. 6) www.sukl.cz/seznam-leciv-a-pzlu-hrazenych-ze-zdrav-pojisteni

Souhrnné údaje o přípravku jsou k dispozici na adrese:  
Pfizer, spol. s r.o., Štroupežnického 17, 150 00 Praha 5  
tel.: 283 004 111; fax: 251 610 270, www.pfizer.cz

**Pfizer Oncology**

# Obsah | Contents

## PŘEHLEDY | REVIEWS

- ABL1, SRC a další nереceptorové tyrozinkinázy jako nové cíle specifické protinádorové léčby** 203  
 ABL1, SRC and Other Non-Receptor Protein Tyrosine-Kinases as New Targets for Specific Anticancer Therapy  
 Klener P., Klener P. jr
- Kožní karcinom z Merkelových buněk** 210  
 Merkel Cell Skin Carcinoma  
 Krejčí K., Zadražil J., Tichý T., Horák P., Ciferská H., Hodulová M., Zedulová M., Zlevorová M.
- Molekulární prediktory u nádorů hlavy a krku** 218  
 Molecular Predictors in Head and Neck Tumours  
 Smílek P.
- Cílená léčba bronchioloalveolárního plicního adenokarcinomu inhibitory tyrozinkinázové aktivity EGFR: kazuistika klinicky promptní a výrazné odpovědi a přehled literatury** 224  
 EGFR Tyrosine Kinase Inhibitors as a Targeted Therapy for Bronchioloalveolar Carcinoma of the Lung: a Case Report of a Clinically Prompt and Intensive Response and Literature Review  
 Svoboda M., Fabian P., Slabý O., Staňková M., Lakomý R., Němeček R., Vyzula R.
- Bile Duct Malignancies** 231  
 Malignity žlučových cest  
 Tuček Š., Tomášek J., Halámková J., Kiss I., Andrašina T., Hemmelová B., Adámková-Krákorová D., Vyzula R.
- Bortezomib v léčbě mnohočetného myelomu u pacientů po alogenní transplantaci krvetvorných buněk** 242  
 Bortezomib in Multiple Myeloma Patients after Allogeneic Stem Cell Transplantation  
 Vokurka S.

## PŮVODNÍ PRÁCE | ORIGINAL ARTICLES

- Pozdní následky Wilmsova tumoru a jeho léčby u pacientů léčených v letech 1980–2001 na jediném pracovišti** 245  
 Late Effect of Treatment of Nephroblastoma in Patients Treated in 1980–2001 in a Single Centre  
 Radvanský J., Slabý K., Radvanská J., Malíš J., Eckschalger T., Šulc J., Šafářová M., Kolský A., Procházka M., Gilík J.
- Změny cílových objemů při použití magnetické rezonance pro plánování radioterapie lůžka prostaty – předběžné výsledky** 256  
 Changes in Target Volumes Definition by Using MRI for Prostate Bed Radiotherapy Planning – Preliminary Results  
 Šefrová J., Paluska., Odrážka K., Bělobrádek Z., Hoffmann P., Prošvic P., Brodák M., Louda M., Mačingová Z., Vošmik M.

## KAZUISTIKA | CASE REPORT

- Diseminovaný karcinom prsníka u 28-ročného muža** 264  
 Metastatic Breast Cancer in 28 Years Old Man  
 Drahokoupilová M.

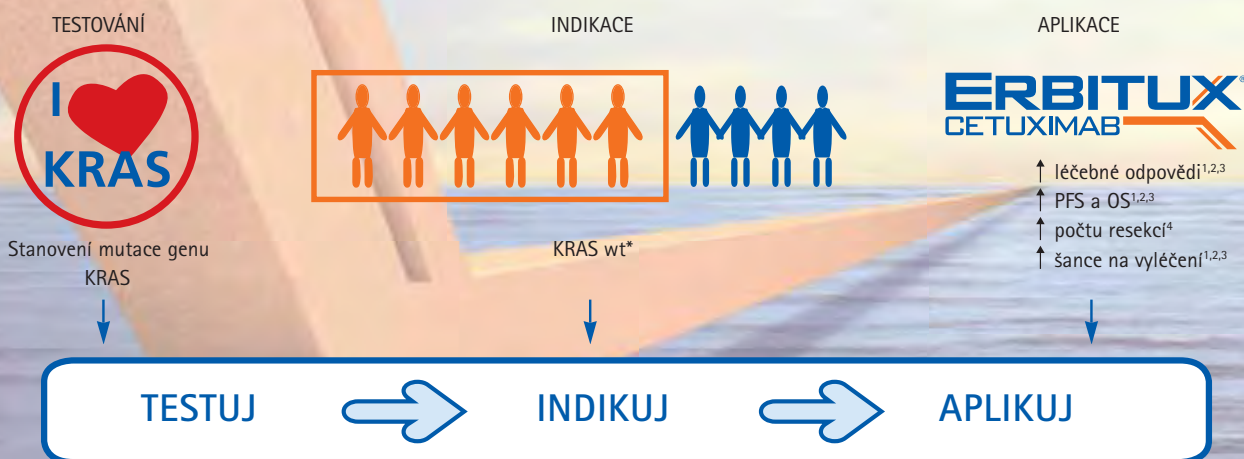
## AKTUALITY Z REGISTRŮ | REPORTS FROM CLINICAL REGISTRIES

- Klinický registr NEXAVAR®** 269  
 Nexavar® Clinical Registry  
 Büchler T.

## ZPRÁVY Z ODBORNÝCH AKCÍ | SYMPOSIUM REPORTS

- Zápis z XVII. pracovního setkání Fóra onkologů a zástupců zdravotních pojišťoven** 273

## INDIVIDUALIZOVANÁ LÉČBA METASTAZUJÍCÍHO KOLOREKTÁLNÍHO KARCINOMU



Merck Serono Oncology | *Combination is key™*

ERBITUX<sup>®</sup> 5 mg/ml infuzní roztok – Zkrácená informace o přípravku

**Léčivá látka:** cetuximabum **Složení:** 5 mg cetuximabu v 1 ml infuzního roztoku. **Indikace:** K léčbě pacientů s metastazujícím kolorektálním karcinomem (mCRC) exprimujícím receptor epidermálního růstového faktoru (EGFR) a vykazujícím gen KRAS divokého typu. Erbitux je možné použít v kombinaci s chemoterapií a/nebo jako samostatnou látku k léčbě pacientů, u kterých selhala léčba na základě oxaliplatinu a irinotekanu, a pacientů, kteří nesnáší irinotekan. Erbitux je indikován v kombinaci s radiační terapií k léčbě pacientů s lokálně pokročilým spinocelulárním karcinomem hlavy a krku a/nebo v kombinaci s chemoterapií na bázi platiny k léčbě opakovaného a/nebo metastazujícího onemocnění. **Dávkování a způsob podání:** Erbitux je podáván 1x týdně. Úvodní dávka cetuximabu je 400 mg/m<sup>2</sup> tělesného povrchu, následující týdenní dávky jsou každá 250 mg/m<sup>2</sup>. Pacienti musí být premedikováni antihistaminiky a kortikosteroidy. U kolorektálního karcinomu je doporučeno provádět léčbu cetuximabem do progresu základního onemocnění. U pacientů s lokálně pokročilým spinocelulárním karcinomem hlavy a krku se cetuximab používá souběžně s radiační terapií. Doporučuje se zahájit terapii cetuximabem jeden týden před radiační terapií a pokračovat v terapii cetuximabem do konce období radiační terapie. Erbitux se podává intravenózně pomocí infuzní pumpy, infuzí po spádu nebo injekční pumpou. **Kontraindikace:** Erbitux je kontraindikován u pacientů se známou závažnou (stupeň 3 nebo 4) přecitlivělostí na cetuximab nebo radiační terapii. **Nežádoucí účinky:** **Hypersenzitivní reakce:** Mírné až středně závažné reakce (stupeň 1 nebo 2) zahrnují příznaky jako je horečka, třesavka, nevolnost, vyrážka nebo dušnost. K těžkým formám reakcí z přecitlivělosti (stupeň 3 nebo 4) dochází obvykle v průběhu nebo do 1 hodiny po ukončení úvodní infuze. Mezi příznaky patří rychlý nástup obstrukce dýchacích cest (bronchospasmus), kopřivka a/nebo hypotenze. Častý je výskyt hypomagnezémie, který je reverzibilní po vysazení přípravku. V kombinaci s lokální radiační terapií se objevily nežádoucí účinky, které jsou pro radiační terapii typické: mukositida, radiační dermatitida a dysfagie nebo leukopenie, převážně ve formě lymfocytopenie. **Kožní reakce:** Zahrnují zejména akneiformní vyrážku a/nebo poruchy nehtů (paronychie). **Zvláštní upozornění:** U pacientů léčených cetuximabem byly zaznamenány závažné (stupeň 3 nebo 4) reakce z přecitlivělosti. Příznaky se objevily v průběhu nebo do 1 hodiny po ukončení úvodní infuze, ale mohou se objevit po několika hodinách. Výskyt závažných reakcí z přecitlivělosti vyžaduje úplné a trvalé přerušování léčby cetuximabem. **Interakce:** V kombinaci s infuzí 5-fluorouracilu se zvyšuje četnost výskytu srdeční ischemie, včetně infarktu myokardu a městnavého srdečního selhání, stejně jako četnost výskytu syndromu ruka-noha. Nejsou k dispozici údaje o tom, že bezpečnostní profil cetuximabu je ovlivněn irinotekanem nebo naopak. **Léková forma a balení:** Infuzní roztok. Balení obsahuje jednu 20 ml lahvičku s obsahem 100 mg cetuximabu. **Uchování:** Uchovávejte v chladničce (2 – 8 °C). Chraňte před mrazem. **Držitel rozhodnutí o registraci:** Merck KGaA, 64293 Darmstadt, Německo. Registrační číslo: EU/1/04/281/003. **Datum poslední revize textu:** 07/2009. Výdej přípravku je vázán na lékařský předpis a je hrazen z prostředků zdravotního pojištění po selhání cytostatické léčby irinotekanem u mCRC a v kombinaci s radiační terapií k léčbě pacientů s lokálně pokročilým spinocelulárním karcinomem hlavy a krku. O úhradě v léčbě 1. linie se zatím jedná. Před předepsáním se seznamte s úplnou informací o přípravku.

\* KRAS wt – nemutovaná forma genu KRAS, protein kódovaný proto-onkogenem KRAS je součástí signální dráhy receptoru pro epidermální růstový faktor

1. Van Cutsem E, Köhne CH, Hitre E, et al. Cetuximab and chemotherapy as initial treatment for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2009;360:1408-17.

2. Bokemeyer C, Bondarenko I, Makhson A, et al. Fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin with and without cetuximab in the first-line treatment of metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2009;27:663-71.

3. Van Cutsem E, Rougier P, Köhne C, et al. A meta-analysis of the CRYSTAL and OPUS studies combining cetuximab with chemotherapy as 1st-line treatment for patients with metastatic colorectal cancer: Results according to KRAS and BRAF mutation status. *Eur J Cancer Suppl* 2009;7:345. Updated information presented at 15th Congress of the European Cancer Organization / 34th Congress of the European Society for Medical Oncology. Abstract 6.077.

4. Folprecht G, Gruenberger T, Bechstein WO, et al. Tumour response and secondary resectability of colorectal liver metastases following neoadjuvant chemotherapy with cetuximab: the CELIM randomised phase 2 trial. *The Lancet Oncology* 2010;11(1):38-47.

Úplnou informaci o přípravku obdržíte na adrese:

Divize Merck Serono, Merck Pharma k.s.,

Na Hřebenech II. 1718/10 140 00 Praha 4

Tel.: +420 272 084 211, Fax: +420 272 084 307

erbitux@merck.cz, www.erbitux.cz, www.erbitux-international.com

# ABL1, SRC a další nereceptorové tyrozinkinázy jako nové cíle specifické protinádorové léčby

## ABL1, SRC and Other Non-Receptor Protein Tyrosine Kinases as New Targets for Specific Anticancer Therapy

Klener P.<sup>1,2</sup>, Klener P. jr.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>I. interní klinika – klinika hematologie VFN a 1. LF UK v Praze

<sup>2</sup>Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

<sup>3</sup>Ústav patologické fyziologie 1. LF UK v Praze

### Souhrn

Nereceptorové protein tyrozinkinázy fyziologicky regulují řadu klíčových buněčných pochodů včetně růstu, proliferace, apoptózy, diferenciaci, adheze, motility či migrace. Patologicky nabytá aktivita protein tyrozinkinázy (např. následkem chromozomální translokace či bodové mutace) je pak odpovědná za růst, proliferaci, invazivitu a metastazování nádoru, za neovaskularizaci nádorové tkáně a za zvýšenou rezistenci transformovaných buněk vůči chemo/radio/imunoterapii. Nízkomolekulární inhibitory tyrozinkinázových proteinů vykazují protinádorový účinek do značné míry právě blokadou signálních drah spouštěných aberantně aktivovanými protein tyrozinkinázami (např. *BCR-ABL1*, *FIP1L1-PDGFR* or *ETV6-PDGFRB*). Imatinib se osvědčil v léčbě chronické myeloidní leukémie, Ph+ akutní lymfoblastové leukémie a některých neoplazií se zvýšenou expresí tyrozinkinázových proteinů, PDGFRA a PDGFRB. Širší inhibiční spektrum tyrozinkinázových proteinů nové generace (např. dasatinib), které zahrnuje kromě (BCR-)ABL1, KIT a PDGFRA/B též rodinu kináz SRC a EPH, umožňuje klinické testování protinádorového účinku kromě osvědčených hematologických diagnóz též u řady solidních tumorů (např. karcinom prostaty).

### Klíčová slova

nereceptorové tyrozinkinázy – SRC – *BCR-ABL1* – TKI – imatinib – nilotinib – dasatinib – CML – solidní nádory – karcinom prostaty – kostní metastázy

### Summary

Non-receptor protein tyrosine kinases are responsible for signal transduction during many physiologic cellular processes, including cell growth and proliferation, apoptosis, differentiation, regulation of actin cytoskeleton, cell shape, adhesion, motility and migration. Aberrant activity of protein tyrosine kinases (acquired as a result of chromosomal translocation or point mutation) has been implicated in the stimulation of cancer growth and progression, the induction of drug-resistance, tumour neovascularization, tissue invasion, extravasation and the formation of metastases. Small molecule tyrosine kinase inhibitors interfere with these pathophysiological circuits by blocking the signalling cascades triggered by the aberrantly activated protein tyrosine kinases (e.g. *BCR-ABL1*, *FIP1L1-PDGFR* or *ETV6-PDGFRB*). Tyrosine kinase inhibitors (imatinib, nilotinib, dasatinib) now belong to established anti-cancer agents with clinical activity in patients with CML, Ph+ ALL, and myeloid neoplasms with overexpression of PDGFRA, PDGFRB and wild-type KIT. New generation tyrosine kinase inhibitors (e.g. dasatinib) with extended activity against SRC and EPH kinases belong to promising anti-cancer agents with documented preclinical activity in several solid tumours (e.g. prostate cancer).

### Key words

non-receptor tyrosine kinases – SRC – *BCR-ABL1* – TKI – imatinib – nilotinib – dasatinib – CML – solid tumours – prostate cancer – bone metastases

Práce byla podpořena společností BMS a Výzkumným záměrem MSM 0021620808.

This work was supported in part by the Czech Ministry of Education under project No. MSM 0021620808 and by BMS (Bristol-Myers Squibb).

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

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

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

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



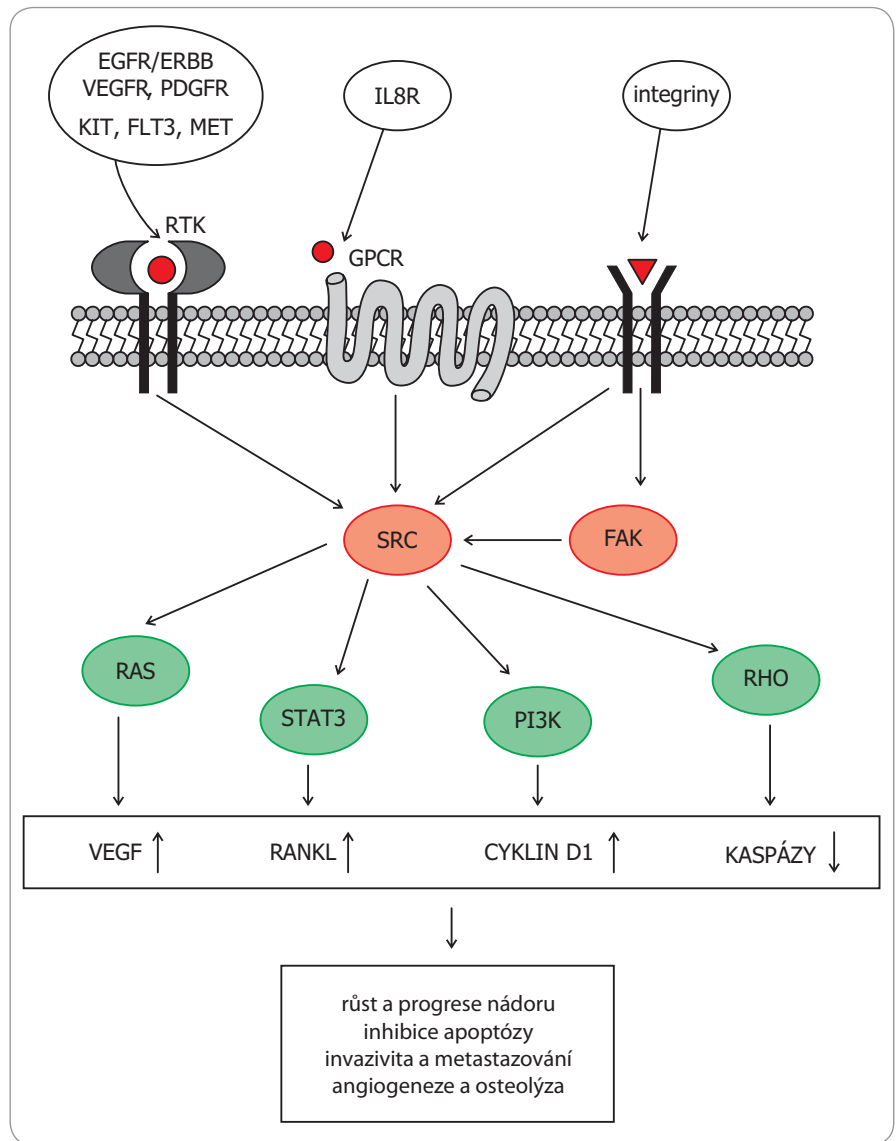
prof. MUDr. Pavel Klener, DrSc.  
I. interní klinika - klinika hematologie VFN a 1. LF UK v Praze  
U nemocnice 2  
128 08 Praha 8  
e-mail: pavel.klener@ruk.cuni.cz

Obdrženo/Submitted: 17. 4. 2010  
Přijato/Accepted: 31. 5. 2010

### Inhibitory tyrozinkinázových proteinů a počátky cílené terapie

Významným pokrokem v léčbě nádorových onemocnění bylo zavedení tzv. cílené léčby (targeted therapy). Cílená léčba specificky blokuje nitrobuněčné pochody podílející se na procesu nádorové transformace a/nebo udržení maligního fenotypu nádorových buněk [1]. Významnou kategorií cílených terapeutik představují tzv. inhibitory signálního přenosu (signal transduction inhibitors – STI), jejichž základní skupinu tvoří inhibitory tyrozinkinázových proteinů (tyrosine kinase inhibitors – TKI). Proteiny s tyrozinkinázovou aktivitou mají schopnost fosforylovat klientské proteiny na tyrozinových zbytcích, čímž významně ovlivňují jejich funkci (obvykle ve smyslu aktivace). Tyrozinkinázové proteiny hrají nezastupitelnou roli v nejrůznějších buněčných transdukčních kaskádách, a tím se významně účastní regulace buněčného růstu, proliferace, migrace, diferenciaci či apoptózy [2]. Obecně lze proteiny s tyrozinkinázovou aktivitou dělit na receptorové tyrozinkinázy (RTK) a nereceptorové proteinové tyrozinkinázy (PTK). U řady nádorových onemocnění dochází k aberantní aktivaci či zvýšené expresi některých RTK (např. KIT, FLT3, EGFR/ERBB/HER, VEGFR) či PTK (např. *BCR-ABL1*, SRC, FAK), což vede ke konstitutivní aktivaci důležitých prouřstových, proliferčních a antiapoptických signálních drah. Mezi přípravky používané k cílené blokáde RTK patří některé monoklonální protilátky, které blokádu extracelulární domény receptoru brání vazbě ligandu, a tím spuštění transdukční kaskády (např. bevacizumab či cetuximab u nádorů s overexpresí VEGF či EGFR). Ke specifické blokáde tyrozinkinázových domén PTK se však používají výhradně nízkomolekulární látky označované jako tyrozinkinázové inhibitory (TKI). TKI blokují transdukční kaskádu buď na úrovni intracytoplazmatické části RTK, nebo na úrovni nereceptorových PTK. V tomto článku se soustředíme na nově zaváděné TKI, které specificky inhibují (mimo jiné) signální kaskádu regulovanou tyrozinkinázovým proteinem SRC (čti sark).

První látkou ze skupiny TKI zavedenou do klinické praxe byl v roce 2001 imatinib



**Obr. 1. Schematické znázornění přenosu signálu z vnějšího prostředí přes SRC a FAK kinázy na nitrobuněčné signální dráhy a důsledky aktivace těchto drah pro biologické chování nádoru.**

RTK – receptor pro tyrozinkinázu, GPCR – G-protein coupled receptor

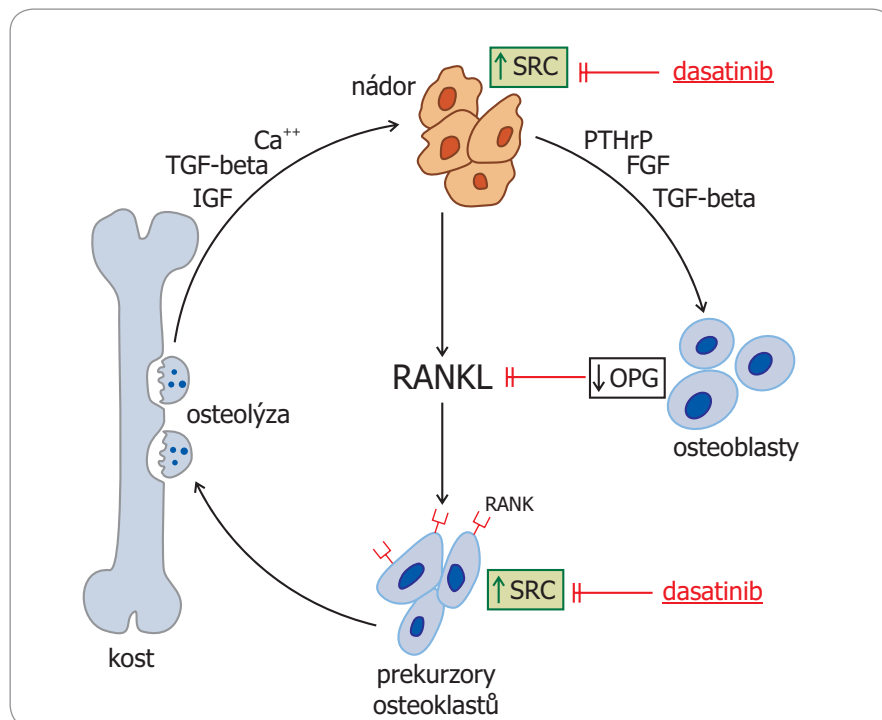
(STI 571). Imatinib poměrně specificky blokuje tyrozinkinázovou doménu onkoproteinu *BCR-ABL1* (kromě ABL1 inhibuje též PDGFR a KIT) a je v současné době lékem první volby u pacientů v chronické fázi chronické myeloidní leukemie (CP CML). Přes nesporný úspěch imatinibu dochází však u části pacientů jak k jeho intoleranci, tak k rozvoji rezistence vůči této látce. Nejčastější příčinou vzniku rezistence k imatinibu jsou bodové mutace v kinázové doméně *BCR-ABL1* proteinu. TKI druhé a třetí generace (např. nilotinib, dasatinib) mají ve srovnání s imatinibem výrazně vyšší afinitu vůči nemu-

tovanému *BCR-ABL1* proteinu (nilotinib 20krát, dasatinib 325krát) a vykazují účinek vůči většině imatinib-rezistentních klonů. Ze všech dosud popsanych mutací *BCR-ABL1* jeví největší rezistenci vůči imatinibu mutace T315I (tyrozin → isoleucin), která stericky brání vstupu imatinibu do hydrofobní kapsy ATP vazebného místa. Leukemické buňky s mutací T315I jsou rezistentní vůči všem třem v současnosti klinicky používaným TKI. Kromě rizika rozvoje rezistence k imatinibu se dalším pádným důvodem vývoje TKI nové generace staly hlubší poznatky o biologii maligních onemocnění. Jasně

se ukázalo, že naprostá většina nádorových onemocnění nevykazuje v době diagnózy závislost pouze na jednom konkrétním onkogenním signálu (tzv. oncogene addiction), jako je tomu v případě *BCR-ABL1* signalizace u CML v chronické fázi. Zrušení onkogenní signalizace *BCR-ABL1* pomocí imatinibu vede v populaci buněk CP-CML k přerušení antiapoptotické a prorůstové signalizace, následkem čehož je postupné odumření naprosté většiny leukemických buněk (pravděpodobně vyjma části leukemických kmenových buněk). Naopak u většiny solidních tumorů existuje v době stanovení diagnózy řada vzájemně redundantních onkogenních signálů, které podporují růst a přežití nádorových buněk různými způsoby, což vyžaduje odlišnou protinádorovou strategii zaměřenou na blokádu více aberantně aktivovaných signálních drah. Podobně v akcelerované fázi CML či v blastickém zvratu již obvykle nejsou leukemické buňky absolutně závislé na *BCR-ABL1* onkogenní signalizaci, což je molekulární příčinou výrazně nižší klinické účinnosti poměrně „úzce“ zaměřeného imatinibu. Výzkum posledních let jasně prokázal klíčovou roli tyrozinkinázového proteinu SRC v progresi různých typů nádorových onemocnění, včetně CML. Předpokládalo se proto, že duální inhibice ABL1 + SRC (např. dasatinibem) povede ve srovnání s imatinibem k účinnější eliminaci neoplastických buněk a rozšíří spektrum klinického použití TKI nové generace.

### SRC kinázy a jejich postavení v transdukční kaskádě

Význam SRC kináz byl zhodnocen teprve v posledním desetiletí, ačkoliv má dlouhou historii. Téměř před 100 lety (1911) Francis Payton Rous izoloval z pokusných kuřat stížených sarkomem bezbuněčné agens, které po aplikaci zdravým kuřatům vyvolávalo rychlý růst stejného typu sarkomu [3]. Jednalo se o retrovirus nazývaný dnes Rous sarcoma virus (RSV) – historicky první retrovirus schopný maligní transformace. Analýzou genomu RSV byl následně odhalen první známý onkogen *v-src* a popsán SRC protein jako první protein s tyrozinkinázovou aktivitou. Později byl



**Obr. 2. Znárodnění zvýšené exprese SRC kináz v průběhu nádorem stimulované osteolýzy a možný tlumivý účinek dasatinibu.**

OPG – osteoprotegerin, PTHrP – parathormon related peptid, TGF – transforming growth factor, FGF – fibroblast growth factor, IGF – insulin-like growth factor, RANKL – receptor activator for nuclear factor κB

identifikován buněčný analog onkogenu *v-src*, protoonkogen *c-SRC*, který představuje důležitý fyziologický regulátor řady významných signálních drah. Somatická mutace genu *c-SRC* působící konstitutivní aktivací proteinu SRC vede k přeměně protoonkogenu v onkogen (aktivace onkogenu SRC).

Rodina SRC nereceptorových tyrozinkináz (SRC family kinases – SFK) zahrnuje devět členů a dělí se do tří podrodin. V podrodině A jsou to kinázy SRC, YES, FYN a FGR, v podrodině B kinázy LCK, HCK, BLK a LYN. Kinázy FRK tvoří vlastní podrodinu. SRC kinázy se významně podílejí na přenosu signálů z vnějšího prostředí do nitra buňky. Tvoří tak klíčové struktury transdukčních kaskád z RTK na nitrobuňčné signální dráhy regulující proliferaci, růst a apoptózu, včetně MAPK, PI3K-AKT-mTOR či JAK-STAT (obr. 1). SRC kinázy jsou spolu s kinázami FAK (focal adhesion kinases) také hlavním mediátorem přenosu signálů z většiny integrinových receptorů, čímž zásadním způsobem regulují buněčnou adhezi, uspořádání cytoskeletu, motilitu,

migraci či neovaskularizaci [4–6]. SRC kinázy hrají také důležitou roli v regulaci osteoklastogeneze [7].

Deregulaci SRC proteinů lze detekovat u širokého spektra nádorových onemocnění. Aberantní SRC signalizace podporuje růst a proliferaci nádorových buněk a zvyšuje práh vůči apoptotickým stimulům, což vede ke ztrátě citlivosti ke konvenční chemoterapii (zejména k paklitaxelu, oxaliplatině a gemcitabinu) a k některým hormonálním přípravkům (např. k tamoxifenu). Změny v uspořádání cytoskeletu vedou k aberacím morfologie nádorové tkáně, ke změnám adhezivních vlastností neoplastických buněk a ke zvýšení jejich lokomočních a invazivních schopností. SRC-indukovaná přeměna epiteliálních nádorových buněk v mezenchymální fenotyp (epithelial to mesenchymal transition – EMT) přispívá k vyšší motilitě, invazivitě, schopnosti intravazovat a následně vytvářet vzdálené metastázy [8].

Konstitutivně aktivované SRC kinázy zvyšují totiž formaci invadopodií, snižují expresi E-cadherinu, stabilizují beta-ca-

tenin, působí aktivaci matrixmetaloproteáz (MMP) a aktivátoru plasminogenu (uPA) a vedou k aberantní expresi a/nebo aktivaci některých integrinových receptorů. Tyto pochody významně alterují vzájemné vztahy nádorových buněk a nádorového mikroprostředí (nenádorových buněk, extracelulární matrix). Zvýšená exprese SRC tedy posiluje invazivitu, usnadňuje migraci a znamená horší prognózu onemocnění, jak bylo prokázáno např. u kolorektálního karcinomu [9]. Dysregulace SRC nacházená u většiny nádorů se také významně podílí na zvýšené schopnosti nádorové tkáně novotvořit cévy (vliv na expresi VEGF, FGF a IL8) [6,7].

Konstitutivní aktivace SRC kináz však ovlivňuje také klíčové patofyziologické mechanismy nádorem stimulované osteolýzy (obr. 2). Zvýšená exprese SRC v nádorových buňkách a v osteoblastech působí zvýšený výdej RANKL (receptor activator of nuclear factor kappa B li-

gand) a snížený výdej osteoprotegerinu (OPG), který se na RANKL váže (a inhibuje ho). Zvýšeně exprimovaný RANKL vazbou na RANK receptor aktivuje signální dráhu NFkappaB, což vede k aktivaci osteoklastů stimulací jejich proliferace a inhibici apoptózy. Také v aktivovaných osteoklastech byla zjištěna zvýšená exprese SRC. Deregulace SRC kináz u nádorů se tudíž podílí jak na vytváření kostních metastáz jako takových, tak na patologickém procesu osteoresorpce a šíření osteolytických ložisek. SRC se tudíž staly potenciálně významným cílem specifické protinádorové léčby [10,11].

### Proteiny s tyrozinokinázovou aktivitou jako specifické cíle protinádorové léčby

**Inhibitory RTK** našly své uplatnění v léčbě různých nádorových onemocnění. V klinické praxi nebo v klinickém zkoušení je větší počet těchto inhibitorů, z nichž ně-

kteří se již staly pravidelnou součástí léčebných schémat. Používané a nejvíce studované inhibitory receptorových TKI jsou uvedeny v tab. 1.

Zavedení prvního **inhibitoru PTK BCR-ABL1** (imatinibu) do klinické praxe před deseti lety znamenalo počátek éry cílené terapie. Od té doby byla vyvinuta a testována řada TKI nové generace [12]. Kromě „klasických“ tyrozinokinázových inhibitorů jsou vyvíjeny látky blokující serin-treoninové kinázy (např. inhibitory aurora kináz) a řada dalších látek, jejichž výčet není předmětem tohoto článku [13–15]. Přehled klinicky používaných a nejvíce studovaných TKI zacílených na *BCR-ABL1*, SRC a jiné tyrozinokinázové proteiny je uveden v tab. 2.

### Inhibitory (BCR-)ABL1

**Imatinib** (Glivec), derivát fenylamino-pyrimidinu, je nízkomolekulární perorální TKI s inhibičním účinkem vůči

Tab. 1. Přehled používaných a nejvíce studovaných receptorových TKI.

TKI	Obchodní přípravek	RTK	Klinické indikace	Pokročilá fáze testování
<b>inhibitory EGFR/ERBB</b>				
gefitinib	Iressa	EGFR/ERBB1/HER1	NSCLC s aktivačními mutacemi EGFR/ERBB1/HER	
erlotinib	Tarceva	EGFR/ERBB1/HER1	NSCLC, metastatický karcinom prostaty	tumory ORL, karcinom kůže, karcinom vulvy
lapatinib	Tyverb	EGFR/ERBB1/HER1, ERBB2/HER2/NEU	karcinom prsu s overexpresí ERBB2/HER2/NEU	NSCLC, tumory GIT, tumory ORL, maligní gliomy
BIBW-2992	Tovok	EGFR/ERBB1/HER1, ERBB2/HER2/NEU	není schválen ke klinickému použití	karcinom plic, karcinom prsu, karcinom prostaty, solidní tumory
<b>inhibitory VEGFR</b>				
pazopanib	Armala	VEGFR1-3, PDGFRA/B, KIT	karcinom ledviny (orphan drug)	NSCLC, karcinom ovaria, sarkomy
cediranib	Recentin	VEGFR1-3	není schválen ke klinickému použití	NSCLC, kolorektální karcinom, maligní gliomy, karcinom prostaty
axitinib	---	VEGFR1-3PDGFRA/BKIT	není schválen ke klinickému použití	karcinom ledviny, karcinom pankreatu, NSCLC, karc. štítné žlázy
<b>multikinázové inhibitory</b>				
sorafenib	Nexavar	PDGFRB, KIT, FLT3, CSF1R, CRAF, BRAF, VEGFR2-3	karcinom jater, karcinom ledviny	melanom, NSCLC, karcinom prostaty
sunitinib	Sutent	PDGFRA/B, VEGFR1-3, KIT, RET, FLT3, CSF1R	karcinom ledviny, GIST	karcinom prsu, maligní gliomy, sarkomy, melanom, solidní tumory



**Tab. 2. Přehled nejvíce studovaných nereceptorových TKI.**

TKI	Obchodní přípravek	RTK	Klinické indikace	Pokročilá fáze testování
<b>inhibitory EGFR/ERBB</b>				
imatinib	Glivec	<i>BCR-ABL1</i> , KIT, PDGFRA/B	CML, Ph+ ALL, GIST, myeloproliferativní neoplazmata s translokacemi <i>FIP1L1-PDGFR</i> A a <i>ETV6-PDGFR</i> B, dermatofibrosarkom perturbans	karcinom ovaria, maligní gliomy, malobuněčný karcinom plic, (u systémové mastocytózy s overexpresí KIT s mutací D816V nebyl prokázán klinický účinek)
nilotinib	Tasigna	<i>BCR-ABL1</i> , KIT, EPH, PDGFRA/B	CML, GIST (orphan drug)	CEL s <i>FIP1L1-PDGFR</i> A, CMML s <i>ETV6-PDGFR</i> B
dasatinib	Sprycel	<i>BCR-ABL1</i> , KIT, EPH, PDGFRA/B, SRC	CML, Ph+ ALL	GIST, myeloproliferativní neoplazmata s translokacemi <i>FIP1L1-PDGFR</i> A a <i>ETV6-PDGFR</i> B, karcinom pankreatu, karcinomy ORL oblasti, karcinom prostaty
bosutinib (SKI-606)		<i>BCR-ABL1</i> , SRC	není schválen ke klinickému použití	karcinom prsu, solidní tumory
saracatinib (AZD-0530)		<i>BCR-ABL1</i> , SRC	není schválen ke klinickému použití	karcinom prsu, karcinom prostaty
danusertib		<i>BCR-ABL1</i> , aurora kinázy	není schválen ke klinickému použití	CML (včetně mutace T315I)

tyrozinkinázové doméně fúzního onkogenu *BCR-ABL1*. Kromě toho inhibuje i další tyrozinkinázové proteiny KIT a PDGFRA/B (včetně fúzních genů *FIP1L1/PDGFR*A a *ETV6/PDGFR*B). Imatinib (400 mg/den) je indikován k primoterapii všech pacientů s CP-CML [16]. Kromě pacientů s CML je fúzní gen *BCR-ABL1* detekován také u části nemocných s *akutní lymfoblastickou leukémií* (Ph+ ALL). U části pacientů s *hypereosinofilním syndromem* (HES) byl popsán rekurentní výskyt fúzního genu *FIP1L1-PDGFR*A, který vzniká kryptickou delecí malé části chromozomu 4q12. Tento typ onemocnění je dle WHO klasifikace 2008 nyní řazen mimo HES do skupiny „myeloidní a lymfoidní neoplazie s eozinofilií a abnormalitami PDGFRA, PDGFRB a FGFR1“. Gen *FIP1L1-PDGFR*A je stokrát citlivější vůči imatinibu než *BCR-ABL1*. Proto u myeloidních neoplazií s *FIP1L1-PDGFR*A plně dostačuje léčba imatinibem v dávce 100 mg/den (léčba je účinná až u 96 % nemocných). U části pacientů s CMML lze detekovat translokaci t(5;12), která dává vznik fúznímu proteinu *ETV6-PDGFR*B. I tato aberantně aktivovaná tyrozinkináza vykazuje citlivost vůči inhibičním účinkům imatinibu. Zvýšená exprese nemutované recepto-

rové tyrozinkinázy KIT je zase nalézána u části nemocných s *gastrointestinálními stromálními tumory* (GIST), u nichž je léčba imatinibem také indikována. Napop nádorové buňky pacientů se systémovou mastocytózou, u nichž lze téměř vždy detekovat **aktivační mutaci** receptorové tyrozinkinázy KIT (D816V), jsou vůči imatinibu rezistentní [16]. Imatinib se v současnosti testuje u dalších nádorů, jako jsou gliomy, SCLC, karcinom ovaria aj. Při léčbě imatinibem se může postupně vyvinout rezistence, která má různé příčiny. Kromě mutací kinázové domény *BCR-ABL1* proteinu (viz výše) vzniká rezistence následkem zvýšené exprese glykoproteinu P nebo amplifikace *BCR-ABL1* genu (tyto příčiny lze do určité míry překonat eskalací dávky imatinibu 600 mg/den).

**Nilotinib** (Tasigna) je syntetický kompetitivní inhibitor *BCR-ABL1* strukturně odvozený od imatinibu. Má podobné spektrum účinnosti (kromě *BCR-ABL1* inhibuje též KIT a PDGFRA/B). Blokáda *BCR-ABL1* je 20–50krát účinnější než blokáda imatinibem a působí i na některé mutace *BCR-ABL1* rezistentní k imatinibu (nikoli ovšem na mutaci T315I) [17]. V současné době je nilotinib indikován k léčbě CP-CML a AP-CML

(400 mg 2krát denně) u pacientů s rezistencí či intolerancí k imatinibu či dasatinibu.

#### Duální inhibitory (ABL1 a SRC)

**Dasatinib** (Sprycel) patří mezi tzv. duální inhibitory, neboť kromě inhibice *BCR-ABL1* (325krát vyšší inhibiční aktivita v porovnání s imatinibem), KIT a PDGFRA/B inhibuje též nereceptorové tyrozinkinázy rodiny SRC a kinázové domény receptorů pro ephrin (EPH) [18]. Z toho pramení i jeho širší spektrum účinnosti. Dasatinib je účinný u většiny mutovaných forem kinázy *BCR-ABL1* (s výjimkou mutace T315I). Proniká hematoencefalickou bariérou, což by teoreticky přispělo jeho účinnosti v léčbě leukemické infiltrace CNS u Ph pozitivních lymfoblastických leukémií [19]. V současné době je dasatinib indikován k léčbě CP-CML (100 mg/den), AP-CML a Ph+ ALL (70 mg 2krát denně) u pacientů s rezistencí či intolerancí k imatinibu či nilotinibu. Pravidelný záchyt zvýšené exprese SFK u různých typů solidních nádorů vytvořil teoretický předpoklad pro terapeutické použití dasatinibu v této indikaci [20,21]. Preklinický výzkum i pilotní klinické studie tento předpoklad zdá se potvrzují.

U *karcinomu prostaty* je zatím s použitím SRC inhibitorů nejvíce zkušeností a v současné době probíhá i největší počet klinických studií jak s dasatinibem v monoterapii, tak v kombinaci s docetaxelem [21]. U tohoto nádoru je z rodiny SRC kináz nejvíce exprimována kináza LYN. Zvýšená exprese SFKs (SRC family kinases) koreluje s omezením citlivosti na androgen-deprivační léčbu [22]. Inhibice src kináz dasatinibem se totiž ukázala jako efektivní léčebný přístup i po ztrátě hormonální závislosti („castration refractory forms“). Studie fáze I/II kombinující docetaxel a dasatinib u kastračně rezistentního karcinomu prostaty byly prezentovány na kongresu ASCO 2009. Odpověď v PSA antigenu byla zaznamenána u 13/32 (41 %) pacientů, klinický benefit (PR + SD) u pacientů hodnotitelných dle RECIST kritérií byl zaznamenán u všech sledovaných pacientů [23]. Dasatinib také signifikantně omezuje incidenci metastáz karcinomu do mízních uzlin, které se považují za prognosticky nepříznivý faktor [24]. Kromě toho inhibice SRC kináz utlumí aktivitu osteoblastů a omezí vznik osetoblastických metastáz [25]. U *karcinomu prsu* byla prokázána zvýšená exprese a aktivita SFKs [26]. Na experimentálních buněčných liniích karcinomu prsu byl demonstrován inhibiční účinek dasatinibu na růst nádoru. Za povšimnutí stojí experimentální data u ER/PR/HER2 negativních buněčných linií (tzv. „triple negative“) [27], která vedla ke studiím fáze II dasatinibu u pacientek s „triple negativním“ karcinomem prsu (www.clinicaltrials.gov). U *gliomů* má dysregulace signalizační kaskády SRC prokazatelnou souvislost s proliferací a aktivitou. Bylo prokázáno, že dasatinib účinně blokuje proliferaci a migraci gliomových buněk a indukuje jejich apoptózu [28]. Klinické ověřování účinnosti dasatinibu je teprve v počátcích. U *kolorektálního karcinomu* se účinnost dasatinibu projevuje ve větším počtu klinických studií [29]. Studuje se posílení účinnosti cetuximabu nebo kombinace FOLFOX. Dasatinib se dále zkouší u většího počtu solidních nádorů. Na myším modelu bylo prokázáno, že dasatinib potlačil progresi pankreatického ductálního adenokarcinomu a omezil jeho metastazování. Ná-

sledně bylo potvrzeno, že inhibice SRC potlačuje invazivitu tohoto nádoru [30]. Dasatinib může též obnovit citlivost nádoru na gemcitabin. Očekávají se první výsledky účinnosti dasatinibu u sarkomů [31], u mezoteliomu pleury, NSCL, nádoru ORL oblasti nebo u ovariálního karcinomu.

**Ovlivnění metastáz.** Kostní metastázy jsou častou komplikací u různých solidních nádorů. Bez ohledu na to, zda se jedná o osteoblastické či osteolytické metastázy, rozhodující pro destrukci kosti je aktivita osteoklastů. Při úloze SFKs v patofyziologickém procesu metastazování je zcela logické, že útlum aktivity SFKs dasatinibem může do tohoto procesu účinně zasáhnout. Významně inhibuje proliferaci osteoklastů na zvířecích modelech [32]. Tento antimetastatický účinek může být potencován současným užíváním bisfosfonátů nebo použitím monoklonální protilátky denosumabu.

**Bosutinib** je tyrozinkinázový inhibitor 2. generace, s převážným účinkem na ABL1 a SRC. Prověřované indikace jsou CML a metastatický karcinom prsu. Bosutinib stabilizuje E-cadherin-beta catenin komplex, což přispívá k jeho antiinvazivní schopnosti [33].

**Saracatinib** (AZD-0530) jako inhibitor SRC se zkouší v podobných indikacích jako dasatinib [34,35]. Brání fosforylaci paxilinu a FAK, a působí tak proti vzniku metastáz [36]. V preklinické studii působil inhibičně čtyř z pěti linií nediferencovaného karcinomu štítné žlázy [37], ale klinická účinnost v této indikaci čeká na ověření.

**Bafetinib** (INO 406) je další z prověřovaných inhibitorů, účinný u CML i v případě různých mutací, s výjimkou mutace T3151 [38]. Zkouší se v léčbě metastatického karcinomu prsu a u maligních gliomů.

**Danuserib** (PHA-739358) je nízkomolekulární inhibitor *BCR-ABL1* a aurora kináz, který jeví účinnost u CML včetně forem rezistentních na imatinib, nilotinib a dasatinib. Je totiž účinný i v případech mutace T3151. Zkouší se u rezistentní CML a u pokročilých metastatických forem solidních nádorů [39].

**Inhibitory FAK** jsou vedle inhibitorů SRC dalším prověřovaným cílem pro protinádorovou léčbu. Za tímto účelem bylo

vyvinuto několik nízkomolekulárních inhibitorů (TAC-544, TAE 226 či PF-228). Farmakologická inhibice FAK sice snižovala v preklinických modelech motilitu a invazivitu nádorových linií, nicméně se ukázalo, že tyto inhibitory působí kompenzační zvýšení exprese PTK zvané PTK2/PYK2. Proto byl nedávno navržen duální inhibitor FAK/PYK2 s kódovým označením PF-562271, který v preklinických modelech vykazuje výrazný protinádorový účinek [40].

### Kombinace TKI s jinými modalitami protinádorové léčby

Experimentální studie naznačují, že aktivace onkogenu SRC není sama o sobě schopna vyvolat maligní transformaci. Protinádorový účinek dasatinibu a dalších inhibitorů SRC je proto testován též v kombinaci s jinými léčivými.

Kombinace s **konvenční chemoterapií** se ukázala výhodná zejména s některými cytostatiky. Je to docetaxel (při léčbě karcinomu prostaty), dále kapecitabin (u karcinomu prsu) nebo gemcitabin (v léčbě karcinomu pankreatu jiných solidních nádorů). Bylo prověřováno i současné podání dasatinibu s chemoterapeutickou kombinací FOLFOX.

**S hormonální léčbou** lze dasatinib kombinovat u karcinomu prsu, kde potencuje účinek tamoxifenu. Za efektivní se považuje kombinace s **inhibitory receptorových TK**. U NSCLC a maligních gliomů se zkouší kombinace s erlotinibem. Dasatinib lze kombinovat i s **monoklonálními protilátkami**, např. s cetuximabem. Bylo prokázáno, že dasatinib může resenzitivovat nádorové buňky k cetuximabu [41]. Kombinace s denosumabem se nabízí v léčbě kostních metastáz.

### Nežádoucí účinky inhibitorů nereceptorových kináz

Léčba je většinou velmi dobře tolerována, nežádoucí účinky jsou zpravidla jen 1. až 2. stupně. Inhibitory *BCR-ABL1* působí retencí tekutin, projevující se periferními otoky, méně často pleurálním výpotkem. Dále se popisuje mírná neutropenie a trombocytopenie, nevolnost, bolesti ve svalech a bolesti břicha. U inhibitorů SRC kináz jsou nežádoucí účinky podobné, limitující toxicitou je nejčastěji průjem a únava.

## Závěr

Zavedení inhibitorů nereceptorových protein tyrozinkináz otevřelo novou možnost v posílení účinnosti protinádorové léčby nejen u hematologických malignit, ale i v terapii solidních nádorů. První zkušenosti s inhibitorem SRC kináz dasatinibem potvrzují jeho účinnost zejména u karcinomu prostaty. Posouzení dalších vhodných indikací, nalezení optimálního dávkování a účelných kombinací s konvenční léčbou si však nepochybně vyžádá ještě další, časově náročné úsilí.

## Literatura

- Pierotti MA, Negri T, Tamborini E et al. Targeted therapies: The rare cancer paradigm. *Molecular Oncology* 2010; 4(1): 19–37.
- Klener P, Klener P Jr. Nová protinádorová léčiva a léčebné strategie v onkologii. Praha: Grada Publishing; , 2010.
- Rous P. A sarcoma of the fowl transmissible by an agent separable from tumor cells. *J Exp Med* 1911; 13(4): 397–411.
- Guarino M. Src signaling in cancer invasion. *J Cell Physiol* 2010; 223(1): 14–26.
- Tsygankov AY, Shore SK. Src: regulation, role in human carcinogenesis and pharmacological inhibitors. *Curr Pharm Des* 2004; 10(15): 1745–1756.
- Eliceiri BP, Paul R, Schwartzberg PL et al. Selective requirement for src kinase during VEGF-induced angiogenesis and vascular permeability. *Mol Cell* 1999; 4(6): 915–924.
- Summy JM, Gallick GE. Src family kinase in tumor progression and metastasis. *Cancer Metastasis Rev* 2003; 22(4): 337–358.
- Roodman GD. Mechanisms of bone metastasis. *New Engl J Med* 2004; 350(16): 353–259.
- Aligayer H, Boyd DD, Heiss MM et al. Activation of src in primary colorectal carcinoma: an indicator of poor prognosis. *Cancer* 2002; 94(2): 344–351.
- Kopetz S, Shah AN, Gallick GE. Src continues aging: Current and future clinical directions. *Clin Cancer Res* 2007; 13(24): 7232–7236.
- Kim LC, Song L, Haura EB. Src kinases as therapeutic targets for cancer. *Nat Rev Clin Oncol* 2009; 6(10): 587–595.
- Zhao J, Guan JL. Signal transduction by focal adhesion kinase in cancer. *Cancer Metastasis Rev* 2009; 28(1–2): 35–49.
- Provenzano PP, Keely PJ. The role of focal adhesion kinase in tumor initiation and progression. *Cell Adh Migr* 2009; 3(4): 347–350.
- Bruton VG, Frame MC. Src and focal adhesion kinase as therapeutic targets in cancer. *Curr Opin Pharmacol* 2008; 8(4): 1–6.
- Naomomto HH, Watanabe BX, Sakurama K et al. Focal adhesion kinase as potential target for cancer therapy (Review). *Oncol Rep* 2009; 22(5): 973–979.
- Klener P, Klamová H. Imatinib – nová perspektiva v léčbě nádorových onemocnění. *Čas Lék čes* 2004; 143: 577–581.
- Deremer DL, Ustun C, Natarajan K. Nilotinib: a second-generation tyrosin kinase inhibitor of chronic myelogenous leukemia. *Clin Ther* 2008; 30(11): 1956–1975.
- Kim LC, Haura EB. Dasatinib in solid tumors. *Expert Opin Investig Drugs* 2010; 19(3): 415–425.
- Hu Y, Swerdlow S, Duffy TM et al. Targeting multiple kinase pathways in leukemic progenitors and stem cells is essential for improved treatment of Ph+ leukemia in mice. *PNAS* 2006; 103(45): 16870–16875.
- Araujo J, Logothetis C. Dasatinib: A potent SRC inhibitor in clinical development for treatment of solid tumors. *Cancer Treat Rev* 2010; Epub ahead of print.
- Fizazi K. The role of src in prostate cancer. *Ann Oncol* 2007; 18(11): 1765–1773.
- Nam S, Kim D, Cheng JQ et al. Action of the Src family kinase inhibitor, Dasatinib (BMS-354825), on human prostate cancer cells. *Cancer Res* 2005; 65(20): 9185–9189.
- Araujo et al. Dasatinib and docetaxel combination treatment for patients with castration-resistant progressive prostate cancer: A phase I/II study (CA180086). *J Clin Oncol* 2009; 27 (Suppl): 15.
- Park SI, Zhang J, Phillips KA et al. Targeting Src family kinases inhibits growth and lymph nodes metastases of prostate cancer in an orthotopic nude mouse model. *Cancer Res* 2008; 68: 3323–3333.
- Koreckij T, Nguyen H, Brown LG et al. Dasatinib inhibits the growth of prostate cancer in bone and provides additional protection from osteolysis. *Brit J Cancer* 2009; 101(2): 263–268.
- Finn RS. Targeting src in breast cancer. *Ann Oncol* 2008; 19(8): 1379–1386.
- Dizdar O, Dede DS, Bulut N et al. Dasatinib may inhibit c-kit in triple negative breast cancer cell lines. *Breast Cancer Res Treat* 2009; 107(2): 303–305.
- Du J, Bernasconi P, Clauser KR et al. Bead-based profiling of tyrosine kinase phosphorylation identifies src as a potential target for glioblastoma therapy. *Nat Biotechnol* 2009; 27(1): 77–83.
- GIG Media Group. Selected clinical trials in colorectal cancer. *Clin Colorectal Cancer* 2008; 7: 69.
- Ito H, Gardber-Thorpe J, Zinner MJ et al. Inhibition of tyrosinase src suppress pancreatic cancer invasiveness. *Surgery* 2003; 134(2): 221–226.
- Shor AC, Keselman EA, Lee FY et al. Dasatinib inhibits migration and invasion in diverse human sarcoma cell lines and induces apoptosis in bone sarcoma cells dependent on Src kinase for survival. *Cancer Res* 2007; 67(6): 2800–2808.
- Saad F. Src as therapeutic target in men with prostate cancer and bone metastases. *BJU Int.* 2009; 103(4): 434–440.
- Keller G, Schafhausen P, Brummendorf TH. Bosutinib. *Recent Results Cancer Rev* 2010; 184: 119–127.
- Dulsat C, Mealy N, Castaner R. Saracatinib. *Drugs Fut* 2009; 34(2): 106.
- Taberero J, Cervantes A, Hoekman K et al. Phase I study of AZD0530, an oral potent inhibitor of src kinase: First demonstration of inhibition of Src activity in human cancers. *J Clin Oncol* 2007; ASCO Ann Meeting Proc; 23: 3520.
- Green TP, Fennell M, Whittaker R. Preclinical anticancer activity of the potent, oral Src inhibitor AZD0530. *Mol Oncol* 2009; 3: 248–261.
- Schweppé RE, Kerege AA, French JD et al. Inhibition of Src with AZD0530 reveals the Src-Focal adhesion kinase complex as a novel therapeutic target in papillary and anaplastic thyroid cancer. *J Clin Endocrin Metab* 2009; 94(6): 2199–2203.
- Kantarjian H, Coutre PL, Cortes J et al. Phase 1 study of INNO-406, a dual Abl/Lyn kinase inhibitor, in Philadelphia chromosome-positive leukemias after imatinib resistance or intolerance. *Cancer* 2010 (epub ahead of print).
- Cohen RB, Jones SF, Aggarwal C et al. A phase I dose-escalation study of danusertib (PHA-739358) administered as a 24-hour infusion with and without granulocyte colony-stimulating factor in a 14-day cycle in patients with advanced solid tumors. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 6694–6701.
- Roberts WG, Ung E, Ehalen P et al. Antitumor activity and pharmacology of a selective focal adhesion kinase inhibitor, PF-562, 271. *Cancer Res* 2008; 68(6): 1935–1944.
- Wheeler DL, Lida M, Kruser TJ et al. Epidermal growth factor receptor cooperates with Src family kinases in acquired resistance to cetuximab. *Cancer Biol Ther* 2009; 8(8): 696–703.

# Kožní karcinom z Merkelových buněk

## Merkel Cell Skin Carcinoma

Krejčí K.<sup>1</sup>, Zadražil J.<sup>1</sup>, Tichý T.<sup>2</sup>, Horák P.<sup>1</sup>, Ciferská H.<sup>1</sup>, Hodulová M.<sup>1</sup>, Zezulová M.<sup>3</sup>, Zlevorová M.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> III. interní nefrologická, revmatologická a endokrinologická klinika FN a LF UP, Olomouc

<sup>2</sup> Ústav patologie FN a LF UP, Olomouc

<sup>3</sup> Onkologická klinika FN a LF UP, Olomouc

### Souhrn

Karcinom z Merkelových buněk je vzácné nádorové onemocnění kůže vyskytující se především na slunci exponovaných místech u starších mužů, bělochů. Výrazně častější a v signifikantně mladším věku je jeho záchyt u imunokompromitovaných jedinců. U těchto nemocných má nádor většinou vysoce agresivní průběh a často fatální výsledek. Výskyt karcinomu z Merkelových buněk má v posledních letech celosvětově vzrůstající tendenci. V porovnání s melanomem vykazuje strmější vzestup incidence a je spojen s dvojnásobnou letalitou. Více než třetina nemocných nádoru nebo s ním spojeným komplikacím podléhá. Maligní zvrát Merkelových buněk je v současné době dáván do souvislosti s infekcí vyvolanou nedávno objeveným Merkel cell polyomavirem. V některých případech může mít onemocnění v počáteční fázi poměrně nenápadný klinický obraz, což je v kontrastu s jeho rozsáhlou mikroskopickou propagací. Z tohoto důvodu se zvyšuje riziko pozdní diagnózy nebo nedostatečného primárního chirurgického ošetření. Diagnostickým standardem je histologické a především imunohistochemické vyšetření vzorku nádorové tkáně. Karcinom z Merkelových buněk má výraznou tendenci k lokální rekurenci a časnému rozvoji metastáz do regionálních uzlin s následnou generalizací. Základem léčby je radikální excize tumoru doplněná ve většině případů o adjuvantní radioterapii cílenou na místo primárního výskytu a na oblast regionálních drenážních uzlin. Účinnost rozdílných chemoterapeutických protokolů u karcinomu z Merkelových buněk je většinou malá a medián přežití je jen v řádu měsíců. Přislíbem do budoucna se jeví možnost vakcinační profylaxe Merkel cell polyomavirové infekce u rizikových pacientů, terapeutické využití antisense oligonukleotidů nebo microRNAs, případně kompletní eliminace karcinomu z Merkelových buněk ovlivněním exprese tumor supresorového genu atonal homolog 1. Z prognostického hlediska hraje u karcinomu z Merkelových buněk nejvýznamnější roli staging tumoru v době záchytu. V této souvislosti je třeba zdůraznit význam pravidelné inspekce kůže u nejrizikovější skupiny imunokompromitovaných nemocných a u suspektních lézí indikovat adekvátní terapeutický přístup.

### Klíčová slova

karcinom z Merkelových buněk – zobrazovací diagnostika – etiologie – staging tumoru – buněčný cyklus – Merkelův polyomavirus – terapie – prognóza

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

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

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

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



MUDr. Karel Krejčí, Ph.D.

III. interní nefrologická, revmatologická a endokrinologická klinika FN a LF UP Olomouc  
I. P. Pavlova 6  
775 20 Olomouc  
e-mail: karel.krejci@fnol.cz

Obdrženo/Submitted: 2. 3. 2010

Přijato/Accepted: 20. 5. 2010

## Summary

Merkel cell carcinoma is a rare tumour of the skin. It affects predominantly elderly Caucasian males on sun-exposed areas of the skin. Distinctively more frequent and at significantly lower age, its incidence is higher in immunocompromised patients. In these patients we often observe the highly aggressive course of Merkel cell carcinoma and a fatal outcome. The incidence of Merkel cell carcinoma has been rising in recent years and is more dramatic than the increased incidence of cutaneous melanoma. More than one-third of Merkel cell carcinoma patients will die from this cancer, making it twice as lethal as melanoma. The malignant transformation of Merkel cells is currently thought to be related to an infection with Merkel cell polyomavirus. In the early stage the discreet clinical picture may be contrary to extensive microscopic invasion and this seemingly benign appearance can delay diagnosis or increase the risk of insufficient tumour excision. The diagnosis is definitely confirmed by histological evaluation and immunohistochemical tests. A typical feature is the tendency of Merkel cell carcinoma to frequent local recurrence and early metastasizing into regional lymph nodes with subsequent tumour generalization. The mainstay of therapy is radical excision of the tumour and adjuvant radiotherapy targeted at the site of primary incidence and local draining lymph nodes. The efficacy of different chemotherapy protocols in Merkel cell carcinoma is limited and the median survival rate is measured in months. In the future, prophylaxis with vaccination against Merkel cell polyomavirus will hopefully be possible in high-risk patients, as well as therapeutic usage of antisense oligonucleotides or microRNAs, eventually complete Merkel cell carcinoma elimination by affecting the tumour suppressor gene Atonal homolog 1 expression. The staging of the tumour at time of diagnosis is the most important prognostic factor. In this respect, the importance of preventative skin inspection in high-risk immunocompromised patients must be stressed and suitable therapy must be indicated in suspected lesions.

## Key words

Merkel cell carcinoma – diagnostic imaging – etiology – cancer staging – cell cycle – Merkel cell polyomavirus – therapy – prognosis

## Úvod

Karcinom z Merkelových buněk (Merkel cell carcinoma – MCC) je vysoce agresivní neuroendokrinní kožní nádor, poprvé popsán Tokorem [1] v roce 1972 jako trabecular cell carcinoma. Nádor primárně vychází z Merkelových buněk lokalizovaných v bazální vrstvě epidermis. Tyto buňky se vyvíjejí z epidermálních kmenových buněk a mají svůj původ v embryonální pokožce. U dospělých myší epidermální kmenové buňky postupně nahrazují odumírající populaci Merkelových buněk. K tomu, aby se z kmenových buněk staly Merkelovy buňky, je nezbytný transkripční faktor atonal homolog 1 (Atoh1) [2]. V současné době jsou zkoumány možnosti regulace tohoto faktoru ve vztahu k diferenciaci Merkelových buněk a rozvoji MCC.

Nádor se vyskytuje především na slunci exponovaných místech u starších mužů, bělochů. V signifikantně mladším věku je jeho záchyt vyšší u jedinců s imunitní dysfunkcí vzniklou nejčastěji na podkladě virové infekce, autoimunitního onemocnění nebo po orgánové transplantaci. Výjimečně byl popsán i v dětském věku [3,4]. Výskyt MCC má v posledních letech vzrůstající tendenci. Dle Surveillance Epidemiology and End Results (SEER) registru Spojených států amerických činila roční incidence 1,5 případu na jeden milion

obyvatel v roce 1986 a 4,4 případu na milion obyvatel v roce 2001 [5]. V roce 2008 však jen pro USA predikovala American Cancer Society až 1 500 nových případů MCC [6], tedy téměř pět případů na milion obyvatel, a podobná data byla prezentována i pro evropskou a australskou populaci [7,8].

V porovnání s melanomem je MCC charakterizován dvojnásobnou letalitou a strměji narůstající incidencí [5]. Po chirurgickém odstranění má nádor tendenci k lokální rekurenci (27–60%), k časnému postižení regionálních uzlin (45–91%) a vzdáleným metastázám (18–52%) [9]. Maligní zvrstvení Merkelových buněk je podle současných poznatků ve většině případů MCC předcházen integrací DNA sekvencí nedávno objeveného Merkel cell polyomaviru (MCPyV) do buněčného genomu [10].

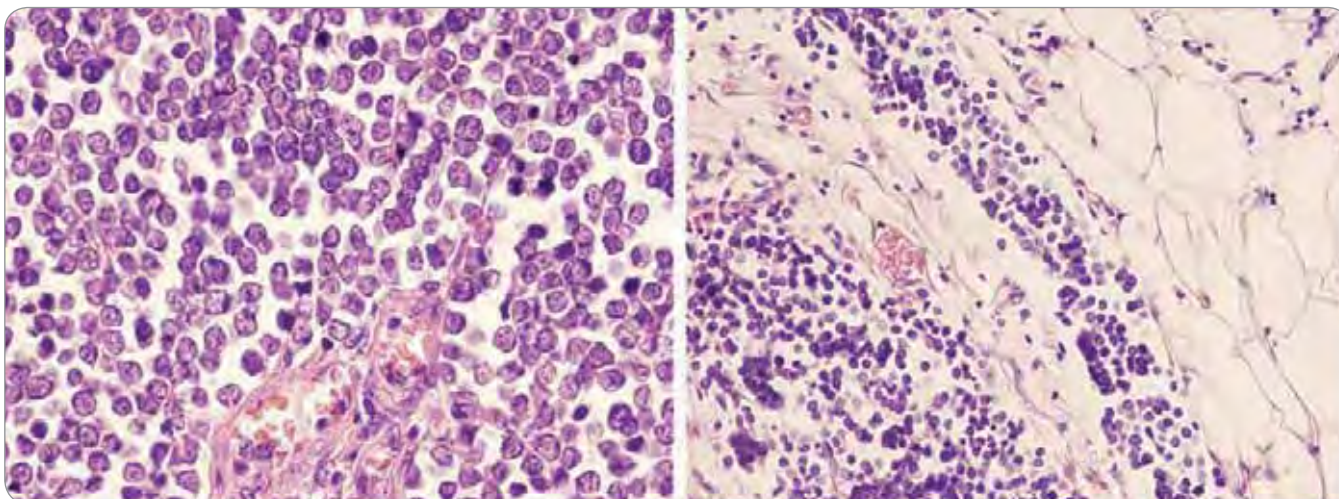
## Klinická manifestace, diagnostika a staging

Nádor se nejčastěji vyskytuje na hlavě a krku (40–75%), naopak na trupu a v gluteální oblasti se vyvíjí jen 10–27% nádorů [11]. Klinicky se zpravidla jeví jako nebolestivý, solidní, polokulovitý, červený až lividně zbarvený vyklenující se tumor velikosti v rozmezí 0,3–15 cm [12]. Makroskopicky se většinou zdá být dobře ohraničený a homogenní, což je v kontrastu s jeho rozsáhlou mikroskopickou propagací. Při

růstu na trupu a v gluteální oblasti může nádor imponovat jako hluboko v podkoží uložený uzel barvy kůže podobající se cystě [13] a tento zdánlivě benigní nález zvyšuje riziko pozdní diagnózy nebo nedostatečné primární excize tumoru.

Histologické charakteristiky MCC jsou zřetelné, ale nespecifické. Histologický typ tumoru má vztah k agresivitě onemocnění, kdy rozlišujeme trabekulární, intermediární a nejmalignější variantu z malých buněk. Smíšené a přechodné formy mezi těmito třemi typy jsou velmi časté. Mitotický index bývá velmi vysoký a je pozorováno mnoho atypických mitóz a často invaze do lymfatických cév (obr. 1). Příslušnost k neuroendokrinnímu systému dokladuje elektronmikroskopický obraz elektrodenních neurosekrečních granul v buňkách tumoru [14] a v některých případech lze detekovat i přítomnost intranukleárních a cytoplazmatických inkluzí MCPyV.

Diferenciálně diagnosticky je při základním histologickém vyšetření potřeba odlišit metastatický malobuněčný karcinom plic, neuroblastom, kožní lymfom, metastatický karcinoid, amelanotický melanom, karcinom potních žláz, histiocytózu z Langerhansových buněk a Ewingův sarkom [15]. Je tedy nutné provést pečlivě celkové klinické vyšetření a hlavně imunohistochemické vy-



Obr. 1. Kompaktní nádorové ložisko složené z malých bazofilních buněk s vysokým mitotickým indexem (vlevo, světelná mikroskopie, HE, x 400) a invazí do lymfatických cév (vpravo, světelná mikroskopie, HE, x 200).

Tab. 1. Imunohistochemické vyšetření v diferenciální diagnostice karcinomu z Merkelových buněk.

Nádor	CK 20	CK 7	CD56	vimentin	CD99 (MIC2)	chromogranin	synaptofysin	S100	NFP	LCA	TTF1	NSE
Merkelův karcinom	+	-	+	-	vzácně + (cytoplazma)	+	+	±	+	-	-	+
metastatický malobuněčný plicní karcinom	-	+	+	-	vzácně + (cytoplazma)	+	+	-	±	-	+	+
neuroblastom	-	-	+	+	-	+	+	fokálně +	+	-	-	+
kožní lymfom	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-
metastatický karcinoid	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-	plicní +	+
malobuněčný a amelanotický melanom	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+
karcinom potních žláz	-	+	-	-	-	-	-	fokálně +	-	-	-	-
histiocytóza z Langerhansových buněk	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
Ewingův sarkom/PNET	-	-	+	+	membránově +	-	+	fokálně +	vzácně +	-	-	-

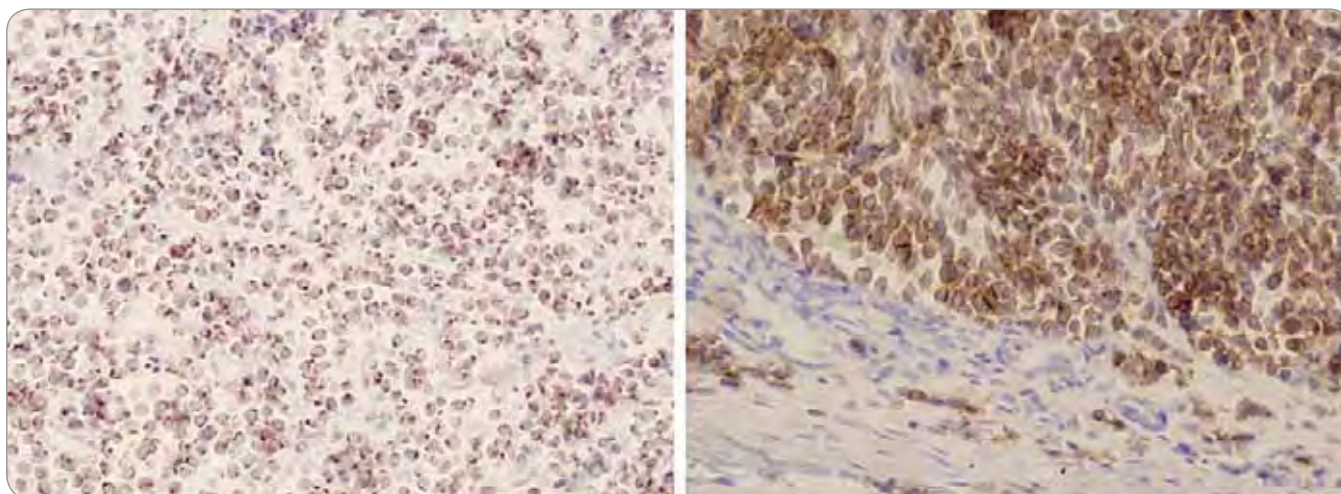
CK 20 – cytokeratin 20, CK 7 – cytokeratin 7, CD56 (NCAM) – adhezní protein nervových buněk, S100 – protein S100, NFP – neurofilamentový protein, LCA – společný leukocytární antigen, TTF1 – tyroidální transkripční faktor 1, NSE – neuron specifická enoláza, PNET – primitivní neuroektodermální tumor

šetření nádorové tkáně (tab. 1). MCC má charakteristicky paranukleární bodovou pozitivitu na cytokeratin 20 a rovněž pozitivní barvení na CD56, neuron-specifickou enolázu, chromogranin a synaptofyzin (obr. 2). Může být slabě pozitivní na

S100. Je třeba pamatovat i na možnost sdruženého výskytu s jinými nádory, například s karcinomem prsu nebo ovaria, leukemií, maligním lymfomem, anaplastickým meningeomem [16]. U 20–50% pacientů s MCC se v anamnéze vyskytuje

další kožní neoplazie, zejména bazocelulární a dlaždicobuněčný karcinom [17].

V určení stadia tumoru (tab. 2) hraje významnou roli PET/CT vyšetření. S vysokou citlivostí umožňuje odhalit jak po-



Obr. 2. Buňky tumoru s výraznou dot-like paranukleární pozitivitou cytokeratinu 20 (vlevo, x 200) a membránovou pozitivitou CD 56 (vpravo, x 200).

stížení regionálních lymfatických uzlin, tak případnou rekurenci či přítomnost vzdálených metastáz (obr. 3,4). Je rovněž vhodné k plánování a hodnocení účinnosti cílené radioterapie a efektu aplikované chemoterapie [18,19].

#### Etiopatogeneze MCC

##### Růstové charakteristiky, apoptóza a regulace buněčného cyklu

Pro MCC je typická tendence k časté lokální rekurenci a časnému rozvoji metastáz do regionálních uzlin s následnou generalizací onemocnění. Tento agresivní růstový potenciál, kdy tumor může bez terapie zdvojnásobit svůj rozměr během jednoho týdne [6], vedl ke studiu

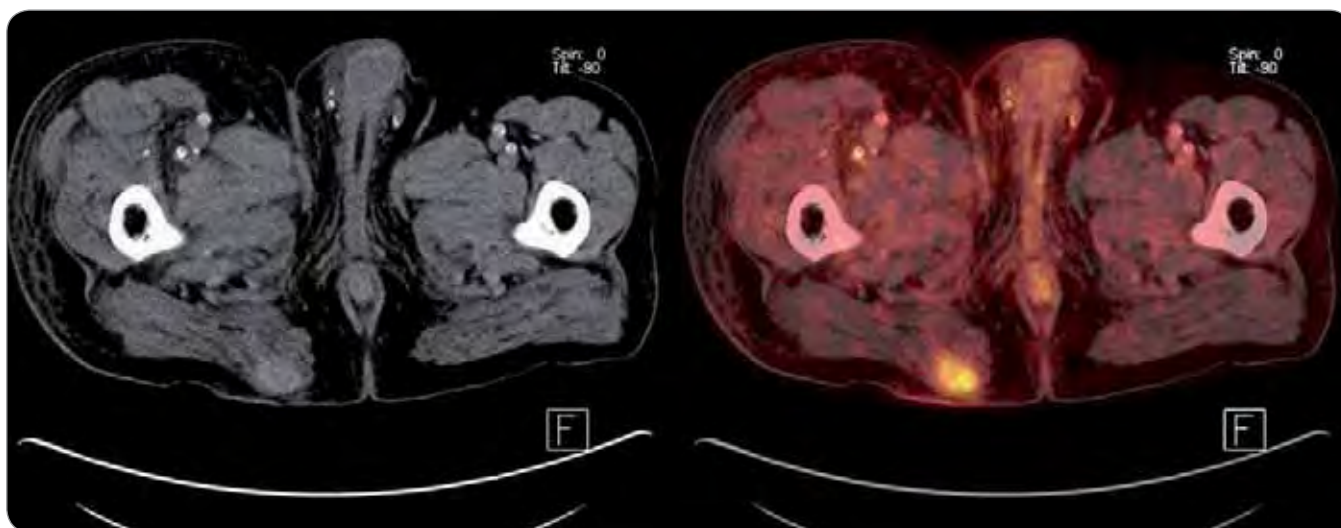
Tab. 2. Stadia karcinomu z Merkelových buněk [73].

	T	N	M	Velikost primárního nádoru	5leté přežití
stadium I	1	0	0	< 2 cm	81 %
stadium II	2	0	0	≥ 2 cm	67 %
stadium III	nerozhoduje	1	0	nerozhoduje	52 %
stadium IV	nerozhoduje	nerozhoduje	1	nerozhoduje	11 %

T – rozsah primárního nádoru, N – metastázy v regionálních mizních uzlinách, M – vzdálené metastázy

prorůstových charakteristik MCC buněk. První zmínka o genetické alteraci receptorů růstových faktorů u MCC přišla od

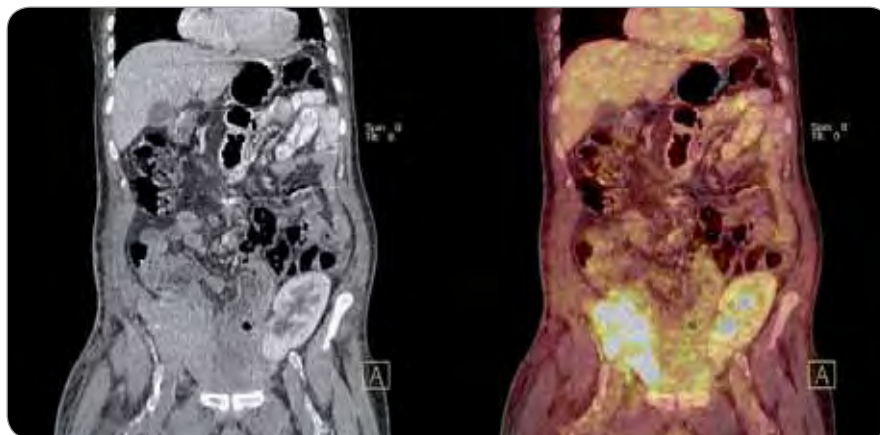
Swicka et al [20]. Autoři u 3 z 9 (33 %) MCC dokumentovali mutaci či jednonukleotidový polymorfismus jedné he-



Obr. 3. PET/CT obraz rekurujícího ložiska karcinomu z Merkelových buněk v oblasti pravé hýždě u pacienta po kombinované transplantaci slinivky a ledviny.

terozygotní báze na exonu 10 receptoru PDGF- $\alpha$  (platelet-derived growth factor- $\alpha$ ) vedoucí k náhradě aminokyseliny v kodonu 478. Všechny tři nádory rovněž exprimovaly PDGF- $\alpha$  receptor při imunohistochemickém vyšetření. Podobně zkoumali i expresi c-kit (CD117) receptoru pro SCF (stem cell factor), který je zapojen v kancerogenezi různých tumorů, s velmi variabilními nálezy. Pro c-kit však nezjistili žádné aktivační mutace [21] a dle výsledků jiných studií jeho exprese ani nekoreluje s agresivitou onemocnění [22,23]. Expresi celé řady povrchových receptorů na MCC buňkách sledovali i Brunner et al především ve vztahu k možnému terapeutickému ovlivnění pomocí antisense oligonukleotidů a microRNA. V porovnání s nálezy Swicka et al [20] autoři zjistili vysokou expresi PDGF- $\alpha$  u 23 z 29 (72%) pacientů s MCC současně s nízkou expresí PDGF- $\beta$  [24]. Vysoce exprimovány byly rovněž VEGF-A (vascular endothelial growth factor-A) (91%), VEGF-C (75%) a VEGF-R2 (88%) receptory a poprvé byla popsána vysoká exprese antiapoptického proteinu Mcl-1 (88%) a transkripčního represoru Bmi-1 (78%). Až u třech čtvrtin MCC byla rovněž pozorována over-exprese antiapoptického Bcl-2 [25,26] a v souboru 19 pacientů s MCC byla ve všech případech zjištěna silná exprese antiapoptického proteinu survivinu v jaderném nebo cytoplazmatickém kompartmentu [27]. Případy s pozitivitou nukleárního barvení vykazovaly agresivnější klinický průběh.

Porucha regulace buněčného cyklu se tak zdá být zásadní pro vznik tumoru. Důležitými represory buněčného cyklu, kteří zabraňují nekontrolované proliferaci, jsou retinoblastomový protein (RB) inhibující proliferační faktory a tumor supresorový protein p53, který jako transkripční faktor ovlivňuje expresi genů zavzatých do kontroly buněčného cyklu, indukce apoptózy nebo stárnutí a opravy DNA [28]. Obě RB a p53 cesty jsou považovány za základní tumor supresní mechanismy, jejichž porucha je nezbytná pro rozvoj nádoru. U jiných tumorů je p53 asi v 50% postižen inaktivačními mutacemi. Nicméně u MCC byla mutace zjištěna jen



Obr. 4. PET/CT obraz velké metastázy karcinomu z Merkelových buněk do transplantované slinivky (pravá jáma kyčelní) u pacienta po kombinované transplantaci slinivky a ledviny (levá jáma kyčelní).

u 3 z 15 tumorů a u 2 ze 6 buněčných linií [29,30]. Co se týče p63, jiného člena rodiny p53, jeho exprese v MCC buňkách výrazně koreluje s agresivitou onemocnění [31].

#### MCPyV a MCC

Výrazně častěji oproti běžné populaci se MCC vyskytuje u imunosuprimovaných transplantovaných a u pacientů s AIDS, podobně jako je tomu v případě výskytu Kaposiho sarkomu. Podobnost s tímto tumorem, v jehož etiopatogenezi se účastní herpes virus asociovaný s Kaposiho sarkomem, vedla k myšlence, že rovněž v pozadí MCC může být virová infekce. Feng et al aplikovali techniku DTS (digital transcriptome subtraction) k vyhledání virových sekvencí z MCC derivované DNA [10]. Jejich výzkum vedl k objevení genomu zahrnujícího 5 387 párů bází nového polyomaviru – MCPyV. Přítomnost MCPyV u MCC následně potvrdilo několik nezávislých skupin [32–34]. Frekvence virus pozitivních případů je obecně vysoká (v rozmezí 69–85%) s výjimkou australské populace, kde byla přítomnost viru identifikována jen u 24% MCC. V našem souboru 6 pacientů s MCC, identifikovaných v letech 2000–2009 z databáze biotického archivu Ústavu patologie naší instituce, byla pomocí real-time PCR verifikována přítomnost DNA MCPyV ve 100% tkáňových vzorků primárního nádoru. Pouze v jednom případě se jednalo o imunosuprimovaného pacienta po kombinované transplantaci ledviny a pankreatu [35].

Rozvoji tumoru obvykle předchází integrace virové DNA do hostujícího genomu [36]. MCPyV následně exprimuje malý a velký T antigen, které jsou multifunkčními proteiny. Velký T antigen se váže na regulátor buněčného cyklu a tumor suprimující proteiny p53 a RB, a tím je inaktivuje. Následná virová stimulace buněčného cyklu je považována za hlavní hnací sílu v polyomaviru indukované onkogenezi [37,38]. Dalším studiem tohoto viru však bylo zjištěno, že jeho prevalence v běžné populaci je vysoká, neboť u 50–80% dospělých lze detekovat MCPyV specifickou protilátkovou odpověď [39,40]. Jde tedy o častou infekci, která jen velmi zřídka vede k rozvoji MCC. Z prognostického hlediska je význam přítomnosti MCPyV infekce u MCC nejasný a názory se různí. Dle Beckera [6] mají nádory, u kterých byla identifikována tkáňová přítomnost MCPyV, horší prognózu. Proti tomu stojí názor Sihta et al, že pacienti, jejichž MCC genom obsahuje virovou DNA, mají obvykle příznivější průběh choroby [41].

#### UV záření a imunoprese

Mimo virovou etiologii se ovšem v patogenezi tumoru účastní i další faktory. Ke vzniku MCC může přispět ultrafialové záření (UV) a riziko vzrůstá se zvýšenou expozicí sluneční UV-B složce [29,42]. Role UV záření je v tomto ohledu spíše imunopresivní než mutagenní, kdy za rozhodující je považována indukce imunopresivních cytokinů IL-10 a TNF- $\alpha$ ,



izomerizace transurokanové kyseliny na cis-urokanovou kyselinu a tvorba reaktivních kyslíkových radikálů [43,44]. Tento poznatek je ve shodě se zřejmou epidemiologickou vazbou mezi užíváním imunosupresivních léků a vznikem MCC [45]. Např. u pacientů po transplantaci ledviny je výskyt MCC až 15krát vyšší oproti běžné populaci. Ve finské studii čerpající data z National Renal Transplant Registry a Finnish Cancer Registry autoři zjistili mezi 4 200 pacienty po transplantaci ledviny tři případy s MCC [46]. Podobná pozorování častějšího výskytu MCC u imunokompromitovaných pacientů a v signifikantně mladším věku v porovnání s věkově srovnatelnými kontrolami učinili i další autoři [47–49]. U těchto pacientů má MCC rovněž dokumentovanou větší „disease-specific“ mortalitu, a to až 56 % [50]. Na druhou stranu byla publikována řada kazistik o spontánní regresí MCC a tato byla pozorována i po restauraci imunitních funkcí po redukci imunosupresivní terapie. Např. Friendlander et al dokumentovali terminálně nemocného pacienta po transplantaci ledviny, u kterého došlo k přechodné regresí MCC po eliminaci cyklosporinu z imunosupresivního protokolu [51]. Kauzální role cyklosporinu v patogenezi kožních nádorů u pacientů po orgánové transplantaci je ovšem sporná [52] a riziko jejich vzniku souvisí spíše s celkovou úrovní imunosuprese než s jedním konkrétním imunosupresivem [53,54]. U našeho pacienta po kombinované transplantaci ledviny a pankreatu byla terapie od počátku založena na podávání takrolimu spolu s mykofenolát mofetilem a prednisonem. Přes konverzi na sirolimus a vysazení mykofenolátu krátce po stanovení diagnózy došlo po několika měsících ke generalizaci procesu [35]. Vznik MCC byl pozorován i u pacienta dlouhodobě užívajícího azathioprin [55] a ani v tomto případě konverze na sirolimus nezabránila generalizaci onemocnění. Tyto nálezy podporují myšlenku kauzální role celkové úrovně imunosuprese spíše než jednoho konkrétního imunosupresiva a rovněž naznačují nedostatečný efekt redukce imunosuprese a konverze na sirolimus při ovlivnění dalšího průběhu tohoto onemocnění.

## Terapie

### Excize tumoru a adjuvantní radioterapie

Po verifikaci MCC na podkladě biopsie nebo excize suspektního kožního ložiska by další terapie měla být vedena chirurgickým pracovištěm specializovaným na léčbu maligního melanomu. Jejím základem je radikální excize nebo v případě pozitivních resekcí hranic excize tumoru, vždy doplněná o biopsii sentinelové uzliny. V případě její pozitivnosti je indikována kompletní disekce regionálních lymfatických uzlin [56]. Na chirurgický výkon by měla navazovat adjuvantní radioterapie cílená na místo primárního výskytu a na oblast regionálních drenážních uzlin, a to v případě, byl-li primární tumor větší než 2 cm, při pozitivních resekcí hranicích nebo blízkosti tumoru k těmto hranicím a při angiolyfatické invazi [57]. Radioterapie je rovněž jednoznačně doporučena při pozitivní biopsii sentinelové uzliny nebo pokud nebyly uzliny histologicky vyšetřeny [56,58] a u imunokompromitovaných pacientů.

### Chemoterapie

Neexistují randomizované studie hodnotící účinnost adjuvantní chemoterapie u pacientů s MCC. Rovněž o efektivitě rozdílných chemoterapeutických protokolů existuje jen málo dat a prezentované závěry jsou protichůdné [59,60]. Adjuvantní chemoterapie je indikována u rozsáhlého uzlinového postižení [61], při extranodální expanzi a při rekurenci po předchozí terapii. V těchto případech je vhodné ji doplnit o radioterapii [62,63]. Nejvíce zkušeností bylo získáno s protokoly užívanými v první linii léčby malobuněčného karcinomu plic, obsahujícími etoposid a karboplatinu [61,64]. Efekt této léčby je popisován v 60–75 %, nicméně medián přežití je až na výjimky [65] obvykle jen v řádu měsíců [66].

### Nové terapeutické možnosti

Úspěch terapie se tedy zdá být závislý na rozvoji nových terapeutických postupů. V této souvislosti byla zkoušena řada protilátek proti povrchovým receptorům patřícím do protein kinase signalling network, trastuzumab proti erbB-2 recep-

toru (Her-2/Neu onkogen) a cetuximab proti EGF (epidermal growth factor) receptoru. Tyto receptory ale nebývají u MCC exprimovány [67]. V případě exprese c-kit (CD117), VEGF receptorů a PDGF receptorů se nabízí možnost ovlivnit nádorovou proliferaci aplikací sorafenidu nebo sunitinibu [24] a u nádorů exprimujících PDGF receptory i podáním imatinib mesylátu [20]. U MCC byla rovněž pozorována zvýšená exprese antiapoptotického proteinu Mcl-1, člena rodiny Bcl-2 proteinů, a Bmi-1, transkripčního represoru patřícího do rodiny polycomb-group proteinů, ovlivňujícího regulaci buněčného cyklu, proliferaci a buněčnou sebeobnovu [24]. Inhibice těchto expresních genů zodpovědných za buněčnou proliferaci a apoptózu pomocí antisense oligonukleotidů nebo microRNAs by mohla být rovněž nadějnou cestou, jak ovlivnit nádorový růst [68]. K ozřejnění významu této protinádorové a antiangiogenní terapie u MCC však budou nutné další studie. K ověření zůstává i antitumorózní efekt IFN-alfa, který in vitro redukoval proliferaci buněčných linií, DNA syntézu a indukoval apoptózu MCC buněk [69]. Stejně tak bude nutné ověřit další potenciální terapeutický přístup s objasněním role Atoh1 transkripčního faktoru v diferenciaci Merkelových buněk [2], zda Atoh1 funguje u Merkelových buněk jako tumor supresorový gen a také jaké jsou možnosti jeho regulace s využitím v protinádorové terapii [70].

### Prevence

Základním preventivním opatřením zůstává pravidelná kontrola kůže u imunosuprimovaných pacientů spojená v případě suspektního nálezu u menších lézí s těsnou excízi, u větších s provedením prosté biopsie. Aplikace antivirotik u MCPyV pozitivních rizikových pacientů je limitována skutečností, že v té době je již u většiny pacientů přítomna protilátková odpověď, což nasvědčuje tomu, že aktivní infekce proběhla v předchozí době a neprobíhá aktivní replikace viru. V budoucnu tak snad bude možné alespoň využít profylaktickou vakcinaci proti MCPyV, a to u imunosuprimovaných pacientů, kteří se doposud s MCPyV infekcí nesešli [71].

## Prognóza

Z prognostického hlediska hraje u MCC nejdůležitější roli staging tumoru v době záchytu onemocnění. Lokalizovaný tumor < 2 cm bez uzlinových metastáz má dobrou prognózu. Nádory velikosti > 2 cm jsou spojeny s vysokým rizikem generalizace [72]. Rovněž některé další faktory jsou diskutovány z hlediska jejich možného vlivu na prognózu pacientů. Léze lokalizované na hýždí a trupu jsou spojovány s vyšším výskytem nodálních metastáz oproti lézím lokalizovaným na hlavě a krku [73,74]. Někteří autoři však zpochybňují vliv primární lokalizace tumoru na celkové přežití pacientů [75]. Podobně byl zpochybněn i význam tumor pozitivní resekcí hranice a blízkosti léze regionálním lymfatickým uzlinám v predikci vývoje nodálního postižení [74]. Přesto je doporučeno provádět širokou lokální excizi tumoru, neboť lokální rekurence je spojována s horší celkovou prognózou [73]. Za prognosticky negativní je rovněž považována zvýšená exprese inhibitoru apoptózy survivinu a p63 [27,31].

## Závěr

Karcinom z Merkelových buněk je vzácné nádorové onemocnění kůže s výraznou tendencí k lokální rekurenci, postižení regionálních uzlin a vzdáleným metastázám. U imunokompromitovaných pacientů má většinou vysoce agresivní průběh a často fatální výsledek. To zdůrazňuje nutnost pravidelné preventivní inspekce kůže u těchto nemocných a u suspektních lézí indikovat adekvátní chirurgický přístup. V případě potvrzení MCC by návazná terapeutická opatření měla být komplexní a dostatečně intenzivní. Příslibem do budoucna se jeví možnost vakcinační profylaxe či terapie MCPyV infekce u imunokompromitovaných pacientů, terapeutické využití antisense oligonukleotidů nebo microRNAs, případně kompletní eliminace MCC ovlivněním exprese tumor supresorového genu Atoh1.

## Literatura

1. Toker C. Trabecular carcinoma of the skin. *Arch Dermatol* 1972; 105(1): 107–110.
2. Van Keymeulen A, Mascré G, Youseff KK et al. Epidermal progenitors give rise to Merkel cells during embryonic development and adult homeostasis. *J Cell Biol* 2009; 187(1): 91–100.

3. Mottl H, Abrahamová J. Nádor z Merkelových buněk u dvouleté dívky – kazuistika. *Klin Onkol* 1990; 3(1): 19–21.
4. Schmid C, Beham A, Feichtinger J et al. Recurrent and subsequently metastasizing Merkel cell carcinoma in a 7-year-old girl. *Histopathology* 1992; 20(5): 437–439.
5. Hodgson NC. Merkel cell carcinoma: changing incidence trends. *J Surg Oncol* 2005; 89(1): 1–4.
6. Becker JC, Schrama D, Houben R. Merkel cell carcinoma. *Cell Mol Life Sci* 2009; 66(1): 1–8.
7. Weller K, Vetter-Kauczok C, Kahler K et al. Guideline implementation in Merkel cell carcinoma: an example of a rare disease. *Dtsch Arztebl* 2006; 103(42): 2791–2796.
8. Girschik J, Fritsch L, Threlfall T et al. Deaths from non-melanoma skin cancer in Western Australia. *Cancer Causes Control* 2008; 19(8): 879–885.
9. Pectasides D, Pectasides M, Economopoulos T. Merkel cell cancer of the skin. *Ann Oncol* 2006; 17(10): 1489–1495.
10. Feng H, Shuda M, Chang Y et al. Clonal integration of a polyomavirus in human Merkel cell carcinoma. *Science* 2008; 319(5866): 1096–1100.
11. Medina-Franco H, Urist MM, Fiveash J et al. Multimodality treatment of Merkel cell carcinoma: case series and literature review of 1024 cases. *Ann Surg Oncol* 2001; 8(3): 204–208.
12. Tai PT, Yu E, Tonita J et al. Merkel Cell Carcinoma of the Skin. *J Cutan Med Surg* 2000; 4(4): 186–196.
13. Helmbold P, Schröter S, Holzhausen HJ et al. Merkel cell carcinoma: a diagnostic and therapeutic challenge. *Chirurg* 2001; 72(4): 396–401.
14. Warner TF, Uno H, Hafez GR et al. Merkel cells and Merkel cell tumors. Ultrastructure, immunocytochemistry and review of the literature. *Cancer* 1983; 52(2): 238–245.
15. Smith DF, Messina JL, Perrott R et al. Clinical approach to neuroendocrine carcinoma of the skin (Merkel cell carcinoma). *Cancer Control* 2000; 7(1): 72–83.
16. Brenner B, Sulkes A, Rakowsky E et al. Second neoplasms in patients with Merkel cell carcinoma. *Cancer* 2001; 91(7): 1358–1362.
17. Boyle F, Pendlebury S, Bell D. Further insights into the natural history and management of primary cutaneous neuroendocrine (Merkel cell) carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1995; 31(2): 315–323.
18. Igaru A, Quon A, McDougall IR et al. Merkel cell carcinoma: Is there a role for 2-deoxy-2-[<sup>18</sup>F]fluoro-D-glucose-positron emission tomography/computed tomography? *Mol Imaging Biol* 2006; 8(4): 212–217.
19. Concannon R, Larcos GS, Genese M. The impact of 18F-FDG PET-CT scanning for staging and management of Merkel cell carcinoma: Results from Westmead Hospital, Sydney, Australia. *J Am Acad Dermatol* 2010; 62(1): 76–84.
20. Swick BL, Ravdel L, Fitzpatrick JE et al. Platelet-derived growth factor receptor alpha mutational status and immunohistochemical expression in Merkel cell carcinoma: implications for treatment with imatinib mesylate. *J Cutan Pathol* 2008; 35(2): 197–202.
21. Swick BL, Ravdel L, Fitzpatrick JE et al. Merkel cell carcinoma: evaluation of KIT (CD117) expression and failure to demonstrate activating mutations in the C-KIT proto-oncogene – implications for treatment with imatinib mesylate. *J Cutan Pathol* 2007; 34(4): 324–329.
22. Feinmesser M, Halpern M, Kaganovsky E et al. c-kit expression in primary and metastatic merkel cell carcinoma. *Am J Dermatopathol* 2004; 26(6): 458–462.
23. Strong S, Shalders K, Carr R et al. KIT receptor (CD117) expression in Merkel cell carcinoma. *Br J Dermatol* 2004; 150(2): 384–385.
24. Brunner M, Thurnher D, Pammer J et al. Expression of VEGF-A/C, VEGF-R2, PDGF-alpha/beta, c-kit, EGFR, Her-2/Neu, Mcl-1 and Bmi-1 in Merkel cell carcinoma. *Mod Pathol* 2008; 21(7): 876–884.
25. Feinmesser M, Halpern M, Fenig E et al. Expression of the apoptosis-related oncogenes bcl-2, bax, and p53 in

Merkel cell carcinoma: Can they predict treatment response and clinical outcome? *Hum Pathol* 1999; 30(11): 1367–1372.

26. Kennedy MM, Blessing K, King G et al. Expression of bcl-2 and p53 in Merkel cell carcinoma. An immunohistochemical study. *Am J Dermatopathol* 1996; 18(3): 273–277.
27. Kim J, McNiff JM. Nuclear expression of survivin portends a poor prognosis in Merkel cell carcinoma. *Mod Pathol* 2008; 21(6): 764–769.
28. Horn HF, Voudsen KH. Coping with stress: multiple ways to activate p53. *Oncogene* 2007; 26(9): 1306–1316.
29. Popp S, Waltering S, Herbst C et al. UV-B-type mutations and chromosomal imbalances indicate common pathways for the development of Merkel and skin squamous cell carcinomas. *Int J Cancer* 2002; 99(3): 352–360.
30. Van Gele M, Kaghad M, Leonard JH et al. Mutation analysis of P73 and TP53 in Merkel cell carcinoma. *Br J Cancer* 2000; 82(4): 823–826.
31. Asioli S, Righi A, Volante M et al. p63 expression as a new prognostic marker in Merkel cell carcinoma. *Cancer* 2007; 110(3): 640–647.
32. Becker JC, Houben R, Ugurel S et al. MC polyomavirus is frequently present in Merkel cell carcinoma of European patients. *J Invest Dermatol* 2009; 129(1): 248–250.
33. Garneski KM, Warcola AH, Feng Q et al. Merkel cell polyomavirus is more frequently present in North American than Australian Merkel cell carcinoma tumors. *J Invest Dermatol* 2009; 129(1): 246–248.
34. Kassem A, Schöpflin A, Diaz C et al. Frequent Detection of Merkel Cell Polyomavirus in Human Merkel Cell Carcinomas and Identification of a Unique Deletion in the VP1 Gene. *Cancer Res* 2008; 68(13): 5009–5013.
35. Krejčí K, Tichý T, Horák P et al. Merkel cell carcinoma of gluteal region with ipsilateral metastasis into the pancreatic graft in patient after combined kidney-pancreas transplantation. Odesláno k publikaci do časopisu *Onkologie*.
36. zur Hausen H. Novel human polyomaviruses – re-emergence of a well known virus family as possible human carcinogens. *Int J Cancer* 2008; 123(2): 247–250.
37. Moens U, Van Ghelue M, Johannessen M. Oncogenic potentials of the human polyomavirus regulatory proteins. *Cell Mol Life Sci* 2007; 64(13): 1656–1678.
38. Caracciolo V, Reiss K, Khalili K et al. Role of the interaction between large T antigen and Rb family members in the oncogenicity of JC virus. *Oncogene* 2006; 25(38): 5294–5301.
39. Kean JM, Rao S, Wang M et al. Seroepidemiology of human polyomaviruses. *PLoS Pathog* 2009; 5(3): Dostupné z: <http://www.plospathogens.org/article/info:doi%2F10.1371%2Fjournal.ppat.1000363>.
40. Tolstov YL, Pastrana DV, Feng H et al. Human Merkel cell polyomavirus infection II. MCV is a common human infection that can be detected by conformational capsid epitope immunoassays. *Int J Cancer* 2009; 125(6): 1250–1256.
41. Sihto H, Kukko H, Koljonen V et al. Clinical Factors Associated With Merkel Cell Polyomavirus Infection in Merkel Cell Carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 2009; 101(23): 938–945.
42. Lawenda BD, Thiringer JK, Foss RD et al. Merkel Cell Carcinoma Arising in the Head and Neck: Optimizing Therapy. *Am J Clin Oncol* 2001; 24(1): 35–42.
43. Ullrich SE. Mechanisms underlying UV-induced immune suppression. *Mutat Res* 2005; 571(1–2): 185–205.
44. Ullrich SE. Sunlight and Skin Cancer: Lessons from the Immune System. *Mol Carcinog* 2007; 46(8): 629–633.
45. Buell JF, Trofe J, Hanaway MJ et al. Immunosuppression and Merkel cell cancer. *Transplant Proc* 2002; 34(5): 1780–1781.
46. Koljonen V, Kukko H, Tukiainen E et al. Incidence of Merkel cell carcinoma in renal transplant recipients. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24(10): 3231–3235.

47. Busse PM, Clark JR, Muse VV et al. Case records of the Massachusetts General Hospital. Case 19–2008. A 63-year-old HIV-positive man with cutaneous Merkel-cell carcinoma. *N Engl J Med* 2008; 358(25): 2717–2723.
48. Veness MJ, Harris D. Role of radiotherapy in the management of organ transplant recipients diagnosed with non-melanoma skin cancers. *Australas Radiol* 2007; 51(1): 12–20.
49. Engels EA, Frisch M, Goedert JJ et al. Merkel cell carcinoma and HIV infection. *Lancet* 2002; 9305(359): 497–498.
50. Engels EA, Biggar RJ, Hall HI et al. Cancer risk in people infected with human immunodeficiency virus in the United States. *Int J Cancer* 2008; 123(1): 187–194.
51. Friedlaender MM, Rubinger D, Rosenbaum E et al. Temporary regression of Merkel cell carcinoma metastases after cessation of cyclosporine. *Transplantation* 2002; 73(11): 1849–1850.
52. Kessler M, Jay N, Molle R et al. Excess risk of cancer in renal transplant patients. *Transpl Int* 2006; 19(11): 908–914.
53. Fortina AB, Piaserico S, Caforio AL et al. Immunosuppressive level and other risk factors for basal cell carcinoma and squamous cell carcinoma in heart transplant recipients. *Arch Dermatol* 2004; 140(9): 1079–1085.
54. Moosa MR, Gralla J. Skin cancer in renal allograft recipients – experience in different ethnic groups residing in the same geographical region. *Clin Transplant* 2005; 19(6): 735–741.
55. Boratyrńska M, Watorek E, Smolska D et al. Anticancer effect of sirolimus in renal allograft recipients with de novo malignancies. *Transplant Proc* 2007; 39(9): 2736–2739.
56. National Cancer Institute (NCI) guidelines for Merkel Cell Carcinoma treatment available online at <http://www.cancer.gov/cancertopics/pdq/treatment/merkel-cell/HealthProfessional/page5> (Accessed May 15, 2010).
57. Goepfert H, Remmler D, Silva E et al. Merkel cell carcinoma (endocrine carcinoma of the skin) of the head and neck. *Arch Otolaryngol* 1984; 110(11): 707–712.
58. Veness MJ, Morgan GJ, Gebiski V. Adjuvant locoregional radiotherapy as best practice in patients with Merkel cell carcinoma of the head and neck. *Head Neck* 2005; 27(3): 208–216.
59. Poulsen M, Rischin D, Walpole E et al. High-risk Merkel cell carcinoma of the skin treated with synchronous carboplatin/etoposide and radiation: a Trans-Tasman Radiation Oncology Group Study – TROG 96.07. *J Clin Oncol* 2003; 21(23): 4371–4376.
60. Poulsen MG, Rischin D, Porter I et al. Does chemotherapy improve survival in high-risk stage I and II Merkel cell carcinoma of the skin? *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2006; 64(1): 114–119.
61. National Comprehensive Cancer Network (NCCN) guidelines for cancer treatment available online at [http://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/f\\_guidelines.asp](http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp) (Accessed August 2, 2009).
62. Eng TY, Naguib M, Fuller CD et al. Treatment of recurrent Merkel cell carcinoma: an analysis of 46 cases. *Am J Clin Oncol* 2004; 27(6): 576–583.
63. Poulsen M, Walpole E, Harvey J et al. Weekly Carboplatin Reduces Toxicity During Synchronous Chemoradiotherapy for Merkel Cell Carcinoma of Skin. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2008; 72(4): 1070–1074.
64. Tai PT, Yu E, Winquist E et al. Chemotherapy in neuroendocrine/Merkel cell carcinoma of the skin: case series and review of 204 cases. *J Clin Oncol* 2000; 18(12): 2493–2499.
65. Rečková M, Lawrence HE. Nezvyčajný prípad dlhodobého prežívania pacientky s chemorefraktérnym Merkelovým karcinómom. *Klin Onkol* 2007; 20(5): 354–356.
66. Becker J, Mauch C, Kortmann RD et al. Short German guidelines: Merkel cell carcinoma. *J Dtsch Dermatol Ges* 2008; 6(Suppl 1): 15–16.
67. Maubec E, Duveillard P, Velasco V et al. Immunohistochemical analysis of EGFR and HER-2 in patients with metastatic squamous cell carcinoma of the skin. *Anticancer Res* 2005; 25(2B): 1205–1210.
68. Dean NM, Bennett CF. Antisense oligonucleotide-based therapeutics for cancer. *Oncogene* 2003; 22(56): 9087–9096.
69. Krasagakis K, Krüger-Krasagakis S, Tzanakakis GN et al. Interferon-alpha inhibits proliferation and induces apoptosis of merkel cell carcinoma in vitro. *Cancer Invest* 2008; 26(6): 562–568.
70. Bossuyt W, Kazanjian A, De Geest N et al. Atonal homolog 1 is a tumor suppressor gene. *PLoS Biol* 2009; 7(2): Dostupné z: <http://www.plosbiology.org/article/info:doi/10.1371/journal.pbio.1000039>.
71. Pastrana DV, Tolstov YL, Becker JC et al. Quantitation of Human Seroreactivity to Merkel Cell Polyomavirus. *PLoS Pathog* 2009; 5(9): Dostupné z: <http://www.plospathogens.org/article/info:doi%2F10.1371%2Fjournal.ppat.1000578>.
72. Allen PJ, Bowne WB, Jaques DP et al. Merkel cell carcinoma: prognosis and treatment of patients from a single institution. *J Clin Oncol* 2005; 23(10): 2300–2309.
73. Shaw JH, Rumball E. Merkel cell tumour: clinical behaviour and treatment. *Br J Surg* 1991; 78(2): 138–142.
74. Yiengpruksawan A, Coit DG, Thaler HT et al. Merkel cell carcinoma. Prognosis and management. *Arch Surg* 1991; 126(12): 1514–1519.
75. Bielamowicz S, Smith D, Abemayor E. Merkel cell carcinoma: an aggressive skin neoplasm. *Laryngoscope* 1994; 104(5 Pt 1): 528–532.

# Molekulární prediktory u nádorů hlavy a krku

## Molecular Predictors in Head and Neck Tumours

Smilek P.

Klinika otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku, FN u sv. Anny v Brně a LF MU, Brno

### Souhrn

Článek přináší přehled o biologických nádorových markerech identifikovaných u zhoubných novotvarů v oblasti hlavy a krku, který vychází z moderních poznatků o molekulárních událostech karcinogeneze. Jde o markery monitorující získávání autonomních proliferčních signálů (např. EGFR), proliferční aktivitu (obsah DNA, Ki-67, mitotický index), inhibici růstových inhibičních signálů (p53), vyhnutí se programované buněčné smrti (bcl-2), imortalizaci (telomerasa), angiogenezi (CD34, VEGF) a metastazování (MMP-9, E-cadherin, I-CAM aj.). Vzhledem ke komplexnosti karcinogeneze je vhodné stanovit celý panel biomarkerů. Většina biomarkerů u nádorů hlavy a krku je ve stadiu preklinického výzkumu. Významného pokroku bylo dosaženo při aplikaci cílené léčby u HNSCC.

### Klíčová slova

zhoubné nádory hlavy a krku – biologické markery – prognóza – cílená léčba

### Summary

This review summarizes biological markers of head and neck cancer, which have emerged from recent developments in molecular changes during carcinogenesis. These markers could be evaluated in every step that is believed to be necessary for the development of a cancer: acquisition of autonomous proliferative signalling (EGFR), proliferative activity of tumour cells (DNA content, Ki-67, mitotic index), inhibition of growth inhibitory signals (Bcl-2), apoptosis (p53), immortalization (telomerase), angiogenesis (CD34, VEGF) and metastasis (MMP-9, E-cadherin, I-CAM aj.). Most of these biological markers are at the preclinical research stage. Significant progress has been achieved in the application of targeted therapy in head and neck cancer.

### Key words

head and neck cancer – biological markers – prognosis – targeted therapy

Autor deklaruje, že v souvislosti s předmětem studie nemá žádné komerční zájmy.

The author declare he has no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

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

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



doc. MUDr. Pavel Smilek, Ph.D.

Klinika otorinolaryngologie  
a chirurgie hlavy a krku  
FN u sv. Anny v Brně a LF MU  
Pekařská 53  
656 91 Brno  
e-mail: smilek@med.muni.cz

Obdrženo/Submitted: 4. 3. 2010

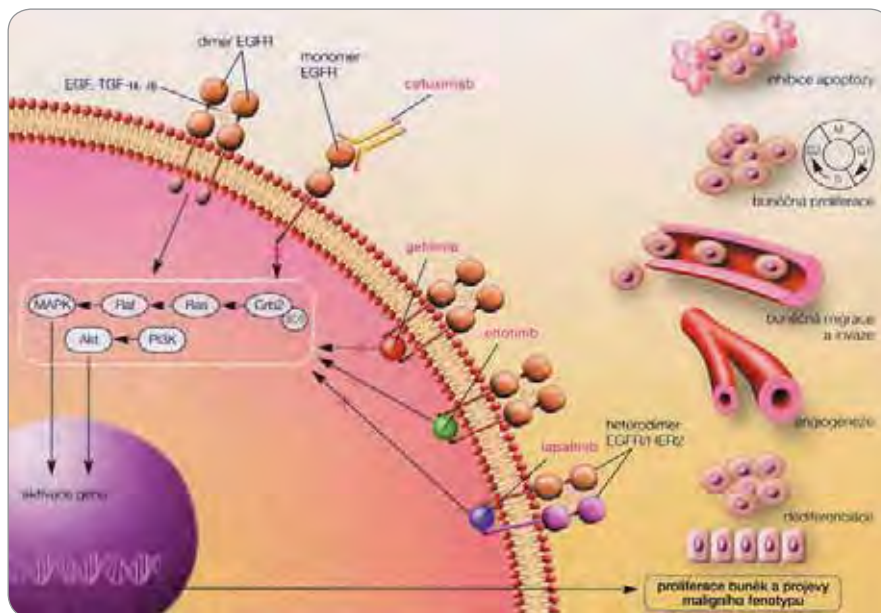
Přijato/Accepted: 1. 6. 2010

## Úvod

Nalezení a uplatnění vhodných molekulárních prediktorů u karcinomů hlavy a krku (head and neck squamous cell carcinoma – HNSCC) má klíčový význam pro zlepšení nepříliš dobrých léčebných výsledků karcinomů této oblasti. Molekulární prediktory mají především význam při rozhodování o zařazení nemocných s pokročilým operabilním HNSCC do primárně chirurgické léčby anebo do radio-chemoterapeutického režimu. Většina zkoumaných prediktorů u HNSCC se prozatím nachází ve fázi preklinického testování. Hanahan et al [1] popsali šest důležitých kroků, které jsou na buněčné úrovni považovány za nezbytné při rozvoji zhoubného nádoru: 1) získání autonomních proliferačních signálů, 2) inhibice růstových inhibičních signálů, 3) vyhnutí se programované buněčné smrti (apoptóze), 4) imortalizace, 5) získání cévního zásobení k výživě nádoru (angiogeneze), 6) tkáňová invaze a metastazování. Vzhledem ke komplexnosti karcinogeneze má izolované stanovení jednoho biologického nádorového markeru jen malý význam a většinou je vhodné stanovit celý panel biomarkerů.

## Získání autonomních proliferačních signálů

V patogenezi HNSCC hraje významnou roli receptor pro epidermální růstový faktor (epidermal growth factor receptor – EGFR) a jeho ligandy (obr. 1). HNSCC se řadí k nádorům s vysokou expresí EGFR, jeho pozitivita je udávána ve 38–47%. Exprese ostatních růstových receptorů je zjišťována v případě c-erbB2 ve 3–29%, c-erbB3 ve 21% a c-erbB4 ve 26% [2]. Hladina EGFR se zvyšuje ve fázi přechodu z dysplazie do karcinomu, v pokročilejších stádiích nádorů a u nádorů špatně diferencovaných. Předpokládá se, že zevní vlivy, jako je kouření a nadužívání alkoholu, vedou ke zvýšené produkci EGF a zvýšené expresi EGFR a mohou hrát roli při vývoji nádoru. V našem klinickém souboru [3] byla nalezena exprese EGFR u 45,4% pacientů (exprese c-erbB2 jen u 1,0%) a bylo prokázáno vyšší riziko vzniku časné události v případě EGFR pozitivita pro všechny hodnocené léčebné režimy ( $p = 0,003$ ).



Obr. 1. Schematické znázornění mechanismu účinku inhibitorů receptoru pro epidermální růstový faktor (převzato z [42]).

Signální cesta EGFR bývá sice poškozena ve velkém procentu HNSCC, ale pohled na prediktivní hodnotu EGFR je v literatuře rozporný. Například Scharfing et al [4] našli v souboru 129 pacientů s HNSCC zvýšenou expresi EGFR u 42,6% pacientů a zvýšenou expresi HER2 u 3,1% pacientů. Statistická analýza neprokázala vliv zvýšené exprese EGFR na přežití. Naopak Ang et al [5] vyšetřovali imunohistochemicky EGFR u 155 nemocných s HNSCC. U nemocných s vyšší expresí EGFR bylo výrazně horší celkové přežití i doba bez příznaků onemocnění. Autor považuje EGFR za nezávislý prediktor lokoregionálního relapsu a navrhuje, aby nemocní s vyšší hodnotou EGFR byli léčeni intenzivnější kombinovanou léčbou.

Obecně lze říci, že s prognózou HNSCC lépe koreluje amplifikace genu pro EGFR než pouhá exprese vyšetřená imunohistochemicky. HNSCC, u nichž se vyskytuje amplifikace genu pro EGFR, mají horší prognózu [6]. Kvantifikace hladiny proteinů EGFR a TGF- $\alpha$  může být užitečná k identifikaci podskupiny pacientů s vyšším rizikem recidivy a mohla by se stát vodítkem pro rozhodování o léčbě [7]. Několik klinických studií u HNSCC prokázalo, že nádory s nízkou expresí EGFR mají po léčbě zářením méně lokálních recidiv [8]. Bentzen et al [9] vyšet-

řovali imunohistochemicky přítomnost EGFR u 304 nemocných s HNSCC. Statisticky významně lepší lokoregionální kontroly nad nádorem bylo dosaženo u nemocných s prokázanou přítomností EGFR léčených hyperfrakcionovanou radioterapií. Uvedený autor navrhuje, aby výsledky imunohistochemického vyšetření EGFR byly použity k rozhodnutí o volbě frakcionačního režimu – konvenční frakcionace vs hyperfrakcionace. Nemocní s pozitivitou EGFR léčení hyperfrakcionovanou radioterapií mohou mít z tohoto postupu významný benefit. EGFR je považován za atraktivní cíl pro prevenci metastazování u HNSCC [10]. Hitt et al [11] vyšetřili imunohistochemicky vzorky nádorové tkáně u 46 nemocných s pokročilým HNSCC na přítomnost p53 a EGFR. Autoři nenašli při univariční analýze korelaci mezi vyšší expresí EGFR a odpovědí na indukční chemoterapii v režimu cisplatina + 5-FU + paclitaxel. Při vícerozměrné analýze bylo prokázáno, že kombinace pozitivní exprese p53 a středně vysoké až vysoké exprese EGFR byla sdružena se zkrácením doby do recidivy a pravděpodobně tato kombinace markerů vyjadřuje agresivnější nádorový fenotyp. Pacienti s amplifikací EGFR jsou považováni za vhodné kandidáty pro léčbu monoklonálními protilátkami

proti EGFR. Pro predikci účinnosti léčby cetuximabem je ovšem třeba vyšetřovat více prediktorů. K pozitivním prediktorům patří vedle amplifikace genu pro EGFR také mutace tyrozinkinázové domény. K negativním prediktorům patří mutace EGFRvIII (chybí extracelulární doména receptoru EGFR), stat3 a K-ras (kontinuální aktivace signální cesty nezávisle na zevní aktivaci či inhibici proliferace). Rutinní vyšetření těchto prediktorů u HNSCC prozatím není zavedeno vzhledem k tomu, že léčba monoklonálními protilátkami je teprve v počátcích a frekvence mutací, např. K-ras, se u HNSCC obecně udává pod 5% (oproti např. karcinomům kolorekta, kde je frekvence udávána ve 32–57%).

#### Inhibice růstových inhibičních signálů

Dalším důležitým krokem nezbytným pro rozvoj nádoru je ztráta normálních protirůstových signálů. Jedním z nejvíce studovaných genů majících podíl na onkogenezi je tumor supresorický gen nazývaný *TP53* lokalizovaný na krátkém raménku 17. chromozomu [12–14]. K poškození genu *TP53* může dojít mutacemi, HPV infekcí a jinými mechanismy. Např. genová mutace (G a T transverze) může být způsobena interakcí DNA s benzopyreny, které jsou součástí cigaretového kouře (častá koincidence u HNSCC). Také některé proteiny HPV se mohou vázat na *TP53* a inaktivovat jej. Výzkumníci Anderson Cancer Center v USA prokázali nárůst pozitivitu exprese proteinu p53 při progresi karcinomů hlavy a krku – 19% pozitivita byla u normálního epitelu, 29% pozitivita u hyperplastických lézí, 45% pozitivita u dysplastických lézí a 58% pozitivita u invazivního karcinomu. Potvrdili rovněž významnou korelaci mezi zvýšenou expresí p53 a genetickou nestabilitou [15]. Uvedené výsledky již vedly k uplatnění genové terapie: byly provedeny klinické studie fáze I a II u nemocných s pokročilou rakovinou hlavy a krku refrakterní na léčbu. K obnově funkčního genu *TP53* byl použit adenovirový vektor [16].

Vielba et al [14] vyšetřovali p53 u 62 pacientů s karcinomem laryngu, náhodně vybraných a léčených v letech

1989–1995. Kaplan-Meierova analýza přežití ukázala kratší přežití u nemocných, jejichž bioptický vzorek byl p53 pozitivní, ve srovnání s těmi, jejichž vzorek byl negativní ( $p = 0,04$ ). Lavertu et al [12] vyšetřovali p53 a Ki-67 z archivních histologických vzorků 105 pacientů s HNSCC léčených chemoradioterapií. Kombinace negativity obou markerů byla sdružena s nižší incidencí recidivy tumoru ( $p = 0,02$ ), s nižší incidencí lokoregionálních metastáz ( $p = 0,01$ ), s nižším výskytem duplexních nádorů ( $p = 0,04$ ) a s lepší šancí na záchranu orgánů. Autoři uzavírají, že další sledování p53 a Ki-67 u nemocných by mohlo potvrdit význam obou uvedených markerů při predikci časného relapsu.

K proteinům regulujícím buněčný cyklus patří také cykliny. Asi u 64% HNSCC byla zjištěna nadprodukce cyklinu D1. Tento cyklin by mohl být nezávislým prognostickým ukazatelem recidivy [14].

Rodina proteinů p21 patří k cyklin dependentním kinázám regulujícím buněčný cyklus. Některé studie u HNSCC potvrzují skutečnost, že zvýšená exprese tohoto proteinu koreluje se zvýšeným procentem recidiv a zkráceným přežitím [8]. V poslední době přibývá důkazů o prognostickém významu antionkogenu p16 zvláště ve spojení s lidským papiloma virem (HPV typ 16) u orofaryngeálního karcinomu (Gillison). Protein p16 je inhibitor cyklin dependentní kinázy a podílí se na regulaci buněčné proliferace. Orofaryngeální karcinomy HPV pozitivní a zároveň p16 pozitivní mají výrazně lepší prognózu a to umožňuje zmenšit intenzitu protinádorové léčby. Zároveň jsou testovány profylaktické a terapeutické vakcíny proti HPV 16.

#### Vyhnutí se programované buněčné smrti

U člověka byla popsána bcl-2 rodina apoptózu regulujících proteinů, která je tvořena nejméně 17 homology proteinu CED-9. Některé proteiny z rodiny bcl-2 proteinů, např. samotný bcl-2, potlačují proces apoptózy stejným mechanismem jako CED-9. Byly nalezeny také pro-apoptické proteiny patřící do bcl-2 rodiny (např. Bax), které mají podstatný vliv na indukci apoptózy [17]. Nerovnováha v poměru anti- a pro-apop-

totických proteinů rodiny bcl-2, která vychyluje rovnováhu směrem k přežívání, může učinit nádorové buňky více rezistentními k řadě stimulů vyvolávajících buněčnou smrt (všechna chemoterapeutika, záření, hypoxie, odstranění růstových faktorů a glukózy, antionkogen p53) [18]. Tato duální funkce je navíc zřejmě tkáňově specifická. Např. zvýšená exprese bcl-2 u karcinomu prostaty ukazuje na horší prognózu, zatímco u karcinomu kolorekta a prsu na lepší prognózu. U HNSCC jsou výsledky rozporné, i když se většina autorů kloní spíše k pozitivnímu prediktivnímu významu. Např. Jäckel et al [19] považují koincidenci pozitivitu p53 a zvýšené hodnoty bcl-2 za výraz zhoršené prognózy, podobně Costa et al [18]. Naopak Lehnerdt et al [20] v souboru 133 pacientů s orofaryngeálním karcinomem uvádí signifikantní spojitost exprese bcl-2 s lepší lokoregionální kontrolou a delším přežitím.

Nejistá úloha bcl-2 může být způsobena chyběním standardizace procedur při přípravě a zpracování imunohistochemických vzorků: různý typ použité protilátky, metodiky používané při imunohistochemickém vyšetření a především nestandardizovanou preanalytickou fází vyšetření – použití různých fixačních roztoků (obyčejný formol, pufrovaný formol, starý formol), různé fixační doby.

#### Imortalizace

Pojem imortalizace je označením pro skutečnost, že nádorové buňky získávají schopnost neomezeně se replikovat. Bylo prokázáno, že telomeráza je exprimována až v 90% lidských nádorů, zatímco v normálních somatických buňkách je nedetekovatelná [1,21]. Práce hodnotící prognostický význam telomerázy nejsou dosud uzavřeny, ale je pravděpodobné, že její vyšší aktivita koreluje s horší prognózou [22].

Dostupná data ukazují na její důležitost v patogenezi HNSCC a na její prognostickou hodnotu. Aktivita telomerázy je detekovatelná již v pozdních stádiích karcinogeneze (progradientní prekancerózy) a v časných stádiích HNSCC [23]. U některých karcinomů hlavy a krku ovšem v průběhu mnohastupňového procesu karcinogeneze ke změnám ve smyslu imortalizace nedochází.

Aktivita telomerázy je rovněž korelována se stupněm diferenciacie tumoru a léčebnou odpovědí. Vyšší stadia nádorů mají významně vyšší aktivitu telomerázy než časná stadia karcinomu [24]. Výhodou kvantitativní analýzy aktivity telomerázy je možnost použití minimálního vzorku tkáně.

### Získání cévního zásobení k výživě nádoru

Nedostatečné cévní zásobení nádoru má nejen vliv na jeho růst, ale také na léčbu. Solidní nádory často obsahují oblasti s intermitentním nebo perzistujícím deficitem perfuze. V nedostatečně prokrvených nádorech se nacházejí hypoxické buňky, které jsou radiorezistentní [25]. Většina nádorů je schopna stimulovat proliferaci endoteliálních buněk a tvorbu nových cév. Tento proces angiogeneze je složitě regulován stimulačními a inhibičními faktory. Jednou z možností hodnocení angiogeneze je měření „mikrovaskulární denzity“. Jako marker angiogeneze je používán CD34, antigen endoteliálních buněk. Protílátka proti CD34 se používá k označení kapilárních průsvitů, které jsou počítány v jednom zorném poli při 200násobném zvětšení.

Měření mikrovaskulární denzity pomocí CD34 je považováno za nezávislý prognostický faktor u karcinomu prsu, vaječníků, prostaty a žaludku. Výsledky studií u HNSCC jsou nejednoznačné. Některé studie zjistily souvislost mezi vyšší mikrovaskulární denzitou a metastazováním [26], v jiné studii [27] byla naopak vyšší denzita sdružena s lepší prognózou, další studie nenašly korelaci mezi mikrovaskulární denzitou a klinickým výsledkem vůbec [28]. Lopez-Graniel et al [29] v souboru 33 pacientů s karcinomem dutiny ústní našli průměrnou hodnotu mikrovaskulární denzity 32,5. Nejistili korelaci s přežitím, ale předpokládají, že toto vyšetření by mohlo být nezávislým prognostickým faktorem lokální recidivy. Japonští autoři [25] vyšetřovali kromě běžných klinicko-patologických faktorů i p53, bax, bcl-2, Ki-67, Al, EGFR a CD34 u 31 nemocných s karcinomem hrtanu T1–T2, kteří byli léčeni kurativní radioterapií. U 11 nemocných došlo k recidivě onemocnění. Vyšší ra-

diosenzitivita byla v univariační analýze spojena s vyšší mikrovaskulární denzitou a slabě i s vyšší expresí Ki-67. Při multivariační analýze byl prokázán pouze vliv mikrovaskulární denzity na radiosenzitivitu. Autoři uzavírají, že u malých laryngeálních karcinomů má na radiosenzitivitu vliv především mikrovaskulární denzita (oxygenace), nikoliv proliferační a apoptotické markery.

Vaskulární endotelový růstový faktor (vascular endothelial growth factor – VEGF) má vliv na mitózu endoteliálních buněk, jejich motilitu, organizaci a rovněž na permeabilitu endotelu. VEGF je v některých studiích korelován s metastazováním do krčních uzlin, angiogenezí a přežitím. Ve studiích zabývajících se VEGF u HNSCC jsou výsledky rozpačité, jeho vyšší exprese je spíše považována za prognostický faktor horší prognózy [30]. V naší klinické studii [3] byla zjištěna hodnota mediánu CD34 57,5 kapilárních průsvitů/3,14 mm<sup>2</sup> a statisticky bylo prokázáno (p = 0,002), že vyšší hodnota CD34 – zvláště vyšší než 85 – přispívala ke vzniku vyššího rizika zkrácení doby do recidivy či progresu ve všech léčebných režimech.

### Tkáňová invaze a metastazování

Důležitou součástí progresu nádoru je invaze nádorových buněk a metastazování. V této fázi nádorového růstu se uplatňuje řada proteinů. Pro invazi nádorových epitelálních buněk jsou nutné tři kroky: přichycení buňky k bazální membráně, proteolýza extracelulární matrix a migrace nádorových buněk. Na přichycení nádorových buněk k bazální membráně se podílejí některé integriny, E-cadherin a skupina cytoplazmatických proteinů (cateniny). Cadheriny jsou transmembránové proteiny zajišťující spojení mezi buňkami ve tkáni. Ke své funkci potřebují ionty Ca<sup>2+</sup>, z toho je odvozen jejich název. Snížené hladiny E-cadherinu byly sdruženy s metastatickým genotypem u HNSCC [31].

Kritickou fází invaze nádorových buněk je proteolýza extracelulární matrix. Na tomto kroku se podílí skupina proteináz, které ke své aktivitě vyžadují přítomnost kovových iontů, a proto jsou označovány jako matrix metaloproteinázy (MMP). Zvláštní pozornost zaslu-

huje MMP-2 a MMP-9, známá též jako kolagenáza typ IV o molekulové hmotnosti 92 kDa. Obě proteinázy byly prokázány u invazivních forem HNSCC [32].

Přítomnost zvýšené aktivity MMP-9 byla sdružena s vyšší invazivitou karcinomu dutiny ústní [8]. Bylo také zjištěno, že barvení na MMP-9 korelovalo se zvýšenou mikrovaskulární denzitou a VEGF, což ukazuje na možnou spolupráci obou faktorů při nádorové angiogenezi.

Invaze nádorových buněk do okolních tkání je závislá na přítomnosti povrchových markerů (adhezních molekul) a schopnosti nádorových buněk vázat mimobuněčné proteiny. V některých studiích s prognózou rakoviny hlavy a krku korelovala přítomnost markerů buněčného povrchu: CD 44, E-cadherin, I-CAM [30]. Při vícerozměrné analýze byl v naší studii [3] prokázán vliv pozitivivity MMP-9 (p = 0,01) na zvýšení rizika vzniku časné události choroby (recidiva, progresu, úmrtí), nikoliv na celkové přežití.

### Růst buněčné nádorové populace

Růst buněčné populace v nádoru je ovlivněn především rovnováhou mezi buněčnou proliferací a zánikem nádorových buněk. Mitotický a apoptotický index je počítán z rutinních řezů (barvených hematoxylin-eozinem). Mitotický index se stanoví jako procento nádorových buněk v mitóze na 1 000 nádorových jader, apoptotický index jako procento nádorových buněk v apoptóze na 1 000 nádorových jader.

Stupeň proliferace nádorové populace lze stanovit i imunohistochemicky. U HNSCC mají význam zvláště dva proliferační markery: Ki-67 (stanovený pomocí protílátky MIB 1) a PCNA. Ki-67 je protein s molekulovou hmotností 345 kDa, je vyjádřen ve všech fázích buněčného cyklu proliferující buňky (G1, S, G2, M) a nedá se detekovat u buněk ve stavu proliferačního klidu (G0). Protein má podstatný význam pro buněčnou proliferaci [12]. Ki-67 pozitivní frakce buněk je proto označovaná jako růstová frakce. Stanovení proteinu Ki-67 je poměrně jednoduché, a proto se stalo široce užívaným ukazatelem proliferační aktivity buněk. Procento imunohistochemicky značených buněk z hodnocených 1 000 buněk se označuje jako skóre

Ki-67. Podle některých studií nemocní s HNSCC se skóre Ki-67 menším než 30 % měli pravděpodobnost přežití 25 měsíců od stanovení diagnózy v 90 %, zatímco nemocní s procentem pozitivivity Ki-67 vyšším než 50 % měli pravděpodobnost tohoto přežití jen v 10 % [33].

PCNA je nukleární protein s molekulovou váhou 36 kDa. Je identický s DNA polymerázou-delta-auxiliárním proteínem, který je nezbytný pro DNA syntézu, resp. pro reparaci během DNA syntézy. Proto se PCNA užívá jako proliferační marker [33]. PCNA je považován za užitečný marker buněčné proliferace korelující se stupněm malignity tumorů slinných žláz [8]. V některých studiích vysoká incidence PCNA signifikantně korelovala s kratším DFI a OS [34]. PCNA bývá označován jako „tanečník s mnoha partnery“, poněvadž koordinuje úlohu řady proteinů regulujících DNA. PCNA má delší poločas života než Ki-67 a na rozdíl od Ki-67, který je exprimován pouze u proliferujících buněk, může být vyjádřen i u neproliferujících buněk. PCNA proto může vyjadřovat nejen stupeň proliferace, ale i závažnost alterace DNA nádorových buněk. Nádory s vysokou expresí PCNA a zároveň nízkou hodnotou Ki-67 a SPF mohou být pomalu rostoucími nádory, které jsou bohaté na genetické aberace způsobující zvýšenou agresivitu nádoru [35].

Analýzu růstu buněčné populace lze též provádět pomocí flow cytometrie. Obsah DNA se jeví jako významný nezávislý prognostický faktor [36]. Mnoho nádorových buněk má abnormální množství DNA v jádře (tzv. aneuploidie). Většinou jde o zmnožení DNA, multiklonalitu. U HNSCC bývá vysoký stupeň aneuploidie v 5–70 % případů. Aneuploidie je spojena se špatnou prognózou [33] a je výsledkem selhání kontroly mitózy [37]. Analýza buněčného cyklu nádorových buněk, zvláště stanovení S fáze buněčného cyklu (synthesis phase fraction – SPF), je důležitým ukazatelem proliferační aktivity nádoru. Das et al [38] našli významnou korelaci mezi aneuploidií a vyšší SPF u metastatických uzlin a časnou recidivou karcinomu dutiny ústní, zatímco obsah DNA primárního nádoru s DFI koreloval nebyl.

Vztah mezi zvýšenou proliferací a nízkou apoptózou považují za důležitý prediktivní marker i Raybaud-Diogene et al [39]. Autoři zjišťovali faktory radiorezistence u souboru 101 pacientů s HNSCC. Z imunohistochemicky zjištěných prediktorů – Ki-67, p53, T stadia, heat-shock protein-27 a glutathione S transferáza – prokázala multivariační analýza pouze vliv p53, Ki-67 a T stadia. Silnou pravděpodobnost dobré odpovědi na radioterapii vykazovala kombinace snížené exprese p53 a vyšší proliferace (Ki-67 > 20 %). Při poškozené apoptóze dochází k akcelerované repopulaci nádorových buněk po radioterapii, zvláště při konvenčním dávkování. Je-li použita akcelerovaná radioterapie, k této repopulaci nedochází a prediktivní hodnota p53 je potom nevýznamná. Nádory s vysokou proliferační aktivitou (Ki-67 > 20 %) odpovídaly na ozáření lépe ( $p = 0,0028$ ). Tento závěr je konzistentní s klinickou zkušeností, že rychle rostoucí nádory odpovídají zpravidla na léčbu zářením lépe než nádory rostoucí pomalu. Nedostatečné krevní zásobením tumoru zapříčiňující hypoxii nádorových buněk rovněž vysvětluje souvislost mezi radiorezistencí a nízkou proliferační aktivitou. Couture et al [40] studovali homogenní soubor 304 nemocných s HNSCC, kteří byli léčeni pouze radioterapií. Imunohistochemicky byly stanoveny hodnoty p53 a Ki-67 a bylo zjištěno, že akumulace proteinu p53 je výrazně sdužena s lokálním selháním u nemocných, kteří byli primárně léčeni radioterapií. Zvýšená exprese p53 by mohla být markerem radiorezistence.

Nemocní s nízkou proliferací (Ki-67 < 20 %) odpovídají na radioterapii hůře než nemocní s vyšší proliferační aktivitou. Kombinace pozitivivity p53 a nižší exprese Ki-67 (< 20 %) předpovídá horší odpověď na radioterapii, zvláště u nemocných s nižšími T stadii. Vliv markeru Ki-67 vysvětluje uvedení autoři skutečností, že v hypoxickém prostředí, které je samo o sobě faktorem radiorezistence, se nacházejí nádorové buňky především ve fázi G<sub>0</sub>. Nízká exprese Ki-67 proto odráží též hypoxii a predikuje radiorezistenci. Uvedení autoři doporučují imunohistochemické vyšetření Ki-67 a p53 i proto, že je dostupné, jednoduché a poměrně laciné.

V naší studii [3] se prostřednictvím vícerozměrné analýzy podařilo prokázat významný vliv realizované proliferace jak na celkové přežití, tak na riziko vzniku časné události. Míra realizované proliferace je vyjádřena jako zvýšený podíl nádorových buněk ve fázi G<sub>2</sub>M buněčného cyklu, kombinace G<sub>2</sub>M +MI anebo MI/AI. Kontrastní index G<sub>2</sub>M +MI/AI je v podstatě univerzálním prediktorem, a to ve všech léčebných režimech, u léčby poškozující genom o to více. Pacienti s nádory s vyšší mírou realizované proliferace mají horší prognózu a jsou ohroženi rizikem přímé progresy.

### Galektin 3

Sacharidy nesou informace pro řadu důležitých buněčných dějů. Během procesu maligní transformace je rovněž ovlivněna struktura sacharidů i jejich receptorových molekul. Nižší hladina exprese galektinu 3 byla nalezena u epidermálních karcinomů ve srovnání se zdravou epidermis. Expres vazebných míst pro galektin 3 může u pokročilých karcinomů hlavy a krku významně korelovat s výsledky léčby [41].

### Závěr

Poslední dekády přinesly explozi informací o karcinogenezi HNSCC. Otázka možnosti predikce léčebných výsledků HNSCC a možnosti využití prediktivních biologických markerů k plánování léčby jsou předmětem řady publikovaných prací, ale prediktivní hodnotu většiny zkoumaných markerů se nepodařilo určit jednoznačně. Většina biomarkerů se nachází ve fázi preklinického hodnocení, v dostupné literatuře autoři uvádějí „možnost“ či „doporučení“ ohledně biomarkerů určujících volbu léčby. Pro uplatnění těchto biomarkerů v diagnostice a léčbě bude nutný větší počet studií korelujících klinické výsledky s molekulárními změnami HNSCC. Významného pokroku bylo dosaženo při aplikaci cílené léčby u HNSCC.

### Literatura

1. Hanahan D, Weinberg RA. The Hallmarks of Cancer. *Cell* 2000; 100(1): 57–70.
2. Überall I, Kolář Z. Receptory pro epidermální růstové faktory a jejich význam pro maligní transformaci solidních nádorů. *Klin Farmakol Farm* 2006; 20: 190–196.



3. Smílek P. Prognostické a prediktivní parametry dlaždicobuněčných karcinomů vybraných lokalizací hlavy a krku. Habilitační práce. Brno: LF MU 2009.
4. Schartinger VH, Kacani L, Andrlje J et al. Pharmacodiagnostic Value of the HER Family in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* 2004; 66(1): 21–26.
5. Ang KK, Berkey BA, Tu X et al. Impact of epidermal growth factor receptor expression on survival and pattern of relapse in patients with advanced head and neck carcinoma. *Cancer Res* 2002; 62(24): 7350–7356.
6. Temam S, Kawaguchi H, El-Naggar AK et al. Epidermal growth factor receptor copy number alterations correlate with poor clinical outcome in patients with head and neck squamous cancer. *J Clin Oncol* 2007; 25(16): 2152–2155.
7. Grandis JR, Melhelm MF, Holding WE et al. Levels of TGF- $\alpha$  and EGF-R protein in head and neck squamous cell carcinoma and patient survival. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 824–832.
8. Myers EN, Suen JY, Myers JN et al. *Cancer of the head and neck*. 4th ed. Elsevier Science 2003.
9. Bentzen SM, Atasoy BM, Daley FM et al. Epidermal growth factor receptor expression in pretreatment biopsies from head and neck squamous cell carcinoma as a predictive factor for a benefit from accelerated radiation therapy in a randomized controlled trial. *J Clin Oncol* 2005; 23(24): 5437–5439.
10. Wells A. *Cell Motility in Cancer Invasion and Metastasis*. Netherlands: Springer 2006.
11. Hitt R, Ciruelos E, Amador ML et al. Prognostic value of the epidermal growth factor receptor (EGFR) and p53 in advanced head and neck squamous cell carcinoma patients treated with induction chemotherapy. *Eur J Cancer* 2005; 41(3): 453–456.
12. Lavertu P, Adelstein DJ, Myles J et al. P53 and Ki-67 as Outcome Predictors for Advanced Squamous Cell Cancers of the Head and Neck Treated with chemoradiotherapy. *Laryngoscope* 2001; 111: 1878–1892.
13. Shin DM, Charuruks N, Lippman SM et al. P53 protein accumulation and genomic instability in head and neck multistep tumorigenesis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001; 10(6): 603–609.
14. Vielba R, Bilbao J, Ispizua A et al. P53 and Cyclin D1 as Prognostic Factors in Squamous Cell Carcinoma of the Larynx. *Laryngoscope* 2003; 113: 167–172.
15. Shin DM, Charuruks N, Lippman SM et al. P53 protein accumulation and genomic instability in head and neck multistep tumorigenesis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001; 10: 603–609.
16. Clayman GL, El-Naggar AK, Roth JA et al. In vivo molecular therapy with p53 adenovirus for microscopic residual head and neck squamous carcinoma. *Cancer Res* 1995; 55(1): 1–6.
17. Rejthar A, Vojtěšek B. *Obecná patologie nádorového růstu*. 1. vyd. Praha: Grada 2002.
18. Costa A, Licitra L, Veneroni S et al. Biological markers as indicators of pathological response to primary chemotherapy in oral-cavity cancers. *Int J Cancer (Pred Oncol)* 1998; 79(6): 619–623.
19. Jäckel MC, Sellmann L, Dorudian MA et al. Prognostic significance of p53/bcl-2 co-expression in patients with laryngeal squamous cell carcinoma. *Laryngoscope* 2000; 110(8): 1339–1345.
20. Lehnerdt GF, Franz P, Bankfalvi A et al. The regulatory BCL2 promoter polymorphism (-938 C > A) is associated with relapse and survival of patients with oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Ann Oncol* 2009; 20(6): 1094–1099.
21. Mao L, El-Naggar AK, Fan YH et al. Telomerase activity in head and neck squamous cell carcinoma and adjacent tissues. *Cancer Res* 1996; 56(24): 5600–5604.
22. El Samny T, El Halaby H, El Fiky L et al. Prognostic value of telomerase and DNA ploidy in laryngeal carcinoma. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2005; 262(10): 799–803.
23. Mutirangura A, Supiyaphun P, Tirekepan S et al. Telomerase Activity in Oral Leukoplakia and Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Cancer Res* 1996; 56(15): 3530–3533.
24. Wright WE, Pereira-Smith OM, Shay JW. Reversible cellular senescence: implications for immortalization of normal human diploid fibroblasts. *Mol Cell Biol* 1989; 9(7): 3088–3092.
25. Kamijo T, Yokose T, Hasebe T et al. Potential role of microvessel density in predicting radiosensitivity of T1 and T2 stage laryngeal squamous cell carcinoma treated with radiotherapy. *Clin Cancer Res* 2000; 6(8): 3159–3165.
26. Shpitzer T, Chaimaoff M, Gal R et al. Tumor angiogenesis as a prognostic factor in early oral tongue cancer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1996; 122(8): 865–868.
27. Zätterström UK, Brun E, Willén R et al. Tumor angiogenesis and prognosis in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Head Neck* 1995; 17(4): 312–318.
28. Dray TG, Hardin NJ, Sofferman RA. Angiogenesis as a prognostic marker in early head and neck cancer. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1995; 104(9 Pt 1): 724–729.
29. Lopéz-Graniel CM, Tamez de León D et al. Tumor angiogenesis as a prognostic factor in oral cavity carcinomas. *J Exp Clin Cancer Res* 2001; 20(4): 463–468.
30. Smith BD, Haffty BG, Sasaki CT. Molecular markers in head and neck squamous cell carcinoma: their biological function and prognostic significance. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2001; 110(3): 221–228.
31. Georgiolos A, Batistatou A, Manolopoulos L. Role and Expression Patterns of E-Cadherin in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma (HNSCC). *J Exp Clin Cancer Res* 2006; 25(1): 5–14.
32. Do NY, Lim SC, Im TS. Expression of c-erbB receptors, MMPs and VEGF in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Oncol Rep* 2004; 12(2): 229–237.
33. Welkoborski HJ, Hinni M, Dienes HP et al. Predicting recurrence and survival in patients with laryngeal cancer by means of DNA cytometry, tumor front grading, and proliferation markers. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1995; 104(7): 503–510.
34. Maga G, Hubscher U. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA): a dancer with many partners. *J Cell Sci* 2003; 116(Pt 16): 3051–3060.
35. Liu M, Lawson G, Delos M et al. Prognostic value of cell proliferation markers, tumor suppressor proteins and cell adhesion molecules in primary squamous cell carcinoma of the larynx and hypopharynx. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2003; 260(1): 28–34.
36. Yip TT, Lau WH, Chan JKC et al. Prognostic Significance of DNA Flow Cytometric Analysis in Patients with nasopharyngeal Carcinoma. *Cancer* 1998; 83(11): 2284–2292.
37. Takes RP, Baatenburg de Jong RJ, van Blommestein R et al. DNA ploidy status as a prognostic marker and predictor of lymph node metastasis in laryngeal carcinoma. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2002; 111(11): 1015–1020.
38. Das SN, Khare P, Patil A et al. Association of DNA pattern of metastatic lymph node with disease free survival in patients with intraoral squamous cell carcinoma. *Indian J Med Res* 2005; 122(3): 216–223.
39. Raybaud-Diogenè H, Fortin A, Morency R et al. Markers of radioresistance in Squamous Cell Carcinomas of the Head and Neck: A Clinicopathologic and Immunohistochemical Study. *J Clin Oncol* 1997; 15(3): 1030–1038.
40. Couture C, Raybaud-Diogenè H, Têtu B et al. p53 and Ki-67 as markers of radioresistance in head and neck carcinoma. *Cancer* 2002; 94(3): 713–722.
41. Plzák J, Betka J, Smetana K jr et al. Galectin-3 – an emerging prognostic indicator in advanced head and neck carcinoma. *Eur J Cancer* 2004; 40(15): 2324–2330.
42. Neuwirthová J, Mechl Z, Smílek P et al. Integrace nových biologických přípravků do léčby spinocelulárních karcinomů hlavy a krku. *Remedia* 2007; 17(2): 181–187.
43. Gillison ML. HPV and prognosis for patients with oropharynx cancer. *Eur J Cancer* 2009; 45(Suppl 1): 383–385.

# Cílená léčba bronchioloalveolárního plicního adenokarcinomu inhibitory tyrozinkinázové aktivity *EGFR*: kazuistika klinicky promptní a výrazné odpovědi a přehled literatury

## *EGFR* Tyrosine Kinase Inhibitors as a Targeted Therapy for Bronchioloalveolar Carcinoma of the Lung: a Case Report of a Clinically Prompt and Intensive Response and Literature Review

Svoboda M.<sup>1,2</sup>, Fabian P.<sup>3</sup>, Slabý O.<sup>1,2</sup>, Staňková M.<sup>4</sup>, Lakomý R.<sup>1,2</sup>, Němeček R.<sup>1</sup>, Vyzula R.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Klinika komplexní onkologické péče, Masarykův onkologický ústav, Brno

<sup>2</sup> Lékařská fakulta Masarykovy univerzity, Brno

<sup>3</sup> Oddělení patologie, Masarykův onkologický ústav, Brno

<sup>4</sup> Institute of Applied Biotechnologies, a.s., Praha

### Souhrn

**Úvod:** Bronchioloalveolární karcinom (BAC) patří ve skupině nemalobuněčných plicních karcinomů (NSCLC) mezi adenokarcinomy a kromě morfologie a endobronchiálního šíření vykazuje i určitá klinická specifika: častější výskyt u žen, nekuřáků a mladších pacientů, přítomnost maligní bronchorrhie a nižší citlivost ke konvenční cytostatické léčbě ve srovnání s ostatními podtypy NSCLC. Naopak nemucinózní typ BAC může dosahovat lepších léčebných výsledků při použití cílené terapie inhibitory tyrozinkinázové aktivity (TKI) receptoru pro epidermální růstový faktor (*EGFR*) erlotinibem nebo gefitinibem, neboť je až 5krát častěji nositelem mutací v genu pro *EGFR* oproti konvenčnímu plicnímu adenokarcinomu. **Popis případu:** Popisujeme případ 41letého muže, 5 let stopkuřáka, u kterého byla diagnostikována pneumonická forma nemucinózního bronchioloalveolárního karcinomu. Již iniciálně byly přítomny metastázy do regionálních i vzdálených lymfatických uzlin a masivní postižení skeletu s infiltrací kostní dřevě. V průběhu I. linie paliativní chemoterapie v režimu karboplatina/paklitaxel dochází k výrazné progresi nemoci a zhoršení stavu pacienta (performance status – (PS) 3, těžká klidová dušnost, maligní bronchorrhoea). Na základě několika kazuistik popisujících dobrou odpověď BAC na léčbu TKI *EGFR* bylo zahájeno podávání erlotinibu. Již po 4 dnech aplikace nastává evidentní zlepšení stavu pacienta a regrese periferní lymfadenopatie, po 30 dnech dochází k téměř úplnému vymizení plicních infiltrátů, pacient se stává asymptomatickým, PS 0. Molekulárně genetické metody potvrdily fenotyp tumoru zvýšeně citlivý k cílené terapii TKI *EGFR*. V tumoru byla zjištěna mutace genu *EGFR* v exonu 19 (in-frame delece L747-753insS) a nemutovaný gen *K-ras*. Progrese onemocnění byla potvrzena po 6 měsících léčby, kdy došlo k relapsu onemocnění v játrech. Další léčba již nebyla efektivní, byť následné podávání pemetrexedu a gefitinibu vždy na krátkou dobu stabilizovalo progresi jaterních enzymů. Pacient zemřel za 12 měsíců od diagnózy nemoci. **Závěr:** Náš případ potvrzuje význam cílené terapie v případě její aplikace u nádorů s odpovídajícím fenotypem. Takto indikovaná léčba může mít promptní a silný účinek, jenž může zvrátit vývoj nemoci i u pacientů ve špatném celkovém stavu.

### Klíčová slova

karcinom plic – bronchioloalveolární karcinom – gen *EGFR* – gen *K-ras* – erlotinib – gefitinib – cílená léčba – predikce

Tato práce byla podpořena výzkumným záměrem Ministerstva zdravotnictví ČR: FUNDIN MZOMOU2005.

This work was supported by the Czech Ministry of Health under contract No. FUNDIN - MZOMOU2005.

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

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

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

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



MUDr. Marek Svoboda, Ph.D.  
Klinika komplexní onkologické péče  
Masarykův onkologický ústav  
Žlutý kopec 7  
656 53 Brno  
e-mail: msvoboda@mou.cz

Obdrženo/Submitted: 19. 4. 2010

Přijato/Accepted: 10. 6. 2010

## Summary

**Introduction:** Bronchioloalveolar carcinoma (BAC) is an adenocarcinoma belonging to non-small cell lung carcinomas (NSCLC) that, in addition to its morphology and endobronchial spread, presents with certain specific clinical characteristics: greater incidence in women, non-smokers and younger patients, presence of malignant bronchorrhea and lower susceptibility to conventional cytostatic therapies in comparison to other subtypes of NSCLC. On the other hand, nonmucinous type of BAC may show better therapeutic response to targeted therapy with epidermal growth factor receptor (*EGFR*) tyrosine kinase inhibitors (TKI) erlotinib or gefitinib, as it is 5 times more frequently a carrier of *EGFR* gene mutations compared to conventional lung adenocarcinomas. **Case description:** We present a case of a 41 years old man, non-smoker for the last 5 years, who was diagnosed with a pneumonic form of nonmucinous bronchioloalveolar carcinoma. Metastases to regional and distant lymph nodes and massive involvement of skeleton with infiltrations in the bone marrow were present at the diagnosis. During the first line palliative chemotherapy with combination regimen of carboplatin and paclitaxel, the disease progressed significantly and the patient's condition deteriorated (performance status (PS) 3, severe dyspnoea at rest, malignant bronchorrhea). Subsequently, administration of erlotinib was initiated based on a series of case studies describing good response of BAC to treatment with *EGFR* TKI. An evident improvement of the patient's condition was observed as early as 4 days of administration, together with regression of peripheral lymphadenopathy. Nearly complete disappearance of pulmonary infiltrates was observed after 30 days of therapy, with the patient becoming asymptomatic, PS 0. Molecular genetics confirmed the tumour phenotype to be highly responsive to *EGFR* TKI therapy. The tumour contained *EGFR* mutation in exon 19 (in-frame L747-753insS deletion) and wild-type *K-ras*. Disease relapse in the liver occurred 6 months later confirming disease progression. Further treatment remained ineffective despite brief stabilisations of liver enzyme progression following repeated administration of pemetrexed and gefitinib. The patient died 12 months after the diagnosis. **Conclusions:** Our case confirms the importance of targeted therapy when treating tumours of an appropriate phenotype. Such treatment may have prompt and intensive effect that may reverse the course of the disease even in patients with poor overall health status.

## Key words

lung cancer – bronchioloalveolar carcinoma – *EGFR* gene – *K-ras* gene – erlotinib – gefitinib – targeted therapy – prediction

## Úvod

Zhoubné novotvary plic patří k nejčastějším malignitám u mužů i u žen, obecně mají nepříznivou prognózu a vysokou mortalitu. Bronchioloalveolární karcinom (BAC) patří ve skupině nemalobuněčných plicních karcinomů (non-small cell lung cancer – NSCLC) mezi adenokarcinomy a kromě morfologie a endobronchiálního šíření vykazuje i určitá klinická specifika: častější výskyt u žen, nekuřáků a mladších pacientů, eventuální přítomnost maligní bronchorrhea a nižší citlivost ke konvenční cytostatické léčbě ve srovnání s ostatními podtypy NSCLC [1–3]. Naopak nemucinózní typ BAC může dosahovat lepších léčebných výsledků při použití cílené terapie inhibitory tyrozinkinázové aktivity (tyrosine kinase inhibitors – TKI) receptory (tyrosine kinase inhibitors – TKI) receptory pro epidermální růstový faktor (epidermal growth factor receptor – *EGFR*) erlotinibem nebo gefitinibem [4–6], neboť je až 5krát častěji nositelem mutací v genu pro *EGFR* oproti konvenčnímu plicnímu adenokarcinomu [6,7].

## Etiopatogeneze

Bronchioloalveolární karcinom se může vyskytovat samostatně (do 5 % NSCLC), častěji se však jedná o smíšený adenokarcinom s menším či větším zastoupením složky BAC (20–40 % adenokarcinomů). „Čistá“ forma BAC se vyznačuje neinvazivním růstem v plicních sklíp-

cích podél alveolárních sept. K šíření dochází uvnitř dýchacích cest a lymfaticky. Makroskopicky pak může tumor růst ve formě uzlů nebo difúzně postihovat část či celou plíci [1,5,8].

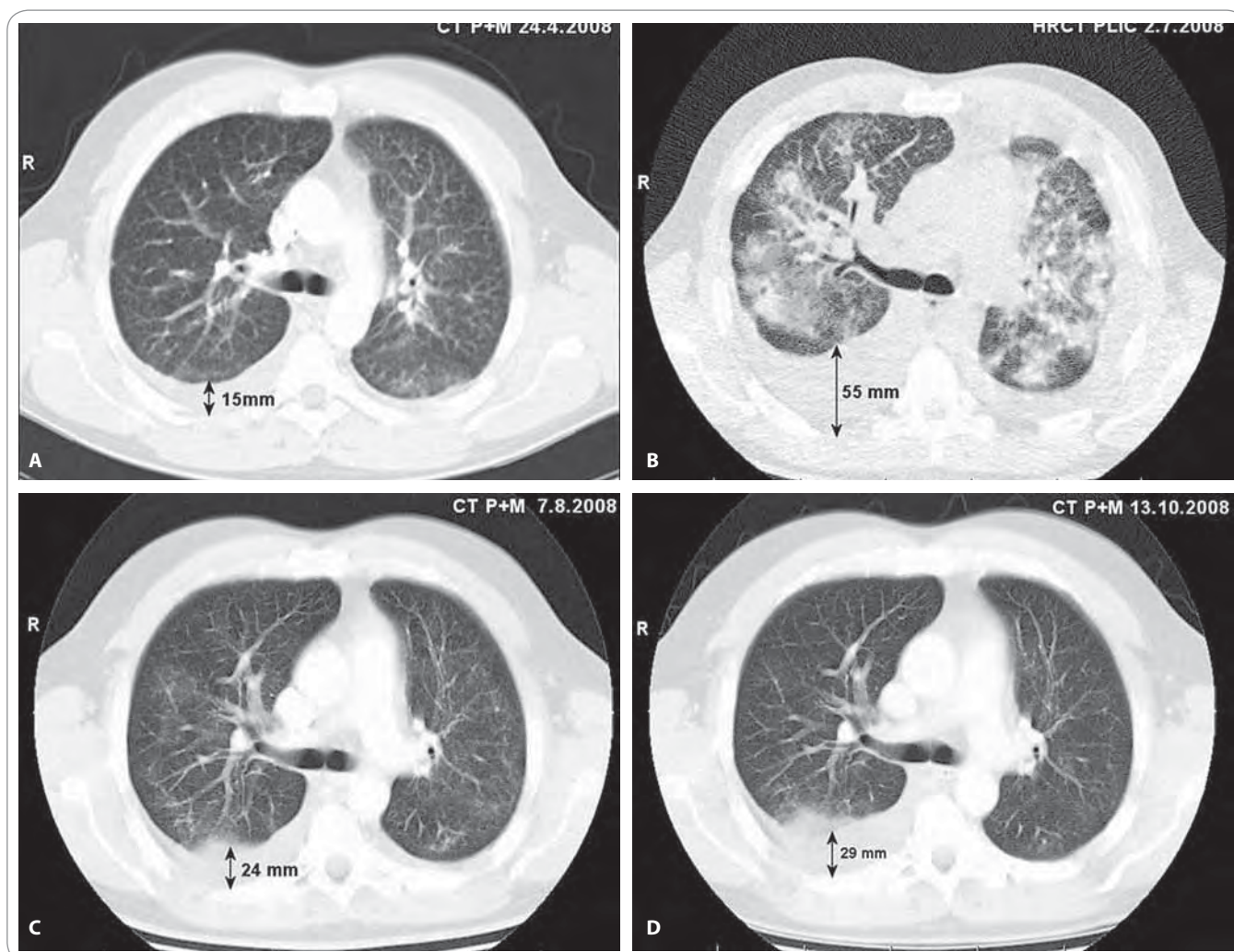
Rozlišují se tři podtypy BAC: mucinózní, nemucinózní a smíšený. Toto dělení odráží nejenom rozdíly na úrovni molekulární a morfologické, nýbrž má i významný dopad na léčbu a prognózu pacienta. Mucinózní BAC tvoří přibližně 30–40 % případů BAC a vychází nejspíše z pohárkových buněk přítomných v epitelu dýchacích cest až do úrovně bronchiolů. Zbylou část případů představuje zejména nemucinózní BAC, který vzniká z Clarových buněk (na úrovni bronchiolů) nebo pneumocytů II typu (na úrovni alveolů). Smíšená forma mucinózního a nemucinózního BAC je vzácná [1,5,8,9]. Nemucinózní typ BAC je až 5krát častěji nositelem mutací *EGFR* oproti konvenčnímu adenokarcinomu [6,7]. Více než 90 % mutací v genu pro *EGFR* nastává v exonu 19 a 21 [6,7,10]. V důsledku těchto mutací dochází nejčastěji k permanentní aktivaci tyrozinkinázové domény *EGFR*, bez závislosti na ligandu receptoru, což vede k fosforylaci dalších proteinů *EGFR* signální dráhy. Výsledkem je agresivní fenotyp tumoru [6,10].

Marchetti et al publikovali výsledky analýzy mutačního stavu *EGFR* genu

v exonech 18, 19 a 21 u 860 pacientů s NSCLC [6]. Zatímco u 454 pacientů s dlaždicobuněčným karcinomem nebyla nalezena žádná mutace v *EGFR* genu, u adenokarcinomů byly mutace detekovány v 39 případech z 375 pacientů (10 %), z toho 22 mutací připadlo na 69 pacientů s nemucinózním typem BAC (32 %). Ani jeden z mucinózních BAC nebyl nositelem mutace v *EGFR* genu [6]. Obecně u adenokarcinomů plic platí, že mutace v *EGFR* genu jsou častější u Asijců (40–60 %) ve srovnání s Američany (14 %) nebo Italy (10 %) či Australany (7 %); u žen (20–62 %) oproti mužům (7–22 %); u celoživotních nekuřáků (27–56 %) ve srovnání s kuřáky (7–14 %) [6,7,10,11]. Ke kouření je nutné uvést, že i v případě vzniku BAC hraje kouření významnou roli, nicméně jedna třetina případů BAC vzniká u nekuřáků a stejná proporce připadá na pacienty, kteří jsou víceletí stopkuřáci nebo kouřili periodicky [12].

## Diagnostika

Příznaky onemocnění závisí na jeho rozsahu. V případě uzlovité formy růstu může být BAC diagnostikován i u zcela asymptomatických pacientů. U pokročilých případů nebo difúzní formy růstu jsou nejčastějšími projevy nemoci kašel, dušnost, hemoptýza, ztráta hmotnosti a teploty. Specifickým symptomem BAC



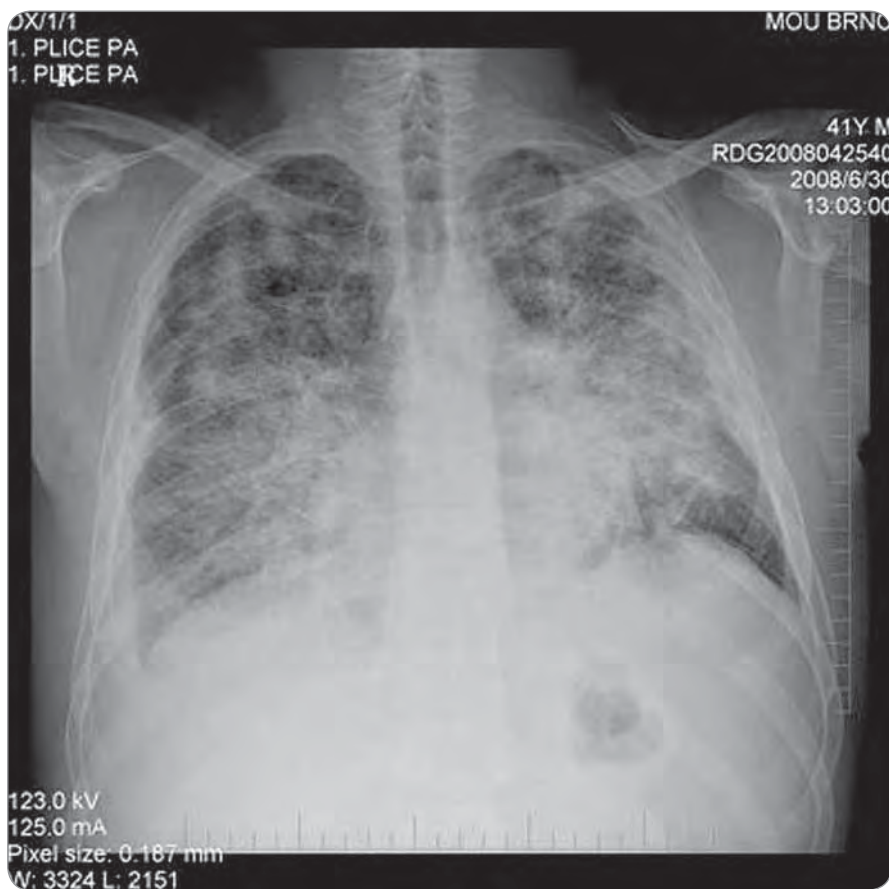
Obr. 1. A) CT vyšetření plic a mediastina v době před stanovením diagnózy bronchioloalveolárního karcinomu. V popisu CT a předchozího HRCT zhodnoceno jako: „Oboustranný intersticiální plicní proces charakteru fibrotizující alveolity s mikro- až makrodulací.“ (Vyšetření provedeno mimo MOÚ). B) HRCT vyšetření plic provedené v době progresu onemocnění po 2. sérii iniciální chemoterapie v režimu karboplatina/paklitaxel: „V plicním parenchymu oboustranně poměrně symetrická, výrazná alveolární infiltrace s max. perihilózně, spíše vynechávající periferní peripleurální partie plic, s patrným air-bronchogramem bilat. Ve srovnání s dokumentací z 24/4/08 nález ve výrazné progresi.“ V této době je pacient v celkově velmi špatném stavu (PS 3), manifestovaném zejména klidovou dušností (saturace  $\text{SpO}_2$  74 %, měřeno puzním oxymetrem, bez oxygenoterapie) a intermitentním dávivým kašlem s bronchorrheou. C) CT vyšetření plic a mediastina provedené 1 měsíc od zahájení cílené léčby inhibitory tyrozinkinázové aktivity EGFR – erlotinibem: „Prokázána výrazná regrese velikosti i rozsahu měkkých převážně alveolárních infiltrátů v obou plicních křídlech a regrese pleurálních výpotků.“ D) CT vyšetření plic a mediastina provedené 3 měsíce od zahájení léčby erlotinibem: „Další regrese nízkedenzních infiltrátů v plicním parenchymu bilat. Fluidothorax vpravo lehce výraznější, vlevo regrese ad integrum. Uzliny v mediastinu již stacionární. Karcinomatóza skeletu stacionární.“

Vyšetření provedli: MUDr. Petr Opletal, MUDr. Renata Belánová, MUDr. Michal Standara.

je maligní bronchorrhea, kdy v nadměrném množství (> 100 ml/den) vykašlávajícího sputa lze prokázat buňky BAC. Na základě způsobu růstu tumoru lze při rentgenovém vyšetření plic (RTG nebo CT) detekovat buď jednotlivé nebo vícečetné uzly nebo mnohočetné periferně lokalizované malé noduly, anebo plicní infiltráty jako u bakteriální pneumonie, avšak s nápadným vzdušným bron-

chogramem (obr. 1A, 1B, 2). Posledně uvedená forma je označována jako tzv. „pneumonická forma“ a tito pacienti mají nejhorší prognózu (obr. 2) [1,5,13]. Při stagingu onemocnění se řídíme sedmým vydáním TNM klasifikace, ve kterém je mnohočetné ložiskové postižení v rámci jednoho plicního laloku klasifikováno jako T3, a nikoliv T4, jak by tomu bylo při stagingu NSCLC v šes-

tém vydání. Podobně je tomu i v případě nálezu ložisek v dalším laloku/lalocích stejné plice, které je klasifikováno jako T4, nikoliv M1 [14]. K nejčastějším místům metastatického rozsevu patří druhostranná plice, skelet, nadledviny, mozek [13]. Diagnózu lze stanovit jak z cytologického vyšetření aspirátu tenkojehlové biopsie či bronchoalveolární laváže (obr. 3F), tak z histologie reseko-



**Obr. 2.** RTG snímek plic – zadopřední projekce. Snímek proveden v době progresu onemocnění po 2. sérii iniciační chemoterapie, před zahájením cílené protinádorové léčby. Na snímku je patrná rozsáhlá převážně intersticiální infiltrace obou plicních křídel - nehomogenní párovitě splyváající infiltráty, nejvýraznější a nejsytlejší vlevo ve středním plicním poli. Fluidothorax vpravo, nově nepatrně i vlevo. Metastatické postižení skeletu. (Vyšetření provedla: MUDr. Monika Procházková).

vaného tumoru nebo postižených lymfatických uzlin (obr. 3A–E).

### Léčba

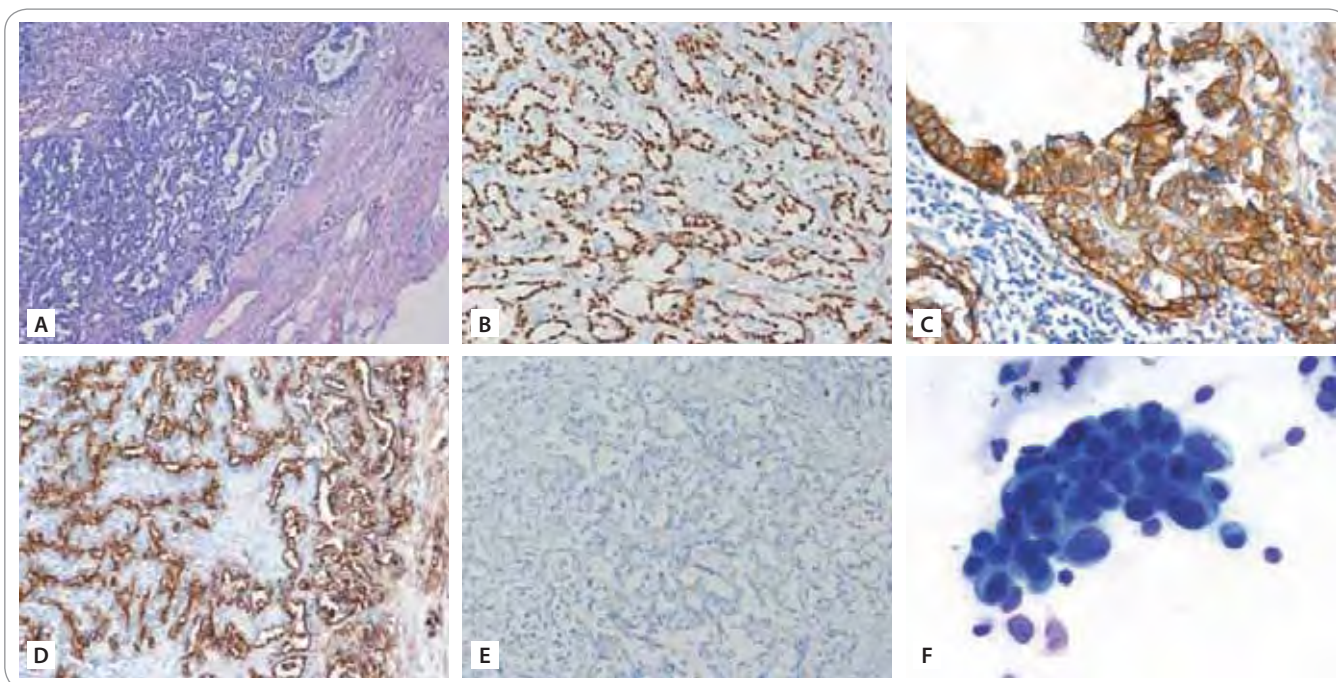
Léčba BAC se řídí pravidly platnými pro NSCLC. Iniciační chirurgická léčba je preferována v případech I. a II. klinického stadia nemoci, v úvahu připadá i u jednotlivých resekovatelných uzlů. Radioterapie je u BAC stejně efektivní jako u ostatních typů NSCLC a je indikována zejména u III. klinického stadia nebo u pacientů, kteří nemohou podstoupit chirurgický výkon. Často je součástí multimodální léčby. Mezi ostatními typy NSCLC je BAC je považován za relativně chemorezistentní onemocnění, byť některá cytostatika mohou vykazovat srovnatelný efekt, např. taxany [1–3,5,11]. Naopak nemucinózní typ BAC může dosahovat lepších léčebných výsledků při použití

cílené terapie inhibitory tyrozinkinázové aktivity (TKI) receptoru pro epidermální růstový faktor (*EGFR*) erlotinibem (Tarceva®) nebo gefitinibem (Iressa®), neboť je až 5krát častěji nositelem mutací v genu pro *EGFR* oproti konvenčnímu plicnímu adenokarcinomu [4–7]. V klinických studiích s TKI *EGFR* v paliativní léčbě NSCLC dosahovala objektivní odpověď 10–30 % u neselektované populace pacientů, 60–75 % u pacientů s tumory s mutovaným genem *EGFR* a do 2 % u pacientů s normálním genem *EGFR* a nebo s mutací v genu *K-ras* [6,10,11].

### Popis kazuistiky

Pacient – muž, rok narození 1967. Rodinná a osobní anamnéza nevýznamná. Stopkuřák 5 let, kouřil 15 let, cca 10 cigaret denně.

**Průběh onemocnění:** od 22. 4. 2008, po 14. dnech postupně progredujícího suchého kašle a selhání antibiotické terapie byl pacient hospitalizován na plicním oddělení okresní nemocnice pro rozsáhlou levostrannou pneumonii. Zde provedeno CT a HRCT vyšetření plic s nálezem oboustranného intersticiálního plicního procesu charakteru fibrotizující alveolitidy s mikro- až makronodulací, fluidothorax vlevo, zmnožené a zvětšené lymfatické uzliny v horním mediastinu do 10 mm (obr. 1A). V séru pacienta nalezeny zvýšené hladiny protilátek proti ENA a kardiolipinu a na základě těchto zjištění bylo vysloveno podezření na systémové onemocnění. Následovala terapie kortikoidy s krátkodobě dobrým efektem. Další zhoršení stavu pacienta vedlo k novým vyšetřením, která odhalila osteolytické postižení skeletu, lymfadenopatii v dutině břišní a retroperitoneu, což vzbudilo podezření na nádorové onemocnění. Maligní buňky nebyly zachyceny v žádném z vyšetřovaných materiálů: pleurální výpotek, aspirát bronchoalveolární laváže, cílená transtorakální biopsie. Pacient byl dne 15. 5. 2008 přeložen do MOÚ k došetření. Při přijetí byla nově zjištěna patologická uzlina v levé axile, která byla dne 21. 5. 2008 extirpována. Histologické a imuno-histochemické vyšetření prokázalo kompletní infiltraci uzliny metastázou adenokarcinomu plicního origa odpovídající nemucinóznímu bronchioalveolárnímu karcinomu (exprese TTF-1 difúzně pozitivní, *EGFR* silně pozitivní) (obr. 3B, 3C). Celotělová pozitronová emisní tomografie potvrdila rozsáhlou disseminaci malignity do plic, lymfatických uzlin a skeletu. V kostní dřeni byly prokázány maligní buňky, v séru zjištěna elevace nádorových markerů CEA, CA 15-3, CYFRA 21-1, NSE, CA 125 (graf 1). Stav pacienta se dále zhoršoval a komplikoval, došlo ke vzniku hluboké žilní trombózy v dolní končetině. Vzhledem ke klinicky rychlé progresi choroby byla dne 29. 5. 2008 zahájena 1. série I. linie paliativní chemoterapie v režimu karboplatina/paklitaxel. Dne 19. 6. 2008 byla aplikována její 2. série a postupně snižována dávka kortikoidů. Již za sedm dní (25. 6. 2008) je pacient akutně přijat k hospitalizaci pro celkové

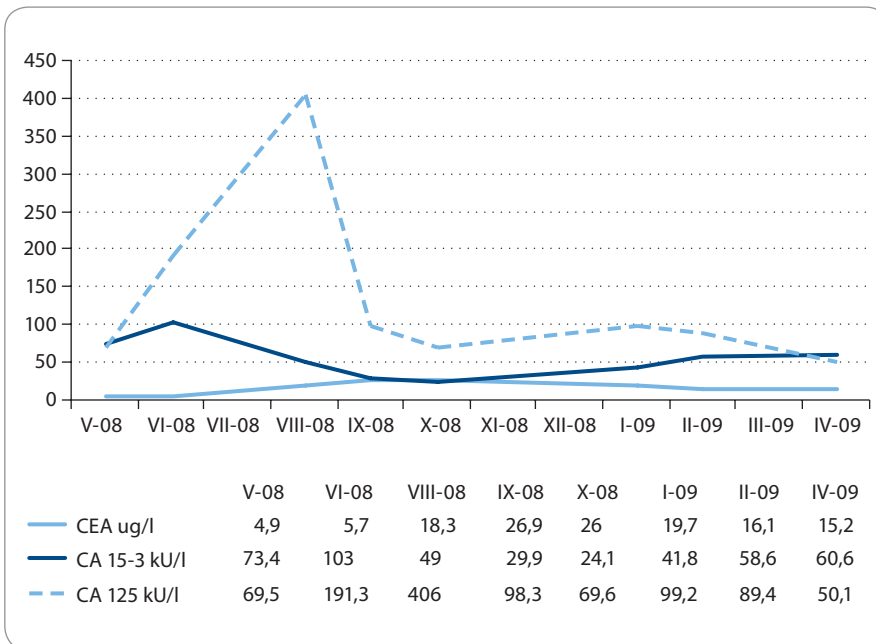


**Obr. 3.** A) Infiltrace lymfatické uzliny metastázou adenokarcinomu plicního origa odpovídající nemucinóznímu bronchioloalveolárnímu karcinomu (dle podrobného imunoprofilu – viz text). Barvení hematoxylin – eozin. Zvětšeno 100 $\times$ . B) Imunohistochemické vyšetření exprese TTF-1 (thyroid transcription factor-1, specifický marker pro adenokarcinomy plicního origa): pozitivní průkaz. Zvětšeno 200 $\times$ . C) Imunohistochemické vyšetření exprese *EGFR*: pozitivní průkaz silné membránové exprese. Zvětšeno 200 $\times$ . D) Imunohistochemické vyšetření exprese antigenu CA 15-3: pozitivní průkaz. Zvětšeno 200 $\times$ . U pacienta byl antigen CA 15-3 ve zvýšené koncentraci detekován rovněž v séru. E) Imunohistochemické vyšetření exprese antigenu CA 125: negativní průkaz. U pacienta byl antigen CA 125 ve zvýšené koncentraci detekován v séru. Nejspíše však pocházel z buněk mezotelu pleury, neboť nádorové buňky tento antigen neexprimovaly. F) Trs nádorových buněk získaných z cytopsinu aspirátu bronchoalveolární laváže provedené v době progresu nemoci. Vyšetřením byla prokázána maligní bronchorrhea. Barvení MGG, zvětšeno 630 $\times$ . (Fotografie a vyšetření provedli: MUDr. Pavel Fabian, Ph.D., MUDr. Eva Krejčí).

zhoršení stavu (PS 3) manifestované zejména klidovou dušností (saturace  $\text{SpO}_2$  74 %, měřeno pulzním oxymetrem, bez oxygenoterapie) a intermitentním dávivým kašlem s expektorací hlenů rezavé barvy. Provedeno HRCT plic a bronchoskopie s bronchoalveolární laváží. HRCT plic prokázalo výraznou alveolární infiltraci obou plicních křídel a oboustranný fluidothorax (obr. 1B, HRCT z 2. 7. 2008). To, že se jedná o obraz progresu nádorového onemocnění potvrdilo cytologické vyšetření aspirátu bronchoalveolární tekutiny, ve které byly masivně přítomny nádorové buňky s morfolíí BAC (obr. 3F). Stav pacienta uzavřen jako výrazná progresu základní choroby v průběhu I. linie paliativní chemoterapie a po vyloučení souběžné infekční příčiny byly navýšeny kortikoidy s efektem ústupu klidové dušnosti ( $\text{SpO}_2$  90 %, měřeno pulzním oxymetrem, bez oxygenoterapie).

Na základě do té doby ojedinělých kazuistik popisujících enormní odpovědi až do obrazu kompletních remisí u pacientů s BAC léčených TKI *EGFR* erlotinibem nebo gefitinibem, jsme dne 9. 7. 2008 zahájili II. linii paliativní protinádorové léčby erlotinibem v pravidelné denní dávce 150 mg. Pacient byl bezprostředně propuštěn do domácí péče, při propuštění PS 2. První klinická kontrola pacienta provedena po 14 dnech léčby erlotinibem. Pacient přichází ve velmi dobrém stavu (PS 1), nejuje potíže, včetně kašle nebo námahové dušnosti, udává, že zlepšení stavu začal pociťovat již po 4 dnech léčby erlotinibem. Lékař dále zaznamenává, že došlo k regresi periferní lymfadenopatie. Po 1. měsíci léčby, dne 7. 8. 2008, je provedeno kontrolní CT plic a mediastina (obr. 1C, CT ze 7. 8. 2008), které prokázalo výraznou oboustrannou regresi alveolárních infiltrátů i pleurálních výpotků. Pacient

je bez potíží (PS 0). Na dalším CT vyšetření, které bylo provedeno po 3 měsících léčby dne 13. 10. 2008, je patrná další regrese již pouze nízké denzních nepravidelných infiltrátů v plicním parenchymu (obr. 1D, CT ze 13. 10. 2008). Pacient se cítí velmi dobře (PS 0), neudává žádné omezení ve svých pracovních aktivitách, bez potíží zvládá vycházky s dětmi a jízdu na kole. Z nežádoucích účinků erlotinibu je patrný generalizovaný exantém s maximem v obličejové části, kde je klasifikovatelný stupněm G2 (dle CTCAE). Mimo erlotinib je aplikována podpůrná terapie bisfosfonáty pro současné metastatické kostní postižení. Uvedený stav přetrvává celkem 6 měsíců. V prosinci 2009 zjištěna progresu nádorového markeru CA 15-3 (graf 1) a jaterních enzymů, pacient nadále asymptomatický. Dne 6. 1. 2009 při pravidelném kontrolním CT vyšetření zjištěno nově mnohočetné metastatické



**Graf 1. Hodnoty sérové koncentrace vybraných nádorových markerů v průběhu choroby. Zatímco u nádorových markerů CEA a CA 15-3 byla prokázána jejich exprese nádorovými buňkami, v případě CA 125 nikoliv. Zvýšená sérová koncentrace CA 125 tak nejspíše pocházela z aktivovaných mezotelií pleury. Poznámka: Normy jednotlivých markerů: CEA do 4,6 mg/l, CA 15-3 do 30 kU/l, CA 125 do 35 kU/l.**

postižení jater a mírná progresse fluidthoraxu. Pacient nadále asymptomatický. Od února 2009 zahájena III. linie paliativní protinádorové léčby pemetrexedem (Alimta®). Po 1. sérii dochází ke stabilizaci jaterních enzymů, nicméně již od 2. série nastává jejich rychlá a výrazná progresse, pacient je ikterický, narůstá plicní výpotek, pacient kachektizuje a celkově se zhoršuje. Po potvrzení progresse jaterního postižení zobrazovacími metodami je v dubnu 2009 léčba pemetrexedem po 2. sérii ukončena a po kolektivní rozvaze je indikována symptomatická a ošetrovatelská péče. V této situaci si pacient obstarává v Rusku gefitinib, který si na vlastní riziko aplikuje v denní dávce 250 mg od 26. 4. 2009 do 22. 5. 2009. Přestože nedošlo při užívání gefitinibu k žádnému zjevnému zlepšení stavu pacienta, nebyla pozorována ani toxicita léku, místo toho došlo k poklesu GMT z 54,3 mkat/l na 23,82 mkat/l a ALT z 8,78 mkat/l na 2,48 mkat/l a ke stabilizaci AST na hladině 2,6–2,9 mkat/l. Všechny jaterní enzymy do týdne po vysazení gefitinibu opět vzrostly, a to na 49,18 mkat/l u GMT a 3,48 mkat/l u ALT a 4,78 mkat/l v případě AST.

Stav pacienta se opět zhoršuje, je akutně hospitalizován a dne 30. 5. 2010 umírá v důsledku progresse nádorového onemocnění a jaterního selhání.

### Diskuze

Zpětný pohled na průběh diagnostického a léčebného procesu u tohoto případu ukázal na několik zajímavých míst a skutečností vhodných k diskuzi.

Příznaky a výsledky prvních vyšetření na počátku nemoci a v průběhu prvních 6 týdnů od jejich vzniku vedly nejprve k diagnóze infektu horních cest dýchacích, následně ke zjištění levostranné pneumonie a poté k vyslovení podezření na systémové onemocnění. A právě všemi těmito klinickými obrazy se může bronchioloalveolární karcinom manifestovat. Ani cílená biopsie, ani vyšetření aspirátů z bronchoalveolární laváže či fluidthoraxu nevedly ke stanovení diagnózy. Až histologické a imunohistochemické vyšetření zvětšující se lymfatické uzliny potvrdilo diagnózu plicního adenokarcinomu (pozitivní exprese: cytokeratinu (CK) 7, antigenu TTF-1 difuzně, CEA v části tumoru, EGFR silně membránově, CK19 slabě; naopak žádná

exprese: CK20, CK5/6, CD30, tyreoglobulinu, PSA, estrogenových a progesteronových receptorů). Nádorové buňky byly v aspirátu z bronchoalveolární laváže přítomny až v době, kdy pacient trpěl bronchorrhoeou. Přechodné zlepšení stavu při terapii kortikoidy bylo způsobeno útlumem paraneoplastických symptomů. Ostatně kortikoidy jsou u BAC obecně doporučovány k tlumení bronchorrhoe [15].

Za problematické místo našeho případu považujeme období, kdy po 2. sérii iniciální chemoterapie karboplatina/paklitaxel, považované za jednu z neefektivnějších v léčbě NSCLC, byla zjištěna rychlá progresse onemocnění, která bezprostředně ohrožovala život pacienta (celkový stav pacienta PS 3, těžká klidová dušnost, saturace O<sub>2</sub> měřená periferním oxymetrem 74 %, bronchorrhoea). Za daných okolností jsme se těžce rozhodovali o dalším postupu léčby. S ohledem na skutečnost, že pacient byl muž a kuřák a že nebylo možné čekat na případný výsledek vyšetření známých molekulárních prediktorů, mutačního stavu genů EGFR a K-ras, se část lékařů přiklání k pokračování protinádorové léčby na bázi jiných cytostatik raději než perorálně aplikovaného TKI EGFR. Určitou roli zde hrála i nedůvěra k možnému časnému nástupu protinádorového účinku inhibitoru při současné rychlé progresi choroby. Již v té době (06/2008) však bylo k dispozici několik prací popisujících větší pravděpodobnost efektivity TKI EGFR u BAC, a proto jsme do II. linie paliativní protinádorové léčby zvolili jediný dostupný přípravek této lékové skupiny v ČR – erlotinib. Volba se ukázala jako správná. Již po 4 dnech užívání došlo ke zlepšení stavu pacienta a nastala regrese periferní lymfadenopatie. Do 1 měsíce byl pacient zcela asymptomatický a nález na CT plic minimální ve srovnání se vstupním vyšetřením. Molekulárně genetická vyšetření prokázala v nádoru pacienta mutaci v genu EGFR v exonu 19 (in-frame delece L747-753insS), která způsobuje permanentní aktivitu tyrozinkinázové domény EGFR, a nemutovaný gen K-ras. Právě výše uvedená mutace EGFR genu patří k mutacím predikujícím velmi dobrou odpověď k oběma tyrozinkinázovým in-

hibitorům – gefitinibu ( $IC_{50}$  7 nmol/l) i erlotinibu ( $IC_{50}$  5 nmol/l) [10,16]. V klinických studiích s TKI *EGFR* v paliativní léčbě NSCLC dosahovala objektivní odpověď 10–30% u neselektované populace pacientů, 60–75% u pacientů s tumory s mutovaným genem *EGFR* a do 2% u pacientů s normálním genem *EGFR* anebo s mutací v genu *K-ras* [6,10,11]. O příčině selhání cílené terapie u daného pacienta můžeme pouze spekulovat. Vezmeme-li v úvahu následný klinický vývoj (celkově pomalejší progresse, která se odehrávala zejména v játrech, a větší elevace nádorového markeru CEA než CA 15-3), jeví se nám jako nejpravděpodobnější příčina progresse konvenční složky adenokarcinomu, která na rozdíl od BAC nemusela mít mutaci v *EGFR* genu. Druhou možnou příčinou mohl být vznik sekundární mutace v *EGFR* genu, která způsobila rezistenci proti podávaným TKI *EGFR*. Existence a význam těchto mutací již byl publikován [10,17].

V neposlední řadě chceme v diskuzi uvést i několik skutečností, které doprovázely podávání gefitinibu, včetně lidského aspektu, který zde sehrál významnou roli. Po selhání pemetrexedu, jako již druhé řady cytostatické léčby, pacient a jeho rodina zaměřili svoji aktivitu na získání gefitinibu jako léčiva podobného erlotinibu, při kterém nastalo výrazné zlepšení stavu pacienta. Byť jsme jim v tomto snažení nedávali velké naděje ani pro získání léčiva, které nebylo v Evropské unii dostupné, ani pro jeho efekt, a naopak jsme je varovali před možnou toxicitou léku užívaného pacientem s těžkou hepatopatií, podařilo se jim získat jedno balení gefitinibu v Rusku. V průběhu aplikace gefitinibu došlo k poklesu některých jaterních enzymů, nicméně

bez vlivu na zhoršující se stav pacienta. Na druhou stranu nebyla pozorována žádná toxicita léku, a to přesto, že byl podáván při těžké hepatopatii (GMT 54,3 mkat/l).

### Závěr

Naše kazuistika potvrzuje jisté výlučné postavení bronchioloalveolárního karcinomu ve skupině nemalobuněčných plicních karcinomů, a to v případě patogeneze, diagnostiky i léčby. Tento případ rovněž dokládá, že je-li cílená léčba podána správnému pacientovi, lze očekávat její efekt. Naše rozhodnutí, byť bylo správné, vycházelo pouze z empirických dat. Správného pacienta, tj. pacienta s tumorem primárně senzitivním k cílené terapii, však mohou identifikovat pouze molekulárněgenetické metody. Ty mohou navíc určit i příčinu selhání cílené léčby a případně pomoci k výběru léčby následně. Úspěšným příkladem takového použití může být cílená léčba chronické myeloidní leukemie (CML), kolorektálního karcinomu nebo gastrointestinálního stromálního tumoru (GIST). Zajištění dostupnosti molekulárněgenetických vyšetřovacích metod musí být proto v zájmu jak lékařů, tak zdravotních pojišťoven.

### Literatura

- Gandara DR, West H, Chansky K et al. Bronchioloalveolar carcinoma: a model for investigating the biology of epidermal growth factor receptor inhibition. *Clin Cancer Res* 2004; 10(12 Pt 2): 4205s–4209s.
- Yano S, Kanematsu T, Miki T et al. A report of two bronchioloalveolar carcinoma cases which were rapidly improved by treatment with the epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor ZD1839 („Iressa“). *Cancer Sci* 2003; 94(5): 453–458.
- Fong T, Morgensztern D, Govindan R. *EGFR* inhibitors as first-line therapy in advanced non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol* 2008; 3(3): 303–310.

- Kijima T, Suzuki M, Ueda K et al. Short-term gefitinib treatment brought about a long-term regression of bronchioloalveolar carcinoma without *EGFR* gene alterations: a case report. *Oncol Res* 2007; 16(10): 489–495.
- Miller VA, Riely GJ, Zakowski MF et al. Molecular characteristics of bronchioloalveolar carcinoma and adenocarcinoma, bronchioloalveolar carcinoma subtype, predict response to erlotinib. *J Clin Oncol* 2008; 26(9): 1472–1478.
- Marchetti A, Martella C, Felicioni L et al. *EGFR* mutations in non-small-cell lung cancer: analysis of a large series of cases and development of a rapid and sensitive method for diagnostic screening with potential implications on pharmacologic treatment. *J Clin Oncol* 2005; 23(4): 857–865.
- Shigematsu H, Lin L, Takahashi T et al. Clinical and biological features associated with epidermal growth factor receptor gene mutations in lung cancers. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97(5): 339–346.
- Travis WD. World Health Organization, International Agency for Research on Cancer, International Association for the Study of Lung Cancer, International Academy of Pathology. *Pathology and Genetics of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart*. Lyon, Oxford: IARC Press, Oxford University Press 2004.
- Henrikson RC, Kaye GI, Mazurkiewicz JE. Respiratory system. In: *NMS Histology*. 1st ed. Baltimore: Williams and Wilkins 1997: 311–321.
- Gazdar AF. Activating and resistance mutations of *EGFR* in non-small-cell lung cancer: role in clinical response to *EGFR* tyrosine kinase inhibitors. *Oncogene* 2009; 28 (Suppl 1): S24–S31.
- Mok T, Wu YL, Thongprasert S et al. Phase III, randomized, open-label, first-line study of gefitinib vs carboplatin/paclitaxel in clinically selected patients with advanced non-small-cell lung cancer – IPASS. *Ann Oncol* 2009; 20 (Suppl 8): viii3.
- Rolen KA, Fulton JP, Tamura DJ et al. Bronchioloalveolar carcinoma (BAC) of the lung is related to cigarette smoking: A case-control study from Rhode Island (RI). *Proc Am Soc Clin Oncol* 2003; 22: 674.
- Ebright MI, Zakowski MF, Martin J et al. Clinical pattern and pathologic stage but not histologic features predict outcome for bronchioloalveolar carcinoma. *Ann Thorac Surg* 2002; 74(5): 1640–1646.
- Edge SB, Byrd DR, Compton CC. *AJCC Cancer Staging Manual*. 7th ed. New York: Springer-Verlag 2010.
- Nakajima T, Terashima T, Nishida J et al. Treatment of bronchorrhoea by corticosteroids in a case of bronchioloalveolar carcinoma producing CA19-9. *Intern Med* 2002; 41(3): 225–228.
- Kancha RK, von Bubnoff N, Peschel C et al. Functional analysis of epidermal growth factor receptor (*EGFR*) mutations and potential implications for *EGFR* targeted therapy. *Clin Cancer Res* 2009; 15(2): 460–467.
- Kobayashi S, Boggon TJ, Dayaram T et al. *EGFR* mutation and resistance of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med* 2005; 352(8): 786–792.



# Bile Duct Malignancies

## Malignity žlučových cest

Tuček Š.<sup>1,2</sup>, Tomášek J.<sup>1,2</sup>, Halámková J.<sup>1</sup>, Kiss I.<sup>1,2</sup>, Andrašina T.<sup>3</sup>, Hemmelová B.<sup>4</sup>, Adámková-Krákorová D.<sup>2</sup>, Vyzula R.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Department of Clinical Oncology, Faculty Hospital Brno

<sup>2</sup> Masaryk Memorial Cancer Institute, Brno

<sup>3</sup> Department of Radiology, Faculty Hospital Brno

<sup>4</sup> Department of Surgery, Faculty Hospital Brno

### Summary

Bile duct malignancies include intrahepatic cholangiocarcinoma (ICC), extrahepatic cholangiocarcinoma (ECC), gall bladder carcinoma (GC) and carcinoma of Vater's ampulla (ampulloma). Bile duct neoplasms are rare tumours with overall poor prognosis. The overall incidence affects up to 12.5 per 100,000 persons in the Czech Republic. The mortality rate has risen recently to 9.5 per 100,000 persons. The incidence and mortality have been remarkably stable over the past 3 decades. The survival rate of patients with these tumours is poor, usually not exceeding 12 months. The diagnostic process is complex, uneasy and usually late. Most cases are diagnosed when unresectable, and palliative treatment is the main approach of medical care for these tumours. The treatment remains very challenging. New approaches have not brought much improvement in this field. Standards of palliative care are lacking and quality of life assessments are surprisingly not common. From the scarce data it seems, however, that multimodal individually tailored treatment can prolong patients' survival and improve the health-related quality of life. The care in specialized centres offers methods of surgery, interventional radiology, clinical oncology and high quality supportive care. These methods are discussed in the article in greater detail. Improvements in this field can be sought in new diagnostic methods and new procedures in surgery and interventional radiology. Understanding the tumour biology on the molecular level could shift the strategy to a more successful one, resulting in more cured patients. Further improvements in palliative care can be sought by defining new targets and new drug development. The lack of patients with bile duct neoplasms has been the limiting factor for any improvements. A new design of larger randomized international multicentric clinical trials with prompt data sharing could help to overcome this major problem. Defining standards of palliative care is a necessity. Addressing health-related quality of life could help to assess the real benefit of palliative treatment.

### Key words

bile duct neoplasms – cholangiocarcinoma – gallbladder cancer – palliative treatment

Tato práce byla podpořena výzkumným záměrem Ministerstva zdravotnictví ČR: FUNDIN MZOMOU2005.

This work was supported by the Czech Ministry of Health under contract No. FUNDIN – MZOMOU2005.

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

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

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

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



**MUDr. Štěpán Tuček**  
Masaryk Memorial Cancer Institute  
Žlutý Kopec 7  
656 53 Brno  
e-mail: tucek@mou.cz

Obdrženo/Submitted: 4. 1. 2010

Přijato/Accepted: 28. 1. 2010

## Souhrn

Malignity žlučových cest zahrnují intra- a extrahepatální cholangiokarcinomy, karcinom žlučníku a karcinom Vaterské papily. Jsou to vzácné nádory s celkově špatnou prognózou. Incidence dosahuje 12,5/100 tis. obyvatel a mortalita 9,5/100 tis. obyvatel, obojí byly v posledních 30 letech pozoruhodně stabilní. Celkové přežití pacientů s těmito nádory je žalostné, většinou do 12 měsíců. Diagnostika má různá úskalí a velmi často přichází pozdě. Většina případů je při diagnóze neoperabilních, proto je zde hlavní modalitou paliativní léčba. Ta je však stále problematická, nové postupy mnoho nepřinesly. Chybí standardy paliativní péče a hodnocení kvality života je překvapivě velmi málo časté. I z nečetných dat se zdá být zřejmý pozitivní efekt multimodální individualizované léčby na přežití a kvalitu života pacientů. Ve specializovaných centrech zahrnují léčebné možnosti metody chirurgické, intervenční radiologii, klinickou onkologii a metody kvalitní podpůrné péče. Tyto metody jsou rozebírány v článku podrobněji. Zlepšení lze očekávat od nových diagnostických metod a nových postupů v chirurgii a intervenční radiologii. Také lepší poznání biologie nádorů na molekulární úrovni snad přinese více vyléčených pacientů. V paliativní léčbě lze zlepšení očekávat v nalezení nových cílových struktur a vývoji nových léčiv. Malé počty pacientů jsou limitující pro jakýkoli pokrok v tomto odvětví. Lze doufat, že nový volnější design mezinárodních randomizovaných multicentrických studií s pružným sdílením dat tento hlavní problém překlene. Nezbytným dalším krokem je definice standardů paliativní péče a hodnocení kvality života přinese pohled na skutečný přínos paliativní léčby pro pacienty.

## Klíčová slova

nádory žlučových cest – cholangiokarcinom – nádory žlučníku – paliativní terapie

## Introduction

Malignant tumours of biliary tree form a small group of malignancies with overall poor prognosis. The assessment and treatment is associated with some special aspects. There are several specific features in behaviour, diagnostic process and treatment of these tumours that make them different from others.

## Epidemiology and pathogenesis

### History and epidemiology

Bile duct cancer (cholangiocarcinoma), first described by Maximilian de Stoll in 1777, was presented in modern history by Altemeier in 1957. It is a group of relatively rare tumours, presenting in older patients, mainly at the age of 65+. Maximum incidence appears in the eight decade of life [1].

Incidence of GC is approximately the same, presenting mainly in seventh decade of life, more common in women. It has shown certain racial, ethnical and geographical predispositions (high incidence in Chile, North-East Europe, Israel, in Native Americans and Americans with Mexican origin, in some parts of Asia – e.g. Thailand or Japan) [2].

In 2006 (most recent published data), in the Czech Republic there were 325 men and 646 women reported as new cases with malignant tumours of biliary tract. That is 9.5 per 100 000 persons. The number of patients with ICC is uncertain, estimated approximately 300 new cases. That is approximately 3 new cases per 100 000 persons. They form 6.7 % of all reported malignancies in the Czech Republic. Incidence of biliary tree malignancies in the Czech Republic has been remarkably stable over past three decades [3] (Pict. 1).

The real incidence is probably much higher with a large number of tumours remaining undiscovered, as some pathological studies have shown [4].

To demonstrate a different level of importance in different regions – in above mentioned north-east Thailand, incidence is highest in the world- as high as 96 per 100 thousand inhabitants. That is higher than any solid tumour (apart from non-melanoma skin malignancies) in western countries.

There were 722 reported deaths due to cancer of gallbladder (GC) and extrahepatic cholangiocarcinoma (ECC) in the Czech Republic in 2006 (8 per 100,000 and 2.9% of all reported deaths due to malignancies).

Worldwide there has been reported a marked increase in mortality from ICC in last decade (estimated average annual percentage change approximately +7% in men, +5% in women). Mortality from extrahepatic biliary tree malignancies is decreasing (average annual minus 0.3% in men, minus 1.3% in women) in most countries [5].

Worldwide there has been reported a marked increase in mortality from ICC in last decade (estimated average annual percentage change approximately +7% in men, +5% in women). Mortality from extrahepatic biliary tree malignancies is decreasing (average annual minus 0.3% in men, minus 1.3% in women) in most countries [5].

### Pathogenesis

Several general mechanisms of cholangiocarcinoma development have been identified. They include chronic inflammation processes, reactive oxygen species occurrence, changes in defensive cell detoxicating mechanisms and dysregulation of processes running cell proliferation at the gene level (tumour suppressor genes and apoptosis genes malfunction or oncogenes activation) [6].

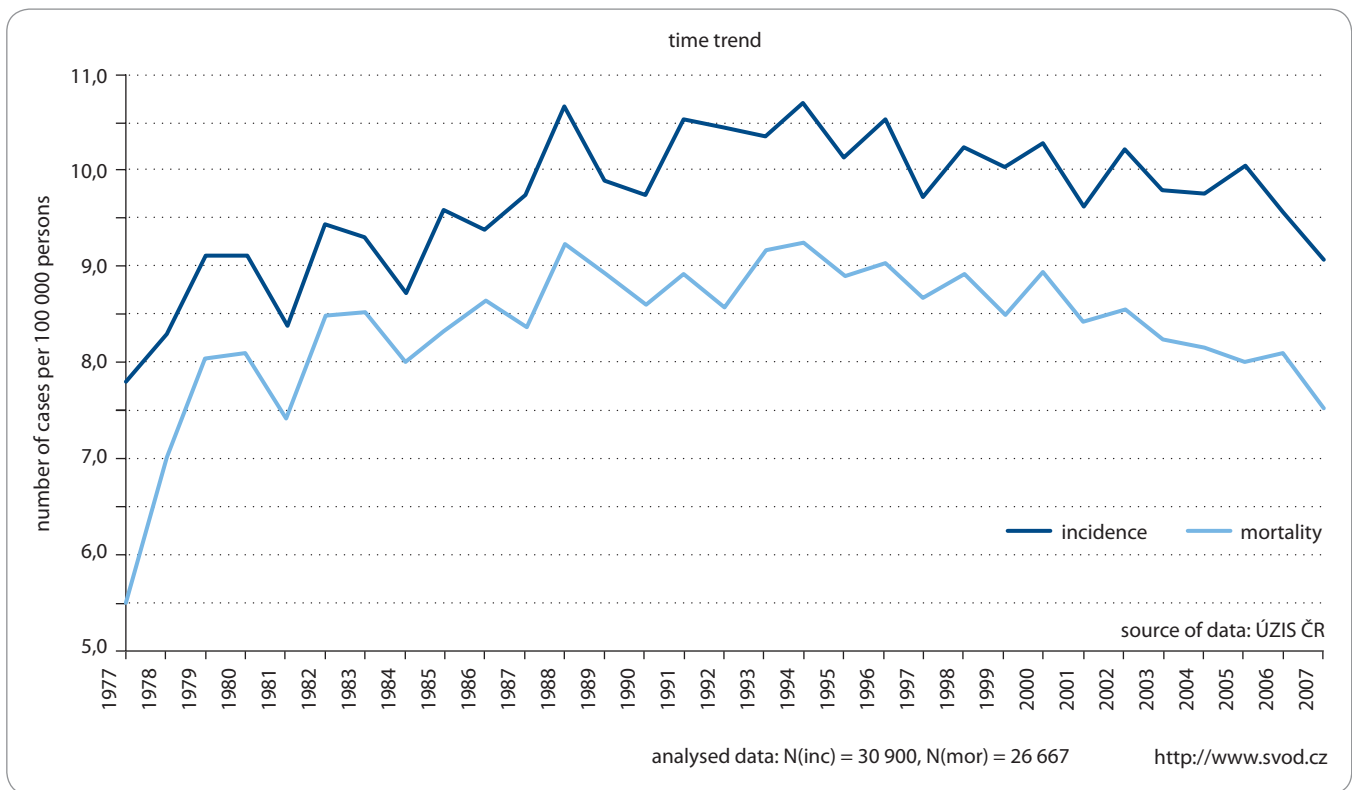
Cholangiocarcinomas express interleukin IL-6 receptor. In vitro IL-6 stimulates tumour growth [7]. They also express Fas ligand inducing lymphocyte apoptosis [8]. Cholangiocarcinomas evade immune response activated by inflammation, by the means of the inhibitor of Fas mediated apoptosis (Fas-associated death domain-like IL-1 $\beta$ -converting enzyme inhibitor – I-FLICE) [9].

Especially interleukin-6/STAT-3 signalling pathways have been identified and studied, offering a potential to new diagnostic and prognostic markers and targets for cholangiocarcinoma therapy [10].

Specifically, there have been identified several factors – primary sclerosing cholangitis as the most frequent connecting tissue disease in western world [22], choledochal cysts, chronic bile duct inflammation either of bacterial or parasitic origin (e.g. *Fasciola hepatica*, *Clonorchis sinensis*, *Opisthorchis viverrini* [11] prevailing in East Asia) and further hepatic infections. More risk factors would be cancerogens as radioactive radon, thorium [12], nitrosamines, dioxines and azbestos.

Recently, chronic viral hepatitis C has been identified as a possible risk factor for development of intrahepatic cholangiocarcinoma in Japan [13]. It may be one of possible factors causing increase in intrahepatic cholangiocarcinoma (ICC) in western countries.

Chronic inflammation is a risk factor of GC development, as well. There have been several connecting infections identified: *Salmonella typhi* [14], *Esche-*



**Pict. 1. Incidence and mortality of malignant neoplasms of gallbladder and extrahepatic bile ducts.**

*richia coli* and *Helicobacter* species [15]. In *S. typhi* carriers there is a risk of gallbladder cancer development 167times greater than in controls. Incidence of GC depends, up to certain amount, on cholelithiasis – mainly cholesterol type, however causality remains unclear. An increased risk has been proven when using methylodopa [16], oral contraceptives [17], isoniazid [18] and rubber industry chemicals exposure [19].

Some studies suggest that it be rather inflammatory process than cancerogens themselves that triggers a cancer development cascade [20].

Recently, molecular markers suggest that GC, intrahepatic cholangiocarcinoma (ICC) and extrahepatic cholangiocarcinoma (ECC) differ in more qualities than it was thought before. These markers are under investigation. It seems wise, though, for future clinical trials, to discriminate these entities and consider them separately.

#### Pathology and staging

Bile duct malignancies arise from epithelium anywhere in the bile duct and

can be divided in gallbladder carcinoma, intrahepatic (ICC) and extrahepatic cholangiocarcinomas (ECC) and the carcinoma of Vater's ampulla (ampulloma). The carcinoma of Vater's ampulla may be considered as a separate entity by some authors or included thank to similar diagnosing and treatment [21].

Intrahepatic localization appears in approximately 10% tumours. Extrahepatic occurrence is more frequent, can be distinguished into two types – proximal (hilar) and distal. Extrahepatic hilar cholangiocarcinoma of proximal choledochus or bifurcation may be referred to as Klatskin tumour, named after Nicolas Klatskin who first described it in 1965. Multifocal or diffuse pattern is also possible, presents in less than 10%.

Staging may be very difficult and in many cases impossible at all. This is due to very common stealthy tumour spread along bile ducts and vessels that may not be noticeable on imaging techniques. This statement is strongly supported by official statistics.

Cholangiocarcinomas tend to invade organs in proximity and lymph node

metastases can be present in 1/3 of cases. Besides lymphatic spread, haematogenic spread and occurrence of implant metastases, tumours quite often tend to spread via nerves, perineural or subepithelial spaces. This spread may be not distinguishable by imaging and understaging or cases of uncertain stage are quite common.

In the Czech Republic, in more than 52% of reported cancers of GC and ECC was clinical stage recorded as uncertain [22].

Macroscopic presentation may be divided in three types. Most common are sclerosing cholangiocarcinomas. These are firm tumours, often thickening bile ducts in circular pattern. Nodular cholangiocarcinomas are firm as well, often prominent into bile duct lumen. Papillary cholangiocarcinomas (approx. 10% of cholangiocarcinomas) are soft and frail tumours, more frequently found in distal localizations. They are often less invasive, thus offering somewhat better prognosis. It is possible to find more types combined, especially first two types (nodular-sclerosing tumours).

Even though there have been over 10 various histological subtypes described in literature, vast majority (over 98%) of tumours are adenocarcinomas [23], often well differentiated and mucin producing. Other histological types are rare (e.g. carcinoid tumours).

GC are in majority also adenocarcinomas histologically, less common are papillary, rarely squamocellular or anaplastic carcinomas. They tend to infiltrate (scirrhous tumour) gallbladder wall, later gallbladder bed in hepatic hilus. Spread into nearby organs is possible, as well. Metastases usually spread into regional hilar lymph nodes.

### Clinical presentation and diagnostics

#### Clinical presentation

Unfortunately most of the clinical signs of bile duct malignancies appear relatively late. Obstructive icterus is present in more than 90% of patients. Other clinical signs are less specific: abdominal pain or discomfort, loss of weight, fever, pruritus present in about 1/3 of the patients [24]. Information about intermittent icterus may suggest obstruction in distal part of choledochus. Usually clinical signs are no different from other tumour signs from this area (e.g. pancreatic malignancies) or may be not specific for malignancy at all. That makes early diagnosis even less possible.

#### Imaging

Basic imaging methods for hepatobiliary tumours are ultrasonography, computed tomography (CT) and magnetic resonance imaging (MRI). Further methods include endosonography, cholangiography (endoscopic or percutaneous), positron emission tomography (PET), cholescintigraphy and angiography. Each method presents its advantages and limitations [25].

**Transabdominal ultrasonography** (US) is a method relatively compromised by subjective error of the performing radiographer. Its sensitivity is between 25 a 50%, maybe increasing with new hardware and better resolution. This method is relatively cheap and non-invasive. Especially duplex ultrasonography may be able to determine size of the tumour, vascular invasion and resectabi-

lity, lobar atrophy, bile duct obstruction extent, and can achieve no worse sensitivity and specificity as CT angiography [26,27]. Quite promising are methods with organ specific contrast (e.g. SonoVue), however may not be in wide routine use yet [28].

**Computed tomography** (CT) is a method with sensitivity approximately 70%. Its main limitation is ionizing radiation growing with level or generation of CT machine. Standard is two- or three-phase contrast investigation. Besides imaging liver in the late portion of the arterial phase and venous phase (approx. 35 and 70 seconds after intravenous contrast bolus), it can be useful to record pancreatic phase (approximate 45-second delay). For patients with suspected cholangiocarcinoma, delayed images during the equilibrium phase (10–15 minutes delay) are helpful due to late washout of the contrast material from desmoplastic tumours [29]. 3D reconstructions are possible, giving to a clinician a better understanding and possibly making staging little easier [25].

**Magnetic resonance imaging** (MRI) offers again several options. There are some non specific and organ-specific contrasts in use, dynamic imaging, MR cholangiography (MRC), or 3D-reconstruction. Main advantage is non-invasivity, absence of radiation, better soft tissue contrast. Disadvantage is higher cost, lower availability, longer imaging time. In many cases it substitutes for endoscopic or percutaneous cholangiography, describing better obturated bile ducts, vascular patence in hepatic hilus and presence of lymph node or distant metastases [30].

In **cholangiography** (percutaneous or endoscopic) has sensitivity been described between 80 and 90%, specificity though 62% only [31]. The main limitation is the invasiveness of this method. Necessary manipulation with bile ducts always means artificial infection induction and high morbidity and perioperative mortality [32]. On the other hand, its accuracy and reliability to assess the borders of cholangiocarcinoma are better than with MRI [33].

**Positron emission tomography** (PET) determines tumours about 1cm in size.

That is for high fluorodeoxyglucose (FDG) utilization in tumour cells [34]. Its higher cost has been limiting, nevertheless, there has been a remarkable increase in use in staging over past couple of years. Its main use remains in preoperative staging and exclusion of distant metastases. The sensitivity of fluorodeoxyglucose positron emission tomography is limited in small, infiltrative, and mucinous cholangiocarcinomas [35]. In bile duct malignancies, there have been better results with high sensitivity with PET/CT. Better sensitivity has been recorded in ICC than in distal tumours. Distant metastases are better detected than regional lymph node metastases [36,37].

**Cholescintigraphy** using 99mTc-labeled imino-diacetic acid analogue (e.g. HIDA) enables to visualize hepatocyte uptake, transport, and excretion pathways of bilirubin. It is not dependent on secondary signs such as ductal dilatation [38]. Function quantification of gallbladder ejection fractions and biliary transit times are used to assess safety and extent of possible liver surgery or regional methods especially embolization.

Upper GI tract **endoscopy** may be useful in ampullomas, as a tumour can be visible in duodenum and biopsy easily obtainable.

In other bile duct malignancies, **endoscopic ultrasound** may be a helpful guide for fine needle biopsy of a tumour or enlarged lymph node sampling before surgery.

**Intraductal ultrasound** is less common, increasing sensitivity and specificity of ERCP.

**Optical coherence tomography** (OCT) is a new method producing cross-sectional images using infrared light. Preliminary studies have demonstrated the ability of OCT to generate high resolution images of the biliary tree that seem to correlate with histological findings [39,40].

#### Tissue sampling

Obtaining tumour tissue sample can be difficult or may be impossible at all. There are clinical situations where therapy has to be commenced before clear histopathological reading obtained. Sample obtaining can be performed endoscopically (ERCP, choledochoscopy), or via

percutaneous catheterization/drainage (PTC-PTD), or through CT-guided biopsy or surgery (laparoscopy or laparotomy).

Endoscopic brushing or cytology is not sensitive enough. Negative result is of no significance. A negative percutaneous biopsy may be technically difficult due to small size of tumours. However, it is usually possible in larger or inoperable tumours.

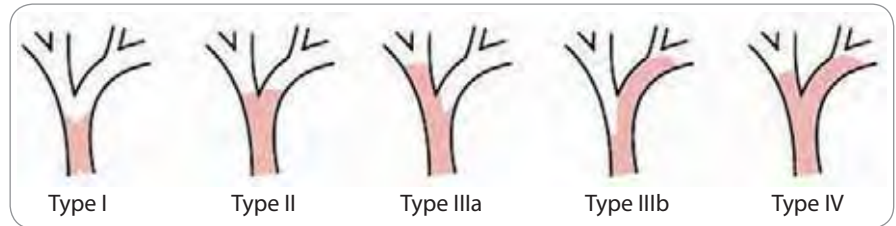
#### Laboratory findings

In blood count we usually find light anaemia – the chronic diseases type.

Coagulation is affected by impaired liver synthesis and biliary obstruction, when malabsorption of K-vitamin from intestine influences K-dependent coagulation factors, resulting in prolonged INR.

Liver function test may be elevated due to liver metastases (transaminases). An elevation of markers of biliary epithelial injury, such as alkaline phosphatase (ALP) and gamma-glutamyl transferase (GTT or GMT) is very common, especially in biliary obstruction, even clinically inapparent.

**Serum tumour markers** linked to bile duct carcinomas are carcino-embryogenic antigen (CEA) and carbohydrate antigen CA 19-9 [12]. The latter has for values above 100 U/mL a sensitivity of 75% and specificity of 80% [41].



Pict. 2. Bismuth-Corlette classification of hilar cholangiocarcinoma.

Tab. 1. MSKCC staging system (from Ustundag and Bayraktar) [99].

Stage	Criteria
T1	Tumour involving biliary confluence ± unilateral extension to second-order biliary radicals
T2	T1 ± ipsilateral portal vein involvement ± ipsilateral hepatic lobar atrophy
T3	Tumour involving biliary confluence + bilateral extension to second-order biliary radicals; or unilateral extension to second-order biliary radicals with contralateral portal vein involvement; or unilateral extension to second-order radicals with contralateral hepatic lobar atrophy; or main or bilateral portal vein involvement

In some studies, CA 19-9, in fact its values above 100 U/mL were defined as poor prognosis indicator [42]. In another study higher values correlated with better chemosensitivity [43].

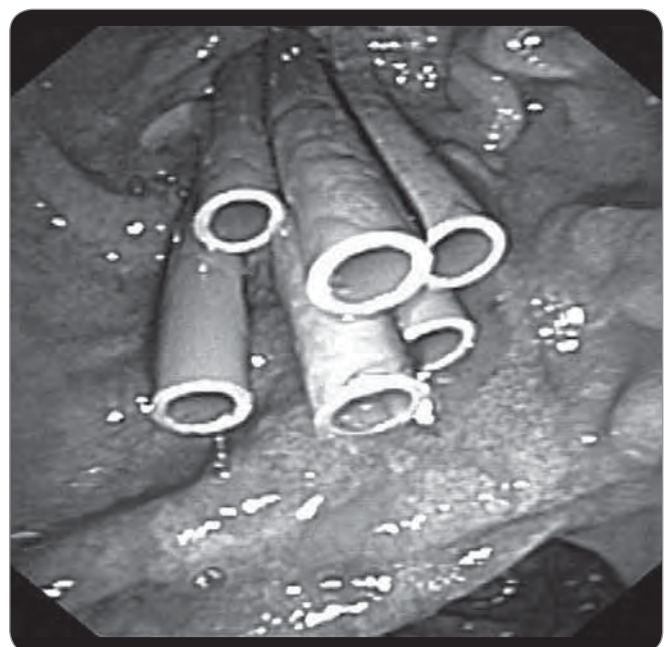
Obstructive icterus is quite often associated with false CA19-9 elevation even in benign conditions [44].

The role of the tumour marker CA 19-9 in differentiating benign from malignant masses in chronic pancreatitis has

been assessed in a study with 84 patients who had mass lesions in chronic pancreatitis. The overall sensitivity and specificity of CA 19-9 for cancer was 68% and 70%, respectively. There was a higher positivity of CA 19-9 in cancers than in benign masses (23/34; 68% versus 15/50; 30%,  $P < 0.01$ ) with cut-off values of 37 U/mL. Values over 300 U/mL were 100% specific for malignancy, but occurred in only 5 (of whom had distant metastases) of 34 patients [45].



Pict. 3. ERCP picture with proximal obstruction (stop of contrast), quidewire passing through. Winding cystic duct.



Pict. 4. Multiple plastic stents (endoscopy).

The real clinical utility of CA 19-9 remains controversial.

### Staging and prognosis

#### Staging

Preoperative staging is not accurate. It can be problematic perioperatively, as well. Cryobiopsy of resection borders may be needed. Unfortunately, very frequent perioperative finding is an unresectable tumour. It has been described in up to 30% patients previously classified as resectable on imaging.

Most patients (50–90%) patients are diagnosed with advanced/metastatic disease [46].

There are several staging systems in use. TNM system (see International Union against Cancer staging manual) deals with primary tumour extent (T), presence and extent of tumorous lymphadenopathy (N) and distant metastases (M).

Bismuth classification (modified Bismuth-Corlette system) dealing with hilar cholangiocarcinomas (Klatskin tumours) divides these according to bile duct involvement (Pict. 2). It is preferred by many surgeons as clinically more relevant. Neither of these systems is useful in survival prediction.

An ideal staging and classification system would consider resectability, it would predict the extent of necessary surgery (liver resection), and it would correlate with survival after resection. One such system has been designed in Memorial Sloan-Kettering Cancer Center (MSKCC) and it is based on primary tumour classification (T stage) (Tab. 1) [51].

There are four basic radiological signs for unresectable tumours. One is the extent of the tumour in the bile duct tree, in fact second level bile duct involvement on either side. The second is the vascular invasion, actually main portal vein involvement or occlusion before bifurcation. The third sign is the hepatic-lobar atrophy with contralateral portal vein involvement or hepatic-lobar atrophy with contralateral second-level bile duct involvement. The fourth sign is the presence of distant metastases (liver, lungs, peritoneum etc.) [22].

#### Prognosis

When untreated, carcinomas of biliary tree lead to swift death with median

survival below 6 months. Survival more than 12 months is according to literature quite rare [24,47,48,64].

Death is usually caused by liver failure or biliary sepsis [49–51].

Only patients with incidental findings of localized stage of GC (T1N0M0) survive 5 years in nearly 100%.

An American review of 2500 patients showed 5 year survival of GC 60%, 39%, 15%, 5% and 1% for stages 0–IV respectively [52]. Another analysis showed median overall survival 10.3 months for all stages and 12 and 5.8 months for stage IA–III and IV, respectively [53].

Another study has shown survival rate for patients with unresectable GC as low as 2 to 4 months [54]. Patients with this cancer on palliative chemotherapy survive 7–12 months in median [55–58].

In literature, median survival rate for the patients after resection of intrahepatic and hilar cholangiocarcinoma ranges between 15 and 37 months. After resection for distal cholangiocarcinoma, median survival ranges between 20 and 33 months.

For unresectable cholangiocarcinoma on palliative chemotherapy, median survival ranges between 2 and 14 months [59–61].

Five-year survival rate of patients with ampulloma has been recorded around 40% in some studies. Depending on the stage of disease it varies from 5-year survival of 90% after resection of early stages carcinomas [62] to a survival less than 2 years in disseminated disease.

#### Prognostic factors and markers

Prognostic factors are the completeness of resection, lymph node involvement [63] and tumour differentiation. These influence the long-term survival essentially. Especially lymph node status is considered an independent and substantial prognostic factor for long term survival after resection [64]. When affected, the risk of relapse and tumour related death is nearly 7times higher.

Molecular genetic prognostic markers are being developed with increasing understanding of molecular level of cancerogenesis. In cholangiocarcinomas, several markers have been identified: oncogene K-ras mutation, p16, PCNA pro-

liferation marker enhanced expression, tumour cells aneuploidy, increased vascular endothelial growth factor (VEGF) expression and angiogenesis, further oncoproteins overexpression (RCAS115, S100A4) [65]. L1 cell adhesion molecule has been identified as a poor prognostic factor, associated with perineural invasion [66].

Some markers may be helpful in differential diagnosis. Cholangiocarcinomas express p53, bcl-2, bax, and COX-2. Intrahepatic tumours were significantly more frequently bcl-2+ and p16+, whereas extrahepatic tumours were more often p53+ [67].

The serum levels of interleukin 6, tryptase, mucin-5AC, soluble fragment of cytokeratin 19 and the platelet-lymphocyte ratio have also been recently shown to help in the diagnosis of cholangiocarcinoma as well as certain prognostic value. Insulin-like growth factor 1 has shown a capability of discriminating cholangiocarcinoma from benign biliary disorders and pancreatic cancer [68].

There have been also attempts to define a set of genes to produce a signature useful predictor of survival (similar to already existing pattern in breast cancer). This set contains molecular biomarkers including mdm2, p27, matrix metalloproteinases and vitamin D receptor [69]. These markers are still experimental and none of them is being used routinely.

#### Treatment

Treatment can be curative (with intent to cure, aiming for long term survival) or palliative (aiming to prolong survival and/or improve life quality and postpone disease symptoms).

The only standard curative option is the complete surgical resection.

Unfortunately, most patients (nearly 90% according to some authors) are not candidates for curative treatment. It is usually for unresectable advanced/metastatic tumour. Some patients are not capable of radical surgery due to their performance status. In these and other cases that sadly form the majority of clinical situations, palliative care is the option.

### Treatment of resectable tumours

#### Surgery

##### Cholangiocarcinomas

The only effective and potentially curative treatment option for distal cholangiocarcinomas is a complete resection with lymphadenectomy [70]. For a complete removal of distal cholangiocarcinomas, usually pancreato-duodenectomy is necessary. Compared to pancreatic cancer these tumours are somewhat more accessible to resection, less often with lymphatic dissemination and relatively less common is the microscopic resection border positivity.

For a complete removal of tumours lying proximally from the junction of cystic duct and main choledochus, liver resection is usually necessary. This situation occurs in about 40–60% including Klat-skin tumours. Before hemihepatectomy, portal vein branch embolization on corresponding side is to be considered. The aim would be to induce an atrophy of to-be-resected liver lobe and compensatory hypertrophy of the lobe that is left.

The success of resection of distal cholangiocarcinoma is similar to duodenal cancer, somewhat better than pancreatic cancer, less favourable than neuroendocrine pancreatic tumours or ampullomas (Vater's ampulla carcinomas). Five year overall survival is usually between 20 and 40% (Nagorney et al 50%, Fong et al 27%, Wade et al 14%) [22]. Resection of distal cholangiocarcinomas is not more successful than a resection of hilar cholangiocarcinoma. When the stage and completeness of resection is considered, results are comparable. Main difficulty of hilar cholangiocarcinomas is their perineural spread, possible liver infiltration or invasion of important hilar vessels. Resection radicality is always questionable and relapses are common.

The benefit of ICC resection is similar to extrahepatic lesions. One retrospective study recorded total 5-year survival after resection 33%, for stages I, II, IIIA a IIIC median 5-year survivals 57, 33, 26 and 14 months respectively. More than half of the patients relapsed, out of these 89% once more in liver [39].

**Liver transplantation** has not been recommended [71] for long time but

for early stages of cholangiocarcinoma in the terrain of primary sclerosing cholangitis [41]. In this indication, autoimmune inflammation recurs in 20% patients and relapses of cholangiocarcinoma have been described in transplanted liver where no signs of cholangiocarcinoma were observed before operation [72]. Improvement in technique, neoadjuvant treatment and staging have achieved results superior to standard surgical therapy, with 72% 5-year survival for patients with unresectable disease [73].

##### Gallbladder carcinoma

For GC, the only potential cure is a complete surgical resection, as well. The extent of surgery is given by the stage of the disease. In rare cases of incidental histological finding of carcinoma in tissue after cholecystectomy, it is recommended to consider re-resection of gallbladder bed. Liver resection is a necessity in cases of R1 gallbladder tumour resection.

The reason for this radicality is quite simple. There is no efficient treatment alternative for unresectable or recurrent GC.

##### Combination therapy

With development of new methods and multimodal approach, combination therapy has been used in radical management of bile duct carcinomas.

Methods of physical tumour destruction (cryoablation, laser or radiofrequency ablation) accompany surgery possibly in localities with poor technical accessibility.

Embolization may help visualize otherwise low-contrast tumours.

These methods, more often used in palliative setting, will be mentioned in further sections.

##### Adjuvant and neoadjuvant therapy

Standard regimen for adjuvant therapy after bile duct malignancies resection has not yet been defined. Usually fluoropyrimidine based chemo-radiation or chemotherapy with fluoropyrimidine or gemcitabine is recommended [70]. At present, no randomized phase III clinical trial results are available.

Neoadjuvant treatment is not a standard at present. However, there have been publications presented, showing significant increase in number of complete R0 resections after neoadjuvant chemotherapy. Even long term remissions have followed [74].

##### Treatment of unresectable tumours

A majority of patients with bile duct malignancies are diagnosed with unresectable tumours.

Palliative treatment aims for prolonged survival and improvement of quality of life of patients. Although it has evolved tremendously over past two decades, its results remain quite unsatisfactory. Even though palliative treatment is more common, standards are missing.

Palliative treatment is multimodal, involving surgeons, oncologists, radiologists, gastroenterologists, anaesthetists/pain managers, psychologists and others. There is no strict standard at the moment, as the effect of available treatment is questionable. Participation in clinical trials is encouraged and best supportive care remains one of legitimate options for treatment of unresectable bile duct tumours [70].

##### Biliary obstruction management

Biliary obstruction is a leading syndrome in bile duct malignancies. It may cause symptoms leading to diagnosis of a malignant tumour at the beginning or appear at any stage of patients' disease. Vast majority of patients experience biliary obstruction and connected problems at some point.

Progressing biliary obstruction leads to maldigestion, icterus, pruritus, abdominal discomfort or pain, cholangitis and sepsis, liver failure and death.

Therefore, biliary obstruction should be resolved whenever possible, even in palliative setting.

Cholangitis is a very common and potentially lethal complication of biliary obstruction. It appears at any stage of the disease.

Methods of biliary drainage include surgery, endoscopy, or percutaneous methods. An optimal approach is determined by accessibility of different methods, patient clinical status and life expectancy.



**Pict. 5. Metallic stent in choledochus. Contrast picturing bile ducts from periphery to duodenum. Coils in gastroduodenal artery (a patient treated with regional intraarterial chemotherapy).**

Surgery is most invasive and as such should be used in selected patients with good performance status or in cases of exploratory operation finding unresectable tumour. In such setting, it can provide excellent long term biliary drainage. Usually choledocho-jejunal anastomosis is designed.

Endoscopic approach is more common, least invasive and relatively most widely accessible, enabling biliary drainage in distal bile duct obstruction. Endoscopic retrograde choledocho-pancreatography (ERCP) (Pict. 3) equipment is used for sondage, drainage and possibly placing plastic prostheses (Pict. 4) or metallic stents.

Main disadvantage of this method is a high risk of artificially induced cholangitis in obstructed segments not relieved by drainage.

Metallic stent is preferred in most indications. It has shown longer patency and lower risk of cholangitis [75].

New developing endoscopic methods include photodynamic therapy (more below) or use of high intensity intraductal ultrasound [76].

Radiological **percutaneous transhepatal catheterization and drainage** (PTC and PTD) uses fine Chiba needle insertion into liver under local anaesthetics. The aim is to visualize, using a contrast, a bile duct and gradual Seldinger sondage of larger bile ducts, eventually bypassing tumour obstruction and placing a plastic drain providing drainage. Such a drain provides outer access for washout, inner perforation before obstruction and tip perforation for bile outlet in duodenum. Hence it may be called outer-inner-inner drainage.

Sometimes it is technically impossible to bypass tumour obstruction in one session. In such a situation, outer drainage is assembled, releasing pressure in bile ducts. In a following session several days later, it may be easier to bypass the obstruction and provide more physiological outer-inner-inner drainage.

Percutaneous approach also enables placing of self-expanding metallic biliary stents. (Pict. 5) Stents are more comfortable for patients, leaving no drain on the outside of abdominal wall and no maintenance flushes needed. Their patency is also relatively better than the patency of percutaneous drains.

Stenting is not appropriate in terminal patients, may not be appropriate in patients where further frequent adjustment of drainage is expected (e.g. progressing tumour) or in patients with cholangitis. However, there are situations where stenting provides better drainage results than percutaneous drains. It is due to usually larger lumen in stent compared to limited apertures in plastic drain tube.

In rare occasions, percutaneous stenting may be used preoperatively, enabling icterus resolution and surgery. In such settings, stent may be even helpful in local orientation for the surgeon.

#### **Palliative surgery**

Besides palliative biliary drainage, surgery provides a useful option of digestive tract bypass evading tumour. It may be beneficial to patient's life quality. Most common operation type is a gastro-jejunal anastomosis assembling.

#### **Interventional radiology**

For tumours affecting liver parenchyma, other methods of interventional radiology may be considered. Being percutaneous, these methods are often quite elegant with low invasiveness and good tolerability. Liver nodules may be destroyed using application of chemicals (ethanol, acetic acid, hot saline solution), or by thermal methods (cryotherapy, laser destruction, microwaves, electric current, or radiofrequency ablation).

As mentioned above, these methods can be combined with other modalities – for example a resection of superficial liver metastasis can be accompanied by an ultrasound guided perioperative radiofrequency ablation of a deeper situated nodule.

#### **Embolization**

Using Seldinger method, it is possible to embolize tumours with sufficient vascularization. Selective catheterization of an arterial tumour bed enables a direct application of embolization material. Combination of embolization with application of chemotherapy may be favourable (TACE). Ischemia is so combined with a prolonged cytostatic effect with maximal topical action and fewer systemic side effects. According to desired outcome, with respect to liver function, sessions can be repeated. Prolonged survival has been reported in some studies [77].

Recently, new delivery systems have been developed, using microspheres produced from a biocompatible polyvinyl alcohol (PVA) hydrogel, capable of binding and gradually eluting chemotherapeutic drugs, providing better accuracy and tolerability.

#### **Radiofrequency ablation**

Radiofrequency ablation (RFA) can be performed as percutaneous or as a part of operation. (Pict. 6) It's a physical method of thermal destruction. Tumorous nodes are destroyed by the temperature near to 100 Celsius degrees for approximately 20 minutes. With respect to the patient, the RFA session can be very demanding – painful, long and requires active cooperation of the patient. Usually,



presence of an anaesthetist is needed. Otherwise, this method is relatively safe, simple, and effective [78,79]. It is possible to destroy even by other modalities hardly accessible nodes up to 10 centimetres in diameter. It has been described even more than 10 nodes ablation in one patient [80]. RFA can also be combined with other methods and can be used repeatedly. As an example we can mention a RFA of liver nodule, followed by a chemoembolization taking advantage of reactive hyperaemia of ablated node.

We have experienced RFA as a new and potentially promising method of clearing an obstruction in a biliary stent. This application of RFA needs more investigation and safety data to be widely acceptable.

#### Chemotherapy

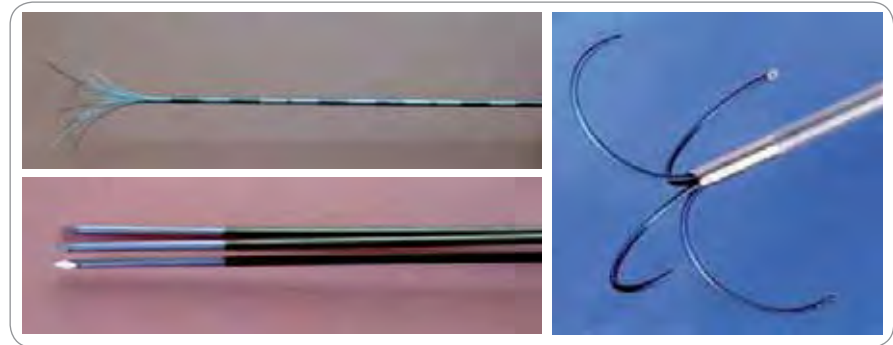
The effect of systemic chemotherapy in cholangiocarcinoma [81] and GC [82] is very limited. No complete remission following chemotherapy has been described [83].

For many past years, fluoropyrimidines have been used and many other agents tested, with response rate lower than 30%.

Gemcitabine seems to offer better response rate with favourable toxicity profile and has become a widely accepted standard. In several small studies involving 167 assessable patients, objective response rated up to 60% (36% in the largest trial composed of 39 evaluable patients), overall survival times ranging from 6.3 to 16 months. Grade 4 haematological toxicity was rare (< or = 5%) [84].

Recently, role of other agents is under investigation, however, data is still very limited. There are no phase III randomized controlled clinical trials defining standard treatment regimen.

Chemotherapy agents supported by phase II clinical trials are: single agent gemcitabine, capecitabine, 5-fluorouracil and combinations gemcitabine/cisplatin, gemcitabine/oxaliplatin, gemcitabine/capecitabine, capecitabine/cisplatin, capecitabine/oxaliplatin, 5-fluorouracil/oxaliplatin, 5-fluorouracil/cisplatin [85]. The combination of gemcitabine/cisplatin has shown response rate of 53%, and median sur-



Pict. 6. Examples of RFA needle electrodes.

vival times > or = 11 months with only a slight increase in frequency and severity of side effects [84].

Other combinations have been studied with epirubicine, etoposide, leucovorin, doxorubicin, mitomycin-C; out of newer agents irinotecan and paclitaxel.

In clinical practice, it seems to be likely that a certain group of patients benefits from palliative chemotherapy more than others. This group hasn't been defined yet, nor the ideal regimen. Many predictors and markers are under investigation, possibly aiming for a gene signature predicting response to certain treatment. So far, only empiric approach is possible, aiming for a well tolerated, inexpensive and effective treatment.

For the application of regional chemotherapy it is necessary to secure an access into the hepatic artery. Chemotherapy may be administered via a Seldinger technique-inserted catheter or via an arterial port-catheter. The latter option is more convenient for repeated applications. A perioperative insertion seems to be more secure and durable. From cytotoxic agents, usage of fluoropyrimidines (5-FU or UFT), cisplatin, doxorubicin and mitomycin-C are common [86]. Most of these agents have been in use for decades [87]. The rationale of this method is to increase local chemotherapy concentration with smaller side effects. Response rate using this method has been reported around 40% [88]. There are also regimens combining regional and systemic application.

#### Radiotherapy

Carcinomas of biliary tree are relatively resistant to radiotherapy. Adjuvant or

neoadjuvant use of radiotherapy has brought no improvement [89,90]. However, solid data is still missing.

Only combination radio-chemotherapy with fluoropyrimidines has been proven beneficial and belongs to treatment algorithm for patients with locally advanced unresectable ECC. Chemo-radiation can provide local control and even prolong survival [91,92]. However, for ICC, evidence supporting benefit of chemo-radiation is very limited.

Despite lack of valid randomized data, external beam radiotherapy or intraluminal brachytherapy are often used and seem to be useful for local control of patency of biliary stents, some show even benefit for survival [93–96].

#### Photodynamic therapy

A very promising method uses intravenous application of photosensitizing agents followed by intraluminal photo-activation [97]. Necrosis of tumour cells occurs in 4–6mm in depth. Improvements have been reported in quality of life, longer biliary drainage, and overall survival [98]. Main disadvantages are the risk of artificial infection of bile and photosensitivity. Photodynamic therapy was not available in the Czech Republic in year 2009.

#### Targeted therapy

Molecular therapies (e.g. epidermal growth factor receptor, ErbB-2, and vascular endothelial growth factor receptor antagonists) and immunotherapy using antibodies are under investigation [10]. Especially interleukin IL-6 signalling pathway including its receptor gp130 and IL-6 specific subunit gp80, activated downstream cascade JAK/STAT, PI3K/Akt

and MAPK, protein bcl-2 and other targets seems to offer more targets for specific inhibitors.

Some of the studies with these agents are reviewed in literature [85].

### Supportive care

Supportive care is a mainstay in treatment of patients with bile duct malignancies. For some patients, it may be the only possibility – due to poor performance status, their wish or poor availability of other treatment methods. For all patients, however, it presents main backup for quality of life management. Health related quality of life has not yet been assessed properly in this field. Supportive care includes pain management, nutrition, treatment of cholangitis, psychological support etc.

The care is to be individualized to each patient, palliating all his/her needs if possible. In some regions, functional institutional or home-hospice care is available. In other localities, a specialist advice is to be sought.

There are more special methods (e.g. invasive pain management, special nutrition management or biliary drainage options) that may be tied to super-specialized centres. In need for such interventions, a specialist's consultation should be sought.

### Conclusion

Biliary tract carcinomas are rare cancers with poor prognosis. Development in diagnostic methods and surgery hasn't changed this fact much over past decades.

The mainstay of medical care for patients with biliary tract carcinomas is the palliative treatment. The best up-to-date choice seems to be the multimodal individually tailored treatment including methods of surgery, clinical oncology, interventional radiology and other methods. These methods can prolong survival and improve quality of life to patients. This care can be found in specialized centres.

Much more needs to be done to bring more hope to this field. Improvements can be brought by new methods of diagnostic workup, surgery and interventional radiology. Understanding the

tumour biology on molecular level could shift the strategy to a more successful one, resulting in more cured patients. Further improvement in the palliative care can be sought in defining new targets and new drug development.

The paucity of patients with bile duct neoplasms has been limiting to any improvement. A new design of larger randomized international multicentric clinical trials with prompt data sharing could help to overcome this major problem.

Defining standards of palliative care is a necessity. Addressing health-related quality of life could help to assess the real benefit of palliative treatment.

While waiting for the improvement with new radical methods and drugs, standards of palliative care should be defined and maintained.

### Literature

1. Carriaga MT, Henson DE. Liver, gallbladder, extrahepatic bile ducts, and pancreas. *Cancer* 1995; 75 (Suppl 1): 171–190.
2. Jarnagin W. Cholangiocarcinoma of the extrahepatic bile ducts. *Semin Surg Oncol* 2000; 19(2): 156–176.
3. Cancer Incidence in the Czech Republic 2006 [pdf file]. Available from: [www.uzis.cz](http://www.uzis.cz).
4. Wotke J, Foukal T. Korelace klinické biotické diagnózy karcinomu žlučníku. *Klin Onkol* 1994; 7(4): 117–119.
5. Patel T. Worldwide trends in mortality from biliary tract malignancies. *BMC Cancer* 2002; 2: 10.
6. Holzinger F, Zgraggen K, Buchler MW. Mechanisms of biliary carcinogenesis: A pathogenetic multi-stage cascade towards cholangiocarcinoma. *Ann Oncol* 1999; 10 (Suppl 4): 122–126.
7. Park J, Tadlock L, Gores GJ et al. Inhibition of interleukin 6-mediated mitogen-activated protein kinase activation attenuates growth of a cholangiocarcinoma cell line. *Hepatology* 1999; 30: 1128–1133.
8. Que FG, Phan VA, Phan VH et al. Cholangiocarcinomas express Fas ligand and disable the Fas receptor. *Hepatology* 1999; 30: 1398–1404.
9. Yee K, Sheppard BC, Domreis J et al. Cancers of the gallbladder and biliary ducts. *Oncology (Williston Park)* 2002; 16(7): 939–946, 949.
10. Sandhu DS, Roberts LR. Diagnosis and management of cholangiocarcinoma. *Curr Gastroenterol Rep* 2008; 10(1): 43–52.
11. Parkin DM, Ohshima H, Srivatanakul P et al. Cholangiocarcinoma: epidemiology, mechanisms of carcinogenesis and prevention. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1993; 2(6): 537–544.
12. 41. Klener P et al. *Klinická onkologie*. Praha: Galén 2002: 421–422.
13. Yamamoto S, Kubo S, Hai S et al. Hepatitis C virus infection as a likely etiology of intrahepatic cholangiocarcinoma. *Cancer Sci* 2004; 95(7): 592–595.
14. Dutta U, Garg PK, Kumar R. Typhoid carriers among patients with gallstones are at increased risk for carcinoma of the gallbladder. *Am J Gastroenterol* 2000; 95(3): 784–787.
15. de Bree E, Tsiftsis DD, Santos RM et al. Objective assessment of the contribution of each diagnostic test and of the ordering sequence in jaundice caused by pancreato-

biliary carcinoma. *Scand J Gastroenterol* 2000; 35(4): 438–445.

16. Broden G, Bengtsson L. Biliary carcinoma associated with methyl dopa therapy. *Acta Chir Scand* 1980; 500: 7.
17. Ellis EF, Gordon PR, Gottlieb LS. Oral contraceptives and cholangiocarcinoma. *Lancet* 1978; 1(8057): 207.
18. Lowenfels AB, Norman J. Isoniazid and bile duct cancer. *JAMA* 1978; 240(5): 434–435.
19. Mancuso TF, Brennan MJ. Epidemiological considerations of cancer of the gallbladder, bile ducts and salivary glands in the rubber industry. *J Occup Med* 1970; 12(9): 333–341.
20. Kowalewski K, Todd EF. Carcinoma of the gallbladder induced in hamsters by insertion of cholesterol pellets and feeding dimethylnitrosamine. *Proc Soc Exp Biol Med* 1971; 136(2): 482–486.
21. Harder J, Blum HE. Cholangiocarcinoma. *Schweiz Rundsch Med Prax* 2002; 91(34): 1352–1356.
22. Epidemiology of malignant tumours in the Czech Republic [website]. [Cited Sept 15, 2009]. Available from: [www.svod.cz](http://www.svod.cz).
23. Fleming J, Cooper J, Henson D et al (eds). *Gallbladder and extrahepatic bile ducts*. AJCC Cancer Staging Handbook. Philadelphia: Lippincott-Raven 1998; 97–106.
24. Nakeeb A, Pitt HA, Sohn TA et al. Cholangiocarcinoma: a spectrum of intrahepatic perihilar, and distal tumours. *Ann Surg* 1996; 224(4): 463–473.
25. Válek V, Kala Z, Kiss I. Úskalí v diagnostice a léčbě onemocnění HPB. *Zobrazovací vyšetření – senzitivita a specifita*. Edukační sborník XXVIII. Brněnské onkologické dny. Brno 2004: 162–166.
26. Hann LE, Greatrex KV, Bach AM et al. Cholangiocarcinoma at the hepatic hilus: sonographic findings. *Am J Roentgenol* 1997; 168(4): 985–989.
27. Bach AM, Hann LE, Brown KT et al. Portal vein evaluation with US: comparison to angiography combined with CT arterial protography. *Radiology* 1996; 201(1): 149–154.
28. Bohatá Š. Přínos kontrastního ultrazvukového vyšetření v diferenciální diagnostice ložiskových procesů jater. *Doktorandská dizertační práce*. Brno: LF MU 2009.
29. Loyer EM, Chin H, DuBrow RA et al. Hepatocellular carcinoma and intrahepatic peripheral cholangiocarcinoma: enhancement patterns with quadruple phase helical CT – a comparative study. *Radiology* 1999; 212(3): 866–875.
30. Lopera JE, Soto JA, Múnera F. Malignant Hilar and Perihilar Biliary Obstruction: Use of MR cholangiography to define the extent of biliary ductal involvement and plan percutaneous interventions. *Radiology* 2001; 220: 90–96.
31. Campbell WL, Ferris JV, Holbert BL et al. Biliary tract carcinoma complicating primary sclerosing cholangitis: Evaluation with CT, cholangiography, US, and MR imaging. *Radiology* 1998; 207(1): 41–50.
32. Hochwald SN, Burke EC, Jarnagin WR et al. Association of preoperative biliary stenting with increased postoperative infectious complications in proximal cholangiocarcinoma. *Arch Surg* 1998; 134(3): 261–266.
33. Otto G, Romaneehsen B, Hoppe-Lotichius M et al. Hilar cholangiocarcinoma: resectability and radicality after routine diagnostic imaging. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2004; 11(5): 310–318.
34. Torok N, Gores GJ. Cholangiocarcinoma. *Semin Gastrointest Dis* 2001; 12(2): 125–132.
35. Van Beers BE. Diagnosis of cholangiocarcinoma. *Oxford: HBP* 2008; 10(2): 87–93.
36. Petrowsky H, Wildbrett P, Husarik DB et al. Impact of integrated positron emission tomography and computed tomography on staging and management of gallbladder cancer and cholangiocarcinoma. *J Hepatol* 2006; 45(1): 43–50. *Epub* 2006 Apr 19.
37. Kluge R, Schmidt F, Caca K et al. Positron emission tomography with [(18)F]fluoro-2-deoxy-D-glucose for diagnosis and staging of bile duct cancer. *Hepatology* 2001; 33(5): 1029–1035.

38. Carr TG, Kazarian KK, Smego DR et al. Radionuclide cholecystigraphy in patients with suspected biliary tract obstruction. *Am Surg* 1991; 57(10): 673–675.
39. Poneros JM, Tearney GJ, Shiskov M et al. Optical coherence tomography of the biliary tree during ERCP. *Gastrointest Endosc* 2002; 55(1): 84–88.
40. Singh P, Chak A, Willis JE et al. In vivo optical coherence tomography imaging of the pancreatic and biliary ductal system. *Gastrointest Endosc* 2005; 62(6): 970–974.
41. Gores GJ. Early detection and treatment of cholangiocarcinoma. *Liver Transpl* 2000; 6(6 Suppl 2): 30–34.
42. Huang JL, Biehler TR, Lee FT et al. Outcomes after resection of cholangiocellular carcinoma. *Am J Surg* 2004; 187(5): 612–617.
43. Shimada M, Takenaka K, Kawahara N et al. Chemosensitivity in primary liver cancers: evaluation of the correlation between chemosensitivity and clinicopathological factors. *Hepatogastroenterology* 1996; 43(11): 1159–1164.
44. Marrelli D, Caruso S, Pedrazzani C et al. CA19-9 serum levels in obstructive jaundice: clinical value in benign and malignant conditions. *Am J Surg* 2009; 198(3): 333–339. Epub 2009 Apr 17.
45. Bedi MM, Gandhi MD, Jacob G et al. CA 19-9 to differentiate benign and malignant masses in chronic pancreatitis: is there any benefit? *Indian J Gastroenterol* 2009; 28(1): 24–27. Epub 2009 Jun 6.
46. Aljiffry M, Walsh MJ, Molinari M. Advances in diagnosis, treatment and palliation of cholangiocarcinoma: 1990–2009. *World J Gastroenterol* 2009; 15(34): 4240–4262.
47. Tompkins RK, Thomas D, Wile A et al. Prognostic factors in bile duct carcinoma. Analysis of 96 cases. *Ann Surg* 1981; 194(4): 447–457.
48. Wade TP, Prasad CN, Virgo KS et al. Experience with distal bile duct cancers in U.S. Veterans Affairs hospitals: 1987–1991. *J Surg Oncol* 1997; 64(3): 242–245.
49. Okuda K, Kubo Y, Okazaki N et al. Clinical aspects of intrahepatic bile duct carcinoma including hilar carcinoma. A study of 57 autopsy-proven cases. *Cancer* 1977; 39(1): 232–246.
50. Sako S, Seitzinger GL, Garside E. Carcinoma of the extrahepatic bile ducts. Review of the literature and report of six cases. *Surgery* 1957; 41(37): 416–437.
51. Burke EC, Jarnagin WR, Hochwald SN et al. Hilar cholangiocarcinoma: patterns of spread, the importance of hepatic resection for curative operation, and a presurgical clinical staging system. *Ann Surg* 1998; 228(3): 385–394.
52. Donohue JH, Stewart AK, Menck HR. The national Cancer Data Base report on carcinoma of the gallbladder, 1989–1995. *Cancer* 1998; 83(12): 2618–2628.
53. Duffy A, Capanu M, Abou-Alfa GK et al. Gallbladder cancer (GBC): 10-year experience at Memorial Sloan-Kettering Cancer Centre (MSKCC). *J Surg Oncol* 2008; 98(7): 485–489.
54. DeVita VT Jr, Hellman S, Rosenberg SA (eds). *Cancer, Principles & Practice of Oncology*. 7th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins Publishers 2004; CD-ROM Chapter 29: Sec 5.
55. Jemal A, Tiwari RC, Murray T et al. American Cancer Society. *Cancer statistics, 2004*. *CA Cancer J Clin* 2004; 54(1): 8–29.
56. Fong Y, Kemeny N, Lawrence TS. Cancer of the Liver and Biliary Tree. In: DeVita VT Jr, Hellman S, Rosenberg SA (eds). *Cancer, Principles & Practice of Oncology*. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins Publishers 2001: 1162–1203.
57. De Aretxabala X, Roa I, Araya JC et al. Gallbladder cancer in Chile. A report on 54 potentially resectable tumors. *Cancer* 1992; 69(1): 60–65.
58. De Groen PC, Gores GJ, LaRusso NF et al. Biliary Tract Cancers. *N Engl J Med* 1999; 341(18): 1368–1378.
59. DeVita VT Jr, Hellman S, Rosenberg SA (eds). *Cancer, Principles & Practice of Oncology*. 7th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins Publishers 2005: 1021.
60. Choi CW, Choi IK, Seo JH et al. Effects of 5-fluorouracil and leucovorin in the treatment of pancreatic-biliary tract adenocarcinomas. *Am J Clin Oncol* 2000; 23(4): 425–428.
61. Chen H, Hardacre JM, Uzar A et al. Isolated liver metastases from neuroendocrine tumours: does resection prolong survival? *J Am Coll Surg* 1998; 187(1): 88–92.
62. Bucher P, Chassot G, Durmishi Y et al. Long-term results of surgical treatment of Vater's ampulla neoplasms. *Hepatogastroenterology* 2007; 54(76): 1239–1242.
63. Shirabe K, Shimada M, Harimoto N et al. Intrahepatic cholangiocarcinoma: its mode of spreading and therapeutic modalities. *Surgery* 2002; 131(1 Suppl): 159–164.
64. Fong Y, Blumgart LH, Lin E et al. Outcome of treatment for distal bile duct cancer. *Br J Surg* 1996; 83(12): 1712–1715.
65. Novotný J et al. C24 Zhubný novotvar jiných a neurčených částí žlučových cest [website]. [cited June 6, 2009]. Available from [www.koc.cz](http://www.koc.cz).
66. Li S, Jo YS, Lee JH et al. L1 cell adhesion molecule is a novel independent poor prognostic factor of extrahepatic cholangiocarcinoma. *Clin Cancer Res* 2009; 15(23): 7345–7351. Epub 2009 Nov 17.
67. Karamitopoulou E, Tornillo L, Zlobec I et al. Clinical significance of cell cycle – and apoptosis-related markers in biliary tract cancer: a tissue microarray-based approach revealing a distinctive immunophenotype for intrahepatic and extrahepatic cholangiocarcinomas. *Am J Clin Pathol* 2008; 130(5): 780–786.
68. Alvaro D. Serum and bile biomarkers for cholangiocarcinoma. *Curr Opin Gastroenterol* 2009; 25(3): 279–284.
69. Malouf G, Dreyer C, Guedj N et al. Prognosis factors of cholangiocarcinoma: contribution of recent molecular biology tools. *Bull Cancer* 2009; 96(4): 405–415.
70. NCCN Practice Guidelines in Oncology [website], Hepatobiliary Cancers. [cited January 5, 2010]. Available from [www.nccn.org](http://www.nccn.org).
71. Meyer CG, Penn I, James L. Liver transplantation for cholangiocarcinoma: Results in 207 patients. *Transplantation* 2000; 69(8): 1633–1637.
72. Heneghan MA, Tuttle-Newhall JE, Suhocki PV et al. De-novo cholangiocarcinoma in the setting of recurrent primary sclerosing cholangitis following liver transplant. *Am J Transplant* 2003; 3(5): 634–638.
73. Rea DJ, Rosen CB, Nagorney DM et al. Transplantation for cholangiocarcinoma: when and for whom? *Surg Oncol Clin N Am* 2009; 18(2): 325–337, ix.
74. McMasters KM, Tuttle TM, Leach SD et al. Neoadjuvant chemoradiation for extrahepatic cholangiocarcinoma. *Am J Surg* 1997; 174(6): 605–608.
75. Freeman ML, Sielaff TD. A modern approach to malignant hilar biliary obstruction. *Rev Gastroenterol Disord* 2003; 3(4): 187–201.
76. Prat F, Lafon C, De Lima DM et al. Endoscopic treatment of cholangiocarcinoma and carcinoma of the duodenal papilla by intraductal high-intensity US: Results of a pilot study. *Gastrointest Endosc* 2002; 56(6): 909–915.
77. Burger I, Hong K, Schulick R et al. Transcatheter arterial chemoembolization in unresectable cholangiocarcinoma: initial experience in a single institution. *J Vasc Interv Radiol* 2005; 16(3): 353–361.
78. Hidaka H, Kokubu S, Ono K. Radiofrequency ablation. *Gan To Kagaku Ryoho* 2001; 28(13): 1955–1961.
79. Bachar GN, Greif F, Mor E et al. Radiofrequency ablation for the management of liver tumours. *Isr Med Assoc J* 2003; 5(7): 496–500.
80. Siperstein A, Garland A, Engle K et al. Laparoscopic radiofrequency ablation of primary and metastatic liver tumours. Technical considerations. *Surg Endosc* 2000; 14(4): 400–405.
81. Martin R, Jarnagin W. Intrahepatic cholangiocarcinoma. Current management. *Minerva Chir* 2003; 58(4): 469–478.
82. Jarnagin WR, Ruo L, Little SA et al. Patterns of initial disease recurrence after resection of gallbladder carcinoma and hilar cholangiocarcinoma: implications for adjuvant therapeutic strategies. *Cancer* 2003; 98(8): 1689–1700.
83. Yalcin S. Diagnosis and management of cholangiocarcinomas: a comprehensive review. *Hepatogastroenterology* 2004; 51(55): 43–50.
84. Scheithauer W. Review of gemcitabine in biliary tract carcinoma.  *Semin Oncol* 2002; 29(6 Suppl 20): 40–45.
85. Hezel AF, Zhu AX. Systemic Therapy for Biliary Tract Cancers. *Oncologist* 2008; 13(4): 415–423.
86. Melichar B, Cerman J Jr, Dvorak J et al. Regional chemotherapy in biliary tract cancers – a single institution experience. *Hepatogastroenterology* 2002; 49(46): 900–906.
87. Andryšek O, Horák H, Linhart L et al. Naše výsledky kombinované systémové a intraarteriální chemoterapie jaterních metastáz kolorektálního karcinomu a karcinomu žlučových cest. *Klin Onkol* 1988; 1(4): 98–101.
88. Lersch C, Classen M. Palliative therapy of carcinomas of the biliary system. *Med Klin (Munich)* 1997; 92(7): 401–405.
89. Bosset JF, Mantion G, Gillet M et al. Primary carcinoma of the gallbladder. Adjuvant postoperative external irradiation. *Cancer* 1989; 64(9): 1843–1847.
90. de Aretxabala X, Roa I, Burgos L et al. Preoperative chemoradiotherapy in the treatment of gallbladder cancer. *Am Surg* 1999; 65(3): 241–246.
91. Macdonald OK, Crane CH. Palliative and postoperative radiotherapy in biliary tract cancer. *Surg Oncol Clin N Am* 2002; 11(4): 941–954.
92. Czito BG, Anscher MS, Willett CG. Radiation therapy in the treatment of cholangiocarcinoma. *Oncology (Williston Park)* 2006; 20(8): 873–884.
93. Saito H, Takada T, Miyazaki M et al. Japanese Association of Biliary Surgery; Japanese Society of Hepato-Biliary-Pancreatic Surgery; Japan Society of Clinical Oncology. Radiation therapy and photodynamic therapy for biliary tract and ampullary carcinomas. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2008; 15(1): 63–8. Epub 2008 Feb 16.
94. Zhai R, Qian X, Dai D et al. Malignant biliary obstruction: treatment with interventional radiology. *Chin Med J (Engl)* 2003; 116(6): 888–892.
95. Válek V, Kysela P, Kala Z et al. Brachytherapy and percutaneous stenting in the treatment of cholangiocarcinoma: a prospective randomised study. *Eur J Radiol* 2007; 62(2): 175–179. Epub 2007 Mar 6.
96. Guo ZJ, Li Q et al. Diagnosis and treatment of hepatic cholangiocarcinoma: report of 52 cases. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2003; 2(1): 62–65.
97. Ortner ME, Caca K, Berr F et al. Successful photodynamic therapy for nonresectable cholangiocarcinoma: a randomized prospective study. *Gastroenterology* 2003; 125(5): 1536–1538.
98. Berr F, Wiedmann M, Tannapfel A et al. Photodynamic therapy for advanced bile duct cancer: evidence for improved palliation and extended survival. *Hepatology* 2000; 31(2): 291–298.
99. Ustundag Y, Bayraktar Y. Cholangiocarcinoma: a compact review of the literature. *World J Gastroenterol* 2008; 14(42): 6458–6466.

# Bortezomib v léčbě mnohočetného myelomu u pacientů po alogenní transplantaci krvetvorných buněk

## Bortezomib in Multiple Myeloma Patients after Allogeneic Stem Cell Transplantation

Vokurka S.

Hematologicko-onkologické oddělení FN Plzeň

### Souhrn

Bortezomib představuje moderní biologickou a cílenou léčbu mnohočetného myelomu s velmi dobrými léčebnými výsledky. Úspěšně byl opakovaně využit také u předléčených pacientů s relapsem nebo progresí myelomu po alogenní transplantaci krvetvorných buněk. Svým imunomodulačním efektem, např. navozením selektivní apoptózy aloreaktivních T-lymfocytů a inhibicí nukleárního faktoru kappa B, má potenciál ovlivňovat reakci štěpu proti hostiteli, ale současně zachovává protinádorové imunitní mechanismy. V klinické praxi však zatím zůstává vliv bortezomibu na průběh reakce štěpu proti hostiteli nejednoznačný. Významnou komplikací je vedle trombocytopenie především neurotoxicita potencovaná nejspíše současným a dlouhodobým užíváním cyklosporinu. Bortezomib je účinný a poměrně uspokojivě tolerovatelný v potransplantační léčbě.

### Klíčová slova

mnohočetný myelom – bortezomib – alogenní transplantace – transplantace krvetvorných buněk

### Summary

Bortezomib represents a novel biological and targeted treatment modality with excellent treatment results in multiple myeloma patients. Bortezomib has also been successfully used several times in heavily pre-treated patients with myeloma relapse or progression after allogeneic stem cell transplantation. Its immunomodulatory effect, mediated, for instance, through the selective apoptosis of alloreactive T-lymphocytes and inhibition of the nuclear factor kappa B, brings the potential of graft versus host disease management, while the immunological anti-tumour effect remains preserved. Apart from thrombocytopenia, neurotoxicity most likely potentiated by concomitant and long-term use of cyclosporine is the major side effect of the treatment. The impact and modulation of graft versus host disease remains controversial in clinical practice. Bortezomib is effective and feasible in the post-transplant setting.

### Key words

multiple myeloma – bortezomib – allogeneic transplantation – hematopoietic stem cell transplantation

Autor deklaruje, že v souvislosti s předmětem studie nemá žádné komerční zájmy.

The author declare he has no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

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

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



**MUDr. Samuel Vokurka, Ph.D.**  
Hematologicko-onkologické oddělení  
Fakultní nemocnice Plzeň  
Alej Svobody 80  
304 60 Plzeň  
e-mail: vokurka@fnplzen.cz

Obdrženo/Submitted: 21. 10. 2009

Přijato/Accepted: 20. 2. 2010

## Úvod

Bortezomib, lék ze skupiny inhibitorů proteasomu, představuje moderní prostředek cílené a biologické léčby mnohočetného myelomu. Blokování funkce proteasomu ovlivňuje degradaci proteinů a proteinový metabolismus buňky, čímž dochází k významnému narušení řízení buněčného cyklu a apoptózy. Bortezomib současně inhibuje transkripční nukleární faktor kappa B (NF-kappaB), který je významným mediátorem prozánětlivých a imunomodulačních signálních drah podílejících se mimo jiné také na patogenezi reakce štěpu proti hostiteli (graft versus host disease – GVHD). Na myším modelu bylo možné s pomocí bortezomibu inhibovat akutní GVHD při současném zachování protinádorového (graft-versus-tumor) efektu [1,2].

Bortezomib má schopnost selektivně indukovat apoptózu aktivovaných aloreaktivních T-lymfocytů při současném zachování T-lymfocytů klidových. Současně při působení na aktivované CD4+ T-lymfocyty nepřekonává rezistenci přirozených CD4+CD25+ regulačních T-lymfocytů (T-reg), které silně potlačují aktivaci stimulovaných T-lymfocytů in vitro a potlačují imunitní procesy v rámci autoimunitních onemocnění a také GVHD. Bortezomib tak nese i možnost využití při odstraňování aloreaktivních T-lymfocytů in vitro při zachování efektorových buněk s jinými specifitami [3,4].

Bylo rovněž prokázáno, že bortezomib potlačuje v závislosti na čase a dávce expresi HLA antigenů I. třídy na povrchu nádorových myelomových buněk, a tím podporuje jejich lýzu zprostředkovanou autologními i alogenními **aktivovanými** NK (natural killer) buňkami [5], nicméně u klidových NK buněk naopak navozuje apoptózu [6]. Bortezomib dále indukuje **zvýšenou expozici** proteinu HSP90 (heat shock protein 90) na povrchu **umírajících** myelomových buněk a **prostřednictvím dendritických buněk takto navozuje stimulaci protinádorové T-buněčné imunitní odpovědi** [7].

V klinickém užití lze bortezomib považovat za lék s velmi dobrými léčebnými výsledky, uspokojivou tolerancí, s možností optimalizace dávkování u pacientů

s nízkým status performance a profylaktickým účinkem proti trombembolické nemoci [14,15]. S ohledem na širokou antiproliferační a imunomodulační aktivitu byl efekt bortezomibu klinicky sledován také u pacientů s mnohočetným myelomem po alogenní transplantaci krvetvorných buněk (stem cell transplantation – SCT). Základní přehled dosavadních klinických zkušeností je uveden v tomto souhrnu.

## Soubory pacientů

Publikované soubory pacientů s mnohočetným myelomem, kteří byli po alogenní transplantaci dále léčeni bortezomibem nejčastěji z důvodu relapsu nebo progresu nemoci, nejsou příliš početné. Z významnějších prací je celkem 37 pacientů s mediánem věku 49 (27–64) let retrospektivně analyzováno v souboru francouzských autorů El-Cheikh et al [8]. Dále je pak 23 pacientů ve věku 53 (31–66) let uváděno v souboru italské skupiny GITMO [9] a 18 pacientů ve věku 49 (32–62) let u autorů Kröger et al [10]. V dalších publikovaných případech, Mateoz-Mazon et al [11] a Donk et al [13], jde o soubory s četností do 10 pacientů.

## Zahájení léčby po transplantaci

Ve francouzském nejpočetnějším souboru El-Cheikh et al [8] byla léčba bortezomibem zahájena s mediánem 20 (1–65) měsíců po alogenní SCT s většinou nemyoablativní přípravou, přičemž celkem 32/37 (86%) pacientů bylo v době zahájení léčby ve stavu progresu myelomu a zbytek s přetrvávající reziduální nemocí. U 38% byly již před bortezomibem aplikovány bez efektu infuze dárčových lymfocytů (DLI), u 54% thalomid rovněž bez efektu a většina pacientů (70%) neměla aktivní GVHD. V souboru GITMO [9] byl bortezomib zahájen rovněž s mediánem 20 měsíců (rozsah 5–81) po alogenní SCT s konvenční i nemyoablativní přípravou, kdy opět naprostá většina pacientů 20/23 (87%) byla ve stavu progresu myelomu a po předchozím předlčení s DLI u 44% nebo s thalomidem u 65% pacientů a nikdo neměl aktivní GVHD. V případě malé skupiny autorů Mateoz-Mazon et al [11] byla léčba zahájena s mediánem

15 (3–33) měsíců po SCT s redukovanou intenzitou přípravy u osmi pacientů s relapsem myelomu (z toho extramedulárně pět pacientů) a po předlčení s DLI nebo thalomidem u 63%. Naopak Kröger et al [10] zahájil i bortezomib poměrně časně jako tzv. „up-front therapy“ s mediánem osm měsíců po SCT s redukovanou intenzitou přípravy (fludarabin, melfalan), kdy žádný pacient ještě neměl patrnou progresi nebo relaps malignity.

## Schéma aplikace bortezomibu

Bortezomib byl dávkován 1,3 mg/m<sup>2</sup> nebo 1 mg/m<sup>2</sup> v bolusové aplikaci nitrožilně v den 1, 4, 8 a 11 v intervalu à 21 dní [8,10] nebo à 28 dní [9], samostatně [9–11] nebo v kombinaci s dexametazonem v jednotlivé dávce 20 mg nebo 40 mg [8,9] den po podání bortezomibu [9] nebo v osmi dávkách do dne 12 [8]. Dávkování a redukce či ukončení léčby odráželo aktuální klinickou situaci pacienta, respektive toxicitu léčby. Celkový počet aplikovaných cyklů léčby se pohyboval s mediánem 2 (1–4) [10], 4 (1–8) [9], 6 (3–12) [11] a 6 (1–15) [8].

## Léčebné odpovědi a jejich trvání

Celkem 73% (27/37) pacientů francouzských autorů El-Cheikh et al [8] dosáhlo léčebné odpovědi (PR 35%, velmi dobrá PR 19%, CR 19%) s pravděpodobností celkového přežití (OS) 2 roky téměř 50% v celé skupině a 76% u pacientů s dosaženou léčebnou odpovědí. Na léčebných výsledcích nebyl zjištěn vliv kombinace s dexametazonem, předchozí léčby s thalomidem nebo DLI. Ve skupině GITMO pacientů [9] bylo dosaženo 61% odpovědi a 22% kompletních remisí s mediánem doby přežívání bez progresu a relapsu (PFS) od zahájení léčby s bortezomibem šest měsíců a rovněž nebyl patrný vliv kombinace s dexametazonem na výsledky léčby. V dalších malých souborech bylo dosaženo 62% odpovědi a 2/8 CR trvajících 8 a 12 měsíců [11] a 100% odpovědi u sedmi pacientů bez předchozího efektu po DLI [13]. Rovněž ve skupině časně léčby s bortezomibem u Krögera et al [10] bylo u celkem deseti pacientů s měřitelnou nemocí dále dosaženo léčebné odpovědi ve

smyslu 30 % CR, 50 % PR a 20 % minimální responze.

### Toxicita léčby

Zásadní komplikací léčby byla ve všech případech neurotoxicita. Mírnější formy postižení byly přítomny u 13/37 (35 %) pacientů francouzské skupiny [8], těžší případy st. 3–4 se objevovaly v jiných případech v incidenci 12–25 % [9–11]. V cílené analýze neurotoxicity GITMO autorů [12] byla celková incidence neuropatie u 24 pacientů 58 % a st. 3–4 pak 29 %, přičemž signifikantním faktorem vyšší toxicity (st. 3–4) byla dlouhodobá léčba cyklosporinem s mediánem trvání 15 (6–37) měsíců a nevýznamně častěji pak také vyšší dávka bortezomibu. Signifikantně vyšší toxicitu ( $p = 0,06$ ) při konkomitantním užívání cyklosporinu prokázali i Kröger et al [10]. Dále byla opakovaně popisována těžká trombocytopenie v rozsahu 26–50 % [9–12], neutropenie 13–17 % [9,10], únava 19 % [8], GIT toxicita 6–50 % [10,11] a vyrážka 9 % [9].

### Vliv bortezomibu na GVHD

Při zahájení léčby bortezomibem u francouzské skupiny El-Cheikh et al [8] mělo 22 % pacientů limitovanou a 8 % extenzivní formu chronické GVHD. Během léčby nebylo nutné navyšovat nebo nově zavádět imunosupresivní léčbu, ale u dvou pacientů byla zaznamenána vyšší a u tří naopak nižší aktivita reakce. Kröger et al [10] popisovali nástup mírné aktivity GVHD kůže u tří (16 %) pacientů a GITMO skupina [9] mírné jaterní reakce u jednoho z 23 pacientů bez vstupní GVHD. Naopak Mateoz-Mazon et al [11] udávají u čtyř pacientů s aktivní GVHD včetně tří očních postižení (keratopatie, keratitida) dosažení významné regrese komplikace právě vlivem bortezomibu.

### Závěr

I přes malé soubory pacientů lze považovat publikované zkušenosti s využitím bortezomibu u pacientů s mnohočetným myelomem po alogenní transplantaci krvetvorných buněk za přínosné. Bortezomib byl úspěšně využíván především jako záchranná léčba po selhání pokusů s aplikací DLI nebo thalidomidu. Prakticky ve všech sledovaných skupinách pacientů bylo dosaženo nadpolovičních léčebných odpovědí včetně kompletních remisí, a to i přes zastoupení významně předléčených pacientů s opakovaným relapsem nebo progresí nemoci. Bylo dosaženo i dlouhodobých léčebných odpovědí. Doplnění dexametazonu do kombinace nejspíše nemělo vliv na efekt [8,9]. Vyšší riziko toxicity, respektive neurotoxicity, bylo spojováno s použitím léku časněji po transplantaci, obzvláště při kombinaci nebo dlouhodobé předchozí léčbě s cyklosporinem a při vyšší aplikované dávce bortezomibu [8,10,12]. V některých případech musela být léčba pro toxicitu redukována a ukončena. V otázce imunomodulačního efektu bortezomibu a vztahu vůči GVHD jsou klinická data spíše rozporuplná a vyžadují další sledování. Výzvou do budoucnosti se u vybraných pacientů jeví navrzení a sledování protokolů léčby kombinující alogenní transplantace krvetvorných buněk, jejichž role v léčbě mnohočetného myelomu je velmi diskutabilní, a terapie s bortezomibem.

### Literatura

1. Drobyski W, Vodanovic-Jankovic S, Hari P et al. Targeting NF- $\kappa$ B for the Prevention of Graft Versus Host Disease. *Blood* 2005; 106: 3109–3109.
2. Sun K, Welniak L, Panoskalsis-Mortari A et al. Inhibition of acute graft-versus-host disease with retention of graft-versus-tumor effects by the proteasome inhibitor bortezomib. *PNAS* 2004; 101(21): 8120–8125.

3. Blanco B, Pérez-Simón J, Sánchez-Abarca L et al. Bortezomib induces selective depletion of alloreactive T lymphocytes and decreases the production of Th1 cytokines. *Blood* 2006; 107(9): 3575–3583.
4. Blanco B, Perez-Simon J, Sanchez-Abarca L et al. Treatment with bortezomib of human CD4+ T cells preserves natural regulatory T cells and allows the emergence of a distinct suppressor T-cell population. *Haematologica* 2009; 94(7): 975–983.
5. Shi J, Trikot G, Garg T et al. Bortezomib down-regulates the cell-surface expression of HLA class I and enhances natural killer cell-mediated lysis of myeloma. *Blood* 2008; 111(3): 1309–1317.
6. Wang X, Ottosson A, Ji C et al. Proteasome inhibition induces apoptosis in primary human natural killer cells and suppresses NKp46-mediated cytotoxicity. *Haematologica* 2009; 94(4): 470–478.
7. Spisek R, Charalambous A, Mazumder A et al. Bortezomib enhances dendritic cell (DC)-mediated induction of immunity to human myeloma via exposure of cell surface heat shock protein 90 on dying tumor cells: therapeutic implications. *Blood* 2007; 109(11): 4839–4845.
8. El-Cheikh J, Michallet M, Nagler A et al. High response rate and improved graft-versus-host disease following bortezomib as salvage therapy after reduced intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation for multiple myeloma. *Haematologica* 2008; 93(3): 455–458.
9. Bruno B, Patriarca F, Sorasio R et al. Bortezomib with or without dexamethasone in relapsed multiple myeloma following allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Haematologica* 2006; 91(6): 837–839.
10. Kroger N, Zabelina T, Ayuk F et al. Bortezomib after dose-reduced allogeneic stem cell transplantation for multiple myeloma to enhance or maintain remission status. *Exp Hematol* 2006; 34(6): 770–775.
11. Mateos-Mazon J, Pérez-Simón JA, Polez O et al. Use of bortezomib in the management of chronic graft-versus-host disease among multiple myeloma patients relapsing after allogeneic transplantation. *Haematologica* 2007; 92(9): 1295–1296.
12. Giaccone L, Sorasio R, Patriarca F et al. Bortezomib after allografting in multiple myeloma: association between neurotoxicity and cyclosporine treatment. *Biol Blood Marrow Transplant* 2007; 13(4): 497–499.
13. van de Donk N, Kröger N, Hegenbart U et al. Remarkable activity of novel agents bortezomib and thalidomide in patients not responding to donor lymphocyte infusions following nonmyeloablative allogeneic stem cell transplantation in multiple myeloma. *Blood* 2006; 107: 3415–3416.
14. Špička I, Hájek R, Vytrasová M et al. Bortezomib (Velcade) in relapsed/refractory multiple myeloma – the first experience in the Czech Republic. *Cas Lek Cesk* 2005; 144: 638–640.
15. Hájek R, Zahradova L, Gregora E et al. The Reduced Intensity Cvd Regimen: A Good Option with Well Balanced Efficacy/Toxicity Ratio for Elderly Patients with Poor Status Performance. *Blood* 2008; 112: 1267.

# Pozdní následky Wilmsova tumoru a jeho léčby u pacientů léčených v letech 1980–2001 na jediném pracovišti

## Late Effect of Treatment of Nephroblastoma in Patients Treated in 1980–2001 in a Single Centre

Radvanský J.<sup>1</sup>, Slabý K.<sup>1</sup>, Radvanská J.<sup>2</sup>, Mališ J.<sup>2</sup>, Eckschalger T.<sup>2</sup>, Šulc J.<sup>1</sup>, Šafářová M.<sup>1</sup>, Kolský A.<sup>3</sup>, Procházka M.<sup>1</sup>, Gilík J.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Klinika rehabilitace a tělovýchovného lékařství 2. LF UK a FN Motol, Praha

<sup>2</sup>Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN Motol, Praha

<sup>3</sup>Klinika dětí a dorostu 3. LF UK, Praha

<sup>4</sup>Dětské kardiocentrum FN Motol, Praha

### Souhrn

**Východiska:** Cílem studie bylo popsat pozdní následky u pacientů v dlouhodobé remisi (> 5 let od ukončení léčby) nefroblastomu (NFB), diagnostikovaných a léčených na jediném pracovišti v letech 1980–2001. **Soubor pacientů a metody:** Celkem jsme vyšetřili 151 pacientů. Průměrný věk diagnózy  $3,7 \pm 2,7$  roku, medián 3,1, rozsah 0,01–17,2 roku. V souboru bylo 55 % žen. Věk v době vyšetření  $19,4 \pm 5,8$ , medián 19,6, rozsah 7,8–36 let. Antracykliny (ATC) dostávalo 25,9 % souboru. Radioterapii (RT) břicha absolvovalo 34,2 % souboru. **Výsledky:** Průměrná clearance kreatininu souboru byla  $1,56 \pm 0,56$  ml/s/1,73m<sup>2</sup> (medián 1,49 ml/s/1,73m<sup>2</sup>). Průměrná proteinurie  $0,18 \pm 0,30$  g/24 hod/m<sup>2</sup>, medián 0,13 mg/24 hod/m<sup>2</sup>. Tři pacienti měli proteinurii nad 1 g/24 hod při normální glomerulární filtraci a s-albuminu. Pro hypertenzi se léčí 8,6 % pacientů, 6,0 % farmakologicky. Vysokou prevalenci zvýšeného systolického (STK) i diastolického (DTK) tlaku jsme našli u adolescentů. DTK > 90 torr je u 10,2 %, STK > 135 torr u 8,3 %, všichni nad 15 let věku. Echografické vyšetření neodhalilo žádnou patologii, a to ani u pacientů léčených ATC. Celkový cholesterol, HDL, LDL nebo triacylglyceroly má mimo doporučený rozsah ve 2 a více parametrech 28,9 % souboru. Lipoprotein Lp(a) nad 500 mg.l<sup>-1</sup> (nad dvojnásobek horní meze normy) má 15,2 % pacientů. Patologicky nízkou zdatnost má 40 % souboru. Skoliózu (SK) mělo z anamnézy diagnostikováno 46 % souboru. Prevalence SK ubývá v podobné dynamice jako frekvence užití RT. Vyšetření plicních funkcí ukázalo mírné zvýšení reziduální kapacity (průměrné Z skóre 1,35). Nalezli jsme pozitivní korelaci mezi vrcholovou spotřebou kyslíku (peak VO<sub>2</sub>) a hodnotou inspirační kapacity ( $p < 0,05$ ). **Závěr:** Na základě zjištěných patologií a publikovaných rizik jsme stanovili schéma sledování pacientů v dlouhodobé remisi NFB, které má zahrnovat kromě klinického a ultrazvukového vyšetření také monitoraci renálních funkcí, krevního tlaku, lipidového profilu, dlouhodobou fyzioterapeutickou péči a režimovou, případně farmakologickou terapii rizikových faktorů kardiovaskulárních onemocnění.

### Klíčová slova

nefroblastom – pozdní následky – přeživší pacienti – děti – adolescenti – prevence – sekundární malignita

Práce vznikla za podpory grantu NR 8796-3 IGA MZČR.

This work was supported by the grant No. NR 8796-3 IGA of the Czech Ministry of Health.

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

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

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

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



doc. MUDr. Jiří Radvanský, CSc.

Klinika rehabilitace a tělovýchovného lékařství 2. LF UK a FN Motol  
V úvalu 84  
150 00 Praha 5  
e-mail: jiri.radvansky@lfmotol.cuni.cz

Obdrženo/Submitted: 14. 12. 2008

Přijato/Accepted: 9. 1. 2009

## Summary

**Backgrounds:** The aim of the study was to describe the late effects in a cohort of patients in long-term remission (> 5 years from end of treatment) diagnosed and treated for nephroblastoma at the single paediatric centre during 1980–2001. **Patients and Methods:** 151 patients were examined for renal function, lipid profile, sonography, echocardiography, exercise capacity and postural status. Age at diagnosis was  $3.7 \pm 2.7$  years, median 3.1, range 0.01–17.2 years. The cohort included 55% of women. Age in the study  $19.4 \pm 5.8$ , median 19.6 years, range 7.8–36 years. Anthracyclines (ATC) were administered to 25.9% of the cohort. Abdominal radiotherapy (RTA) was required in 34.2%. **Results:** Creatinine clearance was on average  $1.56 \pm 0.56$  ml/s/1.73m<sup>2</sup>, (median 1.49 ml/s/1.73m<sup>2</sup>). Proteinuria was  $0.18 \pm 0.30$  g/24 h/m<sup>2</sup>, median 0.13 mg/24 h/m<sup>2</sup>. Three patients had proteinuria above 1g/24 h with a normal glomerular filtration rate and s-albumin. Hypertension was treated in 8.6% of patients (6% by pharmacotherapy). Increased diastolic blood pressure (DBP) and systolic blood pressure (SBP) was found in adolescents: DBP > 90 Torr was found in 10.2% of patients and SBP > 135 Torr in 8.3%, all of them above the age of 15 years. ECHO did not reveal any pathology even in patients treated by ATC. Plasma cholesterol, LDL, HDL, triglycerides were outside the recommended range in two or more parameters in 28.9% of the cohort. Lipoprotein Lp(a) > 500 mg.l<sup>-1</sup> (more than 200% higher than the upper limit) was found in 15.2%. Low peak oxygen consumption ( $VO_{2\text{ peak}}$ ) was found in 40% of the cohort. Scoliosis (Sc) was anamnestically found in 46%. Prevalence of Sc according to the age of treatment has a similar trend as the reduced use of the RTA. Pulmonary function test showed a moderate increase in the functional residual capacity (the average Z-score of 1.35).  $VO_2$  peak correlates positively with the inspiratory capacity ( $p < 0.05$ ). **Conclusion:** Based on the found pathologies and known risks, a schedule of late effect prevention and monitoring of patients in long-term NFB remission was established. It should include clinical examination, kidney function and blood pressure monitoring, sonographic and echocardiography examination, long-term physiotherapeutic care and prevention of cardiovascular diseases.

## Key words

nephroblastoma – late effects – cancer survivorship – children – adolescents – prevention – second cancer

## Východiska

Nefroblastom (NFB) je nejčastější malignitou abdominální oblasti dětského věku a jeden ze čtyř nejčastějších solidních nádorů dětského věku. V posledních dekádách postupně stoupala úspěšnost léčby až na dnešních 80–90 %, a to i při vypuštění radioterapie z primárního schématu léčby u více než dvou třetin pacientů. Léčebná strategie byla pomocí multicentrických mezinárodních studií postupně optimalizována se zaměřením na vysoký léčebný úspěch při minimalizaci pozdních následků léčby. Poslední mimo další multicentrické studie dodnes užívaný léčebný protokol vznikl analýzou studie SIOP-9 v roce 2001 [1], a to na základě poznatků předešlých multicentrických studií evropských zemí sdružených v International Society of Pediatric Oncology (SIOP) [2–4] a také na základě výsledků multicentrických studií vzniklých v rámci National Wilms Tumor Study Group (NWTs) v USA [5–8]. V publikacích výsledků těchto studií jsou popsána i východiska pro současnou strategii léčby NFB, která dodnes není zcela identická v Evropě a v USA.

## Základní charakteristika současné léčby NFB

Genetická podstata onemocnění je dnes zčásti odhalena, geny vedoucí k onemocnění zároveň regulují normální vývoj urogenitálního traktu. Četnost choroby

je dle písemných záznamů lehce vyšší u žen, asi 10 : 9, bilaterální nádor se vyskytuje u žen častěji v poměru 10 : 6. Mezi věkem diagnózy je okolo 3 let.

Léčba nefroblastomu byla zpočátku pouze chirurgická – prostá nefrektomie bez jakékoliv konzervativní terapie. S objevem protinádorového účinku rentgenového záření se tato léčebná metoda začala brzy uplatňovat především u pokročilých forem nefroblastomu, což významně zlepšilo léčebné výsledky až na 40 % dlouhodobého přežití. Ve 2. polovině 20. století se již začala uplatňovat nově zaváděná cytostatika – vinkristin a aktinomycin D (daktinomycin), zprvu samostatně v monoterapiích, posléze v kombinacích, které prokazovaly významně lepší výsledky než samostatně podávaná cytostatika. Radioterapie byla používána stále, byť jako zdroj byly využívány stále novější a modernější zdroje záření – kobalt, lineární urychlovač. Na konci 60. a začátkem 70. let vznikly dvě velké pracovní skupiny pro studium diagnostiky a léčby nefroblastomu. V USA to byla NWTs a v Evropě SIOP. Výsledky jednotlivých studií těchto skupin prokázaly, že kromě nefroblastomu se asi u 10 % pacientů vyskytují nádory ledvin odlišné od nefroblastomu – non nefroblastomy, které vyžadují zcela odlišné terapeutické přístupy.

Ale také nefroblastomy mají histopatologické formy příznivé a méně příz-

nivé, s odlišnou prognózou a vyžadující různou intenzitu chemoterapie. Dosud paušálně používaná radioterapie se omezila pouze na vysoce rizikové typy nádorů a celkově se dnes používá u asi 15 % pacientů s nefroblastomem, což významně snižuje riziko postiradiačních komplikací. Obě nejvýznamnější pracovní skupiny výrazně zkrátily pooperační chemoterapii z počátečních dvou let až na současně velmi krátké trvání, v některých situacích pouze čtyřtýdenní.

Zásadním rozdílem je zařazování definitivní operace – NWTs používá nefrektomii jako iniciální terapii a podle rozsahu onemocnění a histopatologického typu nádoru pokračuje v pooperační léčbě. SIOP řadí nefrektomii až po neoadjuvantní chemoterapii, v jejímž průběhu se nádor významně změní a snižuje se riziko perioperačních komplikací. Celkové léčebné výsledky obou skupin se však neliší. Pro současnou léčbu nefroblastomů všech klinických stadií je typická snaha přesně stratifikovat léčbu podle klinického stadia, histopatologického typu, případně odpovědi na předoperační léčbu. Výsledkem těchto postupů je omezené a přesně indikované použití radioterapie a rezervování intenzivní chemoterapie, včetně antracyklinů, pouze pro prognosticky méně příznivé typy nefroblastomů.

Hodnocení naší sestavy nemocných, léčených a sledovaných v průběhu téměř tří desetiletí, se snaží zhodnotit,



jak se tyto změny v diagnostice a léčbě nefroblastomů odrazily v dlouhodobých následcích detekovatelných u vyléčených jedinců.

### Cíle práce

Cílem práce bylo na relativně homogenní a početné skupině pacientů s NFB, léčených na jediném pracovišti od roku 1980, ukázat prostřednictvím průřezové studie jejich celkový zdravotní stav a optimalizovat systém monitorace a sekundární prevence pozdních následků léčby. Stanovit četnost, rozsah a strukturu pozdních následků (tedy s odstupem větším než 5 let od ukončení léčby): sekundárních malignit, funkčních poruch hybného systému, poruch renálních funkcí, poškození myokardu cytostatickou léčbou a radioterapií, poruch plicních funkcí v závislosti na radioterapii a míře osového poškození hrudního skeletu, výskytu rizikových faktorů civilizačních chorob, změn v krevním obrazu a imunitě. Stanovit detailnější strukturu a vazby těch pozdních následků, které zpravidla nezvyšují mortalitu, ale které zvyšují morbiditu a snižují kvalitu života. Zjistit, nakolik se očekávaná nižší tělesná zdatnost podílí na výskytu rizikových faktorů civilizačních chorob.

(Léčebný úspěch za posledních 25 let bude předmětem samostatné publikace.)

### Soubor pacientů a metody

Ze základního souboru 317 pacientů léčených na Klinice dětské onkologie (dnes Klinice dětské hematologie a onkologie) v době od 1. 1. 1980 do 31. 12. 2004 jsme po prověření původní dokumentace pozvali k účasti na průřezové studii všechny pacienty, kteří splnili do června 2008 kritérium 5 let od ukončení léčby NFB a zároveň byli nejméně 5 let v remisi choroby v den vyšetření.

Po schválení etickou komisí jsme oslovili z možných 250 pacientů 247 (tři s neznámým pobytem neosloveni). Účast ve studii přijalo 158, tedy 63,2%, z nichž 7 pacientů nemohlo být vyšetřeno pro akutní infekci bez možnosti dalšího vyšetření.

### Charakteristika vyšetřeného souboru

Základní údaje o terapii jsou uvedeny v tab. 1.

Tab. 1. Schéma použité léčby a četnost pacientů.

Typ protokolu	Datum použití	Počet léčených pacientů	Délka léčby (měsíce)	Radioterapie*
KDO 86	1980–11/1986	35	104	všichni břicho
KDO 88	12/1986–6/1988	16	52	břicho jen stadium 3, event. 4
SIOP 9	7/1988–12/1993	51	26–52	břicho jen stadium 3, event. 4
SIOP 93	1/1994–7/2001	56	26–32	břicho jen stadium 3, event. 4

\*Radioterapie na plicní metastázy nereagující na chemoterapii a na břicho u pacientů s klinickým stadiem 4, kteří by bez přítomnosti plicních metastáz byli zařazeni do klinického stadia 3.

Tab. 2. Charakteristika souboru.

počet pacientů	přijato 158, 7 nevyšetřeno
věk v době stanovení diagnózy	3,7 ± 2,7 roku, medián 3,1 rozsah 0,01–17,2 let
odstup od ukončení léčby	14,6 ± 5,0 roku, medián 15,0 rozsah 5,5–25,8 let
věk v době vyšetření	19,4 ± 5,8 roku, medián 19,6 rozsah 7,8–36 let
zastoupení žen	55 %
pacienti léčení antracykliny	25,9 % (nikdo nepřekročil max. kumulativní dávku)
pacienti záření na břicho	34,2 % (v průměru starší a s vyšším klin. stadiem)
pacienti s relapsem	6 % 3krát plicce, 3krát levá ledvina, 2krát lůžko vpravo, 1krát mozek

Základní charakteristika souboru je uvedena v tab. 2.

### Vyšetřovací schéma průřezové studie

- Anamnestická část zaměřena na rizikovou rodinou anamnézu. Zaměřili jsme se na veškeré zdravotní odchylky od normy u pacienta, pohybovou anamnézu, rodinný výskyt malignit a civilizačních chorob v rodinné anamnéze. Pacienti také dostali anonymní dotazník o kvalitě života.
- Klinicko-onkologické vyšetření. Z laboratorních vyšetření krevní obraz, biochemie včetně renálních parametrů, lipidový profil, sérové hladiny imunoglobulinů, zastoupení základních lymfocytárních subpopulací (CD3+, CD4+, CD8+, CD3–CD16+CD56+, CD20+) vyšetřené průtokovou cytometrií v krvi. Klidový krevní tlak jsme hodnotili z nižší hodnoty ze dvou měření na dvou odděleních zjištěných tentýž den. 13 pacientů (8,6%) se v době průřezové studie léčilo pro hypertenzi, z toho 9 (6,0%) farmakologicky, ostatní v době studie měli pouze režimová opatření. Do výsledků jsme započítali i hodnoty těchto 13 pacientů.
- Renální funkce v redukované verzi na základě biochemického vyšetření krve a moči (včetně clearance kreatininu) + sonografického vyšetření ledvin.
- Vyšetření funkčně diagnostické: zátěžový test s měřením špičkové spotřeby kyslíku, krevního tlaku (TK) v klidu (jedno ze dvou měření) a při statické a dynamické tělesné zátěži.
- Funkční poruchy hybného systému hodnotil fyzioterapeut v „zaslepeném“ režimu – v době vyšetření neměl informace o rozsahu ani terapii NFB. Pacient nezávisle na vyšetření vyplnil dotazník s podrobnou anamnézou zaměřenou na hybný systém.
- Vyšetření plicních funkcí včetně celotělové pletysmografie.
- Standardní echografické vyšetření srdce (specialista na vrozené srdeční

vady se zkušenostmi z vyšetřování dětí a adolescentů).

h) U dospělých pacientů jsme pro stanovení kvality života použili dotazník SF 36 [10].

### Statistické zpracování

Po grafickém ověření přibližné normality naměřených hodnot jsme testovali vztahy dvouvýběrovým t-testem, v případě potřeby Spearmanovou neparametrickou korelací. Pokud není uvedeno jinak, je výsledek signifikancí dvouvýběrového t-testu (daný parametr vs zbytek souboru).

### Výsledky

#### Potenciální rizika vyplývající z anamnézy a jejich vztah k naměřeným parametrům

##### Riziková rodinná anamnéza

Zaměřili jsme se kromě anamnézy onkologické zvláště na rizika civilizačních chorob (hypertenze, diabetes, iktus, ICHS, smrt z kardiální příčiny před 60. rokem věku u rodičů nebo prarodičů).

60 % souboru má pozitivní rodinnou anamnézu dle výše uvedených kritérií. Tato podskupina se neliší věkem, stadiem onemocnění ani zastoupením pohlaví. Pacienti s rizikovou rodinnou anamnézou jsou méně zdatní ( $p < 0,05$ ), s vyšším diastolickým klidovým krevním tlakem ( $p < 0,05$ ) a vyšší urikemií ( $p < 0,05$ ).

##### Riziková onkologická anamnéza

Malignitu před 60. rokem věku u sourozence, rodiče či prarodiče udávalo pouze 7,6 % pacientů, což je pravděpodobně podhodnocený údaj. V souboru jsou pouze 2 pacienti s dvojnásobnou malignitou (1krát neuroblastom, 1krát povrchově se šířící melanom) a jediná malignita u sourozence – neuroblastom u údajně jednovaječného dvojčete.

Kouření připustilo 13 % pacientů. Jsou to ti starší s nižším stadiem choroby. Veškeré rozdíly jsou ovlivněny věkem, takže při takto malém počtu přiznaných kuřáků nelze zjistit vztah mezi kuřáctvím a měřenými parametry.

##### Funkce ledvin

Přes radikální snižování radioterapie, optimalizaci chemoterapie a snahu

o šetrnější chirurgickou léčbu musíme dlouhodobě sledovat a minimalizovat pozdní následky také u početné skupiny pacientů léčených dřívějšími postupy. Ty mohou znamenat riziko i v dlouhém odstupu od léčby. V důsledku nefrektomie solitární ledvina reaguje kompenzatorní hypertrofií a chronickou hyperfiltrací. K tomu je nutno vzít do úvahy možné postižení renálních tkání komplexní onkologickou léčbou. Z výše uvedených důvodů pacienti s NFB vyžadují dlouhodobou observaci renálních funkcí.

V našem souboru jsme v chorobopisu žádného pacienta nezaznamenali renální funkce v době ukončení léčby mimo rámec fyziologických hodnot. U všech 151 pacientů byla v průřezové studii vyšetřena glomerulární filtrace. K hodnocení jsme použili redukovanou clearance kreatininu s nočním sběrem moči za 12 hod (přepočteno na 24 hod) a výpočet formulími dle Schwartz a u dospělých dle Cockcrofta a Gaulta. Průměrná clearance kreatininu souboru byla  $1,56 \pm 0,56$  ml/s/1,73 m<sup>2</sup> (medián 1,49 ml/s/1,73 m<sup>2</sup>). Adjustovaná glomerulární filtrace byla  $1,64 \pm 0,22$  ml/s (medián 1,65 ml/s). Dále byla u 143 pacientů glomerulární filtrace vypočtena z hodnoty cystatinu C podle vzorce dle Grubbeho. Průměrná hodnota glomerulární filtrace touto metodou byla  $2,15 \pm 0,76$  ml/s. Tuto vyšší hodnotu si nedovedeme vysvětlit.

Proteinurie byla hodnocena kvantitativním 12hodinovým nočním sběrem (přepočteno na 24 hod). Průměrná proteinurie byla získána u 131 pacientů a činila  $0,30 \pm 0,49$  g/24 hod, což odpovídá  $0,18 \pm 0,30$  g/24 hod/m<sup>2</sup>. Medián byl 0,22 mg/24 hod, resp. 0,13 mg/24 hod/m<sup>2</sup>. Tři pacienti měli proteinurii větší než 1 g/24 hod (1,29 g, 2,62 g a 4,84 g). Věk těchto pacientů byl 14,2–20,4 roku. Všichni měli fyziologické hodnoty glomerulární filtrace (1,06–1,28 ml/s) a s-albuminu (36,4–46,1 g/l). Nejednalo se tudíž o nefrotickou proteinurii. V celém souboru byla nejnižší hodnota s-albuminu 36,3 g/l (rozmezí normálních hodnot je 35–53 g/l pro obě pohlaví). Tito pacienti jsou sledováni, ale renální biopsii neabsolvovali.

Tabulární funkce jsme hodnotili pomocí N-acetyl-beta-D-glukosaminidázy (NAG) a pomocí alfa-1-mikroglo-

bulinu. Průměrná hodnota NAG byla  $2,11 \pm 2,12$   $\mu$ kat/mol/kr (norma naší laboratoře je 0–1,5  $\mu$ kat/mol/kr), medián byl 1,29  $\mu$ kat/mol/kr, celkem bylo vyšetřeno 120 pacientů. U 25 % pacientů jsme zjistili zvýšenou hodnotu NAG. Průměrná hodnota alfa-1-mikroglobulinu byla  $43,65 \pm 30,27$  mg/l, medián byl 12,39 mg/l. U 20,1 % pacientů byly zjištěny hodnoty vyšší než hranice normy.

### Krevní tlak

- Průměrná hodnota systolického tlaku v celém souboru byla  $118,6 \pm 3,4$  torr. Medián 120 torr, rozsah 90–170 torr. STK nad 135 torr má 8,3 % souboru, nikdo z nich nebyl mladší 15 let.
- Průměrná hodnota diastolického krevního tlaku byla  $72,6 \pm 10,49$  torr, medián 70 torr, rozsah 50–100 torr.

DTK tlak 90 torr a výše má 10,2 % souboru, nikdo z nich nebyl mladší 15 let.

Vyšší prevalenci zvýšeného krevního tlaku jsme našli zejména u adolescentní části vyšetřovaného souboru. Prevalence hypertenze adolescentní podskupiny viz tab. 3.

### Krevní tlak v tělesné zátěži

Podle písemnictví je zvýšený vzestup tlaku v zátěži pouze rizikem budoucí hypertenze.

Nadměrný vzestup krevního tlaku v zátěži mělo 38 % pacientů, bez rozdílu v zastoupení mužů a žen. Podskupina s hypertonicnou reakcí je významně starší – 21,4 proti 17,8 roku ( $p < 0,001$ ), liší se signifikantně nižší glomerulární filtrací ( $p < 0,01$ ). Proti skupině s normálním vzestupem TK mají signifikantně vyšší BMI ( $p < 0,05$ ) vyjádřené v SD skóre náležitých věkových hodnot. Jsou také signifikantně méně zdatní (i při vyjádření v SD skóre náležitých věkových hodnot,  $p < 0,01$ ). S hodnotami maximálního zátěžového krevního tlaku nad mediánem souboru je více mužů ( $p < 0,001$ ), proto jsme vztah k ostatním parametrům sledovali u obou pohlaví odděleně. Skupina mužů se zátěžovým tlakem nad hodnotou mediánu je signifikantně těžší ( $p < 0,001$ ) a vyšší ( $p < 0,01$ ), ale nikoliv s odlišným BMI. Má signifikantně vyšší ejekční frakci –  $0,66 \pm 0,06$  vs  $0,61 \pm 0,048$  ( $p < 0,01$ ), vyšší klidový systolický i diastolický krevní tlak, neliší se zdatností od pacientů s nižším

krevním tlakem (hodnoty peak VO<sub>2</sub> jsou téměř identické). Ženy s maximálním tlakem nad mediánem jsou v průměru o 4 roky starší proti ženám, jejichž záťažový tlak nedosáhl mediánu (21 vs 16,9 roku,  $p < 0,001$ ). Mediány tlakových záťažových hodnot mužů a žen se značně liší (180 torr ženy, 210 muži). Ženy s vyšším systolickým tlakem v zátěži jsou signifikantně méně zdatné proti ostatním ženám souboru: vyjádřeno v SD skóre špičkové spotřeby kyslíku  $-0,9 \pm 1,3$  vs  $-0,29 \pm 1,1$  SD ( $p < 0,05$ ).

#### Riziková podskupina pacientů léčených antracyklinovým cytostatikem (doxorubicinem nebo epirubicinem)

Jsou to pacienti s vyšším klinickým stadiem choroby anebo po prodělaném relapsu. Neliší se od zbytku souboru věkem v době kontroly, datem diagnózy ani zastoupením mužů a žen. V podskupině, ba ani v celém souboru není ani jeden pacient s kardiomyopatií. Přesto nám údaj o terapii antracykliny rozděluje řadu let od ukončení léčby soubor na podskupiny s klinicky potenciálně důležitými parametry:

Liší se vyšším cholesterolem  $5,03 \pm 1,1$  vs  $4,5 \pm 0,9$  ( $p < 0,01$ ) i LDL  $2,98 \pm 1,05$  vs  $2,65 \pm 0,86$  ( $p < 0,05$ ). Mají proti zbytku souboru zřetelně horší ( $p < 0,001$ ), avšak ne jasně klinicky patologickou tubulární funkci ledvin (K-NAG/U-Kreatinin  $1,97 \pm 2,07$  vs  $1,7 \pm 0,89$ ), vyšší krevní hladinu urey  $5,1 \pm 1,21$  vs  $4,7 \pm 1,12$  ( $p < 0,05$ ), mají nižší plazmatický albumin ( $p < 0,05$ ) a vyšší proteinurii ( $p < 0,01$ ), obdobně i při přepočtu na povrch těla. Tito pacienti mají i vyšší IgM ( $p < 0,01$ ). Mají menší BMI ( $p < 0,01$ ), ale neliší se v procentuálním zastoupení nadváhy či obezity ve skupině.

Antracyklinové cytostatikum se ukazuje u této diagnózy rovněž jako marker vyššího rizika poruchy hybného systému při vyšetření fyzioterapeutem (viz hybný systém).

#### Echokardiografické vyšetření

U pacientů v dlouhodobé remisi Wilmsova tumoru má toto vyšetření význam jak k vyloučení antracyklinové kardiomyopatie, tak k vyloučení možného poškození levé komory hypertenzí. Echo-

kardiografické vyšetření bylo provedeno u všech 151 pacientů přístrojem GE Vingmed, System 5, Horten, Norway. U 148 pacientů byla zcela normální anatomie srdce, u tří pacientů byl nalezen méně významné vrozené srdeční vady (bikuspidální aortální chlopeč s nevýznamnou aortální stenózou a insuficiencí, jemná bikuspidální aortální chlopeč u druhého a perzistující levostranná horní dutá žíla do koronárního sinu u třetího pacienta). Jedna pacientka měla nevýznamný perikardiální výpotek. Systolická funkce levé komory byla měřena v dlouhé ose srdeční M způsobem pomocí frakčního zkrácení levé komory (SF). U všech pacientů bylo SF v hodnotách nad 0,27 (medián 0,34, dolní hranice normy je 0,25). V mezích normy [11] byly i tloušťky volné stěny levé komory a mezikomorové přepážky, měřené na konci diastoly.

Diastolická funkce levé komory byla posouzena u 55 pacientů. V apikální čtyřdutinové projekci byla pulzní dopplerovskou echokardiografií hodnocena rychlost průtoku mitrální chlopní ve fázi časného plnění (vlna E) a po síňovém stahu (vlna A). Decelerační čas vlny E se pohyboval v rozmezí 120–180 ms a poměr E/A byl 1 až 3. Izovolumický relaxační čas (IVRT) byl měřen při simultánním záznamu transmitrálního průtoku a toku ve výtokovém traktu levé komory a u žádného pacienta nepřesáhl 100 ms. Naměřené hodnoty pro diastolickou funkci levé komory se pohybovaly v normálních rozmezích pro daný věk [12–14].

Analýzou klinických údajů jsme našli u podskupiny 9 pacientů s relapsem (z toho dva se dvěma relapsy) při průřezovém vyšetření signifikantně menší ejekční frakci ( $0,588 \pm 0,024$  vs  $0,642 \pm 0,058$ ,  $p < 0,05$ ) i frakční zkrácení levé komory ( $0,318 \pm 0,022$  vs  $0,346 \pm 0,0407$ ,  $p < 0,05$ ).

Rozdíl v ejekční frakci ani frakčním zkrácením jsme však nenalezli u podskupiny léčené antracyklinovým, potenciálně kardiotoxickým cytostatikem (25,9% pacientů).

Zvýšené kardiovaskulární riziko dané vyšší incidencí arteriální hypertenze v klidu a/nebo v zátěži se neprojevovalo v rozdílné systolické funkci levé ko-

mory u hypertenzních a normotenzních pacientů.

#### Parametry s možným vlivem na vyšší riziko kardiovaskulárních chorob Vztah BMI jako markeru nadváhy a ostatních naměřených hodnot

Do kategorie podváhy spadá 8,6% souboru, do rozsahu normálních hodnot 74,3% souboru, 8,5% souboru spadá do kategorie nadváhy a 8,6% je v kategorii obezita.

Rozdělením souboru na podskupinu BMI podváha či normální hodnota vs nadváha či obezita jsme zjistili u podskupiny s nadměrným BMI signifikantní rozdíly uváděné klasicky pro riziko metabolického syndromu.

Pro podskupinu s nadváhou či obezitou platí:

Pacienti s nadváhou byli v průměru o 2 roky starší ( $18,9 \pm 5,7$  vs  $21,3 \pm 5,9$  roku,  $p < 0,05$ ), neliší se ve věku manifestace onemocnění.

Neliší se od zbytku souboru v zastoupení mužů a žen (s trendem pro větší zastoupení mužů v obézní skupině a žen s podváhou).

Přišli do průřezové studie ve větším odstupu od léčby ( $p < 0,05$ ).

Mají vyšší glykemii až do patologických hodnot: při limitu do  $5,83$  mmol.l<sup>-1</sup> má zvýšenou glykemii třetina z obézní skupiny a pouze 5,2% z podskupiny s nízkým či normálním BMI. Výsledky podskupin jsou  $6,9 \pm 3,45$  vs  $4,9 \pm 0,62$  mmol.l<sup>-1</sup> ( $p < 0,001$ ). Extrémní, údajně lačné glykemie byly 19,3 a 14,8 mmol.l<sup>-1</sup>, obě pacientky jsou léčené diabeticky.

Triacylglycerol signifikantně vyšší:  $1,5 \pm 1,1$  mmol.l<sup>-1</sup> proti  $0,95 \pm 0,48$ ,  $p < 0,001$ .

HDL je signifikantně nižší (1,26 vs 1,5,  $p < 0,01$ ).

Homocystein je signifikantně vyšší ( $p < 0,05$ ).

Vyšší systolický krevní tlak v klidu:  $131 \pm 16$  vs  $123 \pm 15$  torr,  $p < 0,05$ .

Vyšší diastolický krevní tlak v klidu:  $84,7 \pm 10,0$  vs  $79,7 \pm 11$  torr,  $p < 0,05$ .

Vyšší systolický krevní tlak na střední intenzitě zátěže –  $1,5$  W.kg<sup>-1</sup> hmotnosti – v průměru o více než 22 torr ( $188,3 \pm 23,7$  vs  $166 \pm 21$ ,  $p < 0,001$ ).

Vyšší systolický krevní tlak v maximální zátěži:  $202,9 \pm 23$  vs  $186,3 \pm 25$  torr,

$p < 0,01$ , a to i při nižší zdatnosti, a tedy nižším maximálním výkonu.

Mají menší maximální aerobní kapacitu (peak  $VO_2$  – řada pacientů ukončila zátěž před dosažením metabolických kritérií pro  $VO_{2max}$ ). Vyjádřeno v SD skóre referenčních hodnot pro daný věk a pohlaví:  $-1,67 \pm 1,7$  vs  $-0,62 \pm 1,3$  SD normy.

#### Lipidový profil

Lipidový profil (cholesterol, HDL, LDL triacylglyceroly) má mimo doporučený rozsah ve dvou a více parametrech 28,9% souboru (+ další 2% mají izolovaně zvýšený lipoprotein Lp(a)). Podskupina s lipidovým profilem mimo doporučené meze hodnot má signifikantně nižší na věk normovanou aerobní kapacitu a v průměru vyšší klinické stadium choroby.

#### Lp(a)

Lp(a) je bílkovina komplexní funkce, jejíž vysoká hladina je považována za samostatný rizikový faktor ICHS a má vztah k endoteliální dysfunkci. Referenční hodnota je stanovena až od 15 let, Lp(a) nemá překročit  $250 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ . Průměr celého souboru je ale velmi blízko této hranici:  $244 \pm 315,9$ , medián 100,6, rozsah 9–1 800  $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ . Rozdělení souboru na pacienty s Lp(a) nad  $250 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$  vs do  $250 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$  (bez ohledu na věk) ukazuje, že 32,5% skupiny má Lp(a) nad  $250 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ , (15,2% má Lp(a) dokonce nad  $500 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ ). Toto rozdělení (obdobně jako nad a pod hodnotu mediánu) ukazuje na vztah Lp(a) a lačné hyperglykemie a na vztah Lp(a) a nadváhy. Při dělení nad a pod medián se ukazuje i vztah k diastolickému krevnímu tlaku v klidu a k tělesné zdatnosti (u zdatnosti vyjádřené jak maximálními wattly na kilogram hmotnosti, tak peak  $VO_2$ ). Spearmanova neparametrická pořadová korelace ale není signifikantní pro Lp(a) a normovanou zdatnost na věk a pohlaví. Vysvětlujeme si to tím, že pacienti s hodnotou Lp(a) okolo mediánu, tedy s hraničními hodnotami, zahrnují jak zdatné, tak nezdatné pacienty.

#### Tělesná zdatnost

##### Špičková spotřeba kyslíku peak $VO_2$

Pokud započítáme i pacienty, kteří jasně nedosáhli metabolického maxima (většinou pravděpodobně kvůli nízké moti-

vaci k zátěži), pak 40% souboru má patologicky nízkou zdatnost. Ve skupině pod mediánem souboru je signifikantně více žen ( $p < 0,001$ ), udávají častěji bolest zad ( $p < 0,05$ ) a cepaleu ( $p < 0,05$ ), mají vyšší krevní koncentraci cholesterolu ( $p < 0,05$ ), LDL ( $p < 0,05$ ), triacylglycerolu ( $p < 0,01$ ), častější hypertonickou reakci na zátěž ( $p < 0,05$ ), méně hodin sportu týdně ( $p < 0,001$ ), menší energetický výdej určený z pohybového dotazníku ( $p < 0,001$ ).

Vyjádřeno v Z skóre je průměr skupiny  $-1,5 \pm 1,4$  směrodatné odchylky pod populačním průměrem zdravých vrstevníků, medián  $-1,7$  SD pod populačním průměrem, rozsah  $-5$  až  $+2,6$  SD normy. Pokud vezmeme za kritérium  $25 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  špičkové spotřeby kyslíku jako hodnotu dostatečnou pro značnou část rekreačních pohybových aktivit i profesí s malou fyzickou námahou, pak jsou zdatnostně těžce limitována pouze 4% souboru za předpokladu, že si svou současnou zdatnost udrží (a v opačném extrému má okolo 5% souboru tělesnou zdatnost dostatečnou pro závodní sport s vytrvalostní složkou).

#### Hybný systém

Pacienti v dlouhodobé remisi Wilmsova tumoru udávají při obdobných funkčních poruchách hybného systému méně subjektivních obtíží než osoby s negativní osobní anamnézou. Vzhledem k transperitoneálnímu přístupu při nefrektomii je u naprosté většiny pacientů patrna široká, stranově asymetrická jizva, která vykazuje různou elasticitu.

46% souboru mělo diagnostikovanou skoliózu. Většina souboru má skoliotické držení s vazbou na další funkční poruchy hybného systému. Zatímco opakované bolesti v zádech udává 36% souboru, pacienti se skoliózou udávají bolesti v zádech v 53%. Skoliotici jsou proti zbytku souboru signifikantně starší ( $p < 0,001$ ), odstup od léčby je statisticky méně významný ( $p < 0,01$ ). Měli častěji zářené břicho ( $p < 0,05$ ), ale rozdíl v klinickém stadiu je statisticky nevýznamný. Statisticky významných rozdílů plicních funkcí jsme pro rozdělení celého souboru podle jediného klíče našli minimum. Skolióza nemá vliv na maximální aerobní kapacitu, ani nemá vztah k nadváze či obezitě, ani k pohlaví.

Při samostatném hodnocení u mužů a u žen pro vztah skoliózy s parametry záťažového vyšetření a vyšetření funkce plic jsme u žen našli vztah mezi skoliózou a řadou parametrů záťažového vyšetření. Ženy se skoliózou (38% z žen souboru) se od ostatních žen souboru neliší věkem diagnózy, stadiem, odstupem od léčby ani klinickým stadiem. Polovina jich byla zářená na břicho (bez skoliózy jen 22%,  $p < 0,01$ ). Odlišují se signifikantně i v některých datech plicních funkcí. Neliší se zdatností, skoliotičky mají častěji hypertonickou reakci v lehké a střední zátěži, ale ne v maximu. Potvrdil se předpoklad, že prevalence skoliózy má vztah k radioterapii břicha. Pomocí logistické regrese jsme také provedli odhad relativního rizika pro vznik skoliózy.

Zjistili jsme, že odds rate (míra rizika) skoliózy roste po ozáření břicha 1,67krát; pokud měl pacient současně radioterapii břicha a bral antracyklinové cytostatikum, zvyšuje se riziko ještě 1,57krát.

Častější výskyt skoliózy u pacientů s RT břicha je v souboru jasně patrný. V celém souboru u pacientů s RT břicha je 70,8% s diagnostikovanou skoliózou proti 33% skolióz u pacientů bez RT břicha ( $p < 0,001$ ).

V tab. 3 a grafu 1 uvádíme pokles frekvence prováděné RT břicha a současně pokles frekvence skolióz u pacientů rozdělených do kategorií podle roku stanovení diagnózy nefroblastomu.

Je jisté, že pokles diagnostikovaných skolióz u pacientů s diagnózou onemocnění v poslední dekádě je způsoben tím, že pacienti s pozdějším rokem stanovení diagnózy přicházejí k průřezové studii v nižším věku. Pro oddělení vlivu kalendářního roku onemocnění a věku, kdy přichází pacient k vyšetření, jsme provedli následující výběr:

Byla vybrána podskupina pacientů s věkem v době kontroly v rozmezí 17–25 let. Interval byl stanoven tak, aby zahrnul alespoň několik pacientů z každé kategorie podle kalendářního roku diagnózy (rok dg). Výběr zahrnuje 64 pacientů (tab. 4).

Ve výběru je u pacientů s diagnostikovanou skoliózou RT břicha 85,7% proti pacientům bez RT břicha, kde je 32,6% pacientů se skoliózou ( $p < 0,001$ ).

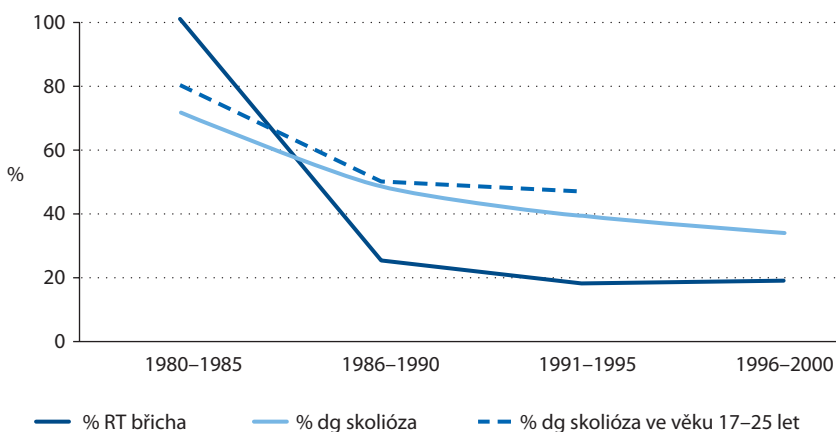
Data naznačují, že pokles prevalence skoliózy souvisí velmi těsně s poklesem užití radioterapie.

**Tab. 3. Dnešní percentuální zastoupení prevalence skoliózy u pacientů rozdělených podle data manifestace nefroblastomu v jednotlivých obdobích.**

Rok manifestace	% RT břicha	% dg skolióza	N
1980–1985	100	71,4	21
1986–1990	25,5	48,9	45
1991–1995	18,2	39,5	38
1996–2001	18,92	34,3	35

**Tab. 4. Pokles frekvence skoliózy ve věku 17–25 let. 0 % skolióz ve věku 17–25 let u pacientů s rokem dg 1996–2001 není validní hodnota, protože pouze 2 pacienti z této kategorie dosáhli v době kontroly 17 let.**

Rok Dg	% dg skolióz ve věku 17–25 let	N
1980–1985	80	5
1986–1990	50	42
1991–1995	46,7	15
1996–2001	0	2

**Pokles frekvence RT břicha a prevalence skoliózy ve studii****Graf 1. Redukce radioterapie a snížení četnosti skoliózy.**

Také míra opakovaných bolestí zad je udávána podstatně častěji u podskupiny pacientů s delším odstupem od konce poslední léčby – rozdělíme-li soubor na poloviny dle odstupem od léčby, pacienti s kratším odstupem (5–15 let) udávají bolesti v zádech ve 20%, pacienti s odstupem 15,1–25,8 roku od léčby je udávají v 53% ( $p < 0,001$ ).

#### Plicní funkce

Byly vyšetřeny dynamické (FEV<sub>1</sub>, FVC, FEV<sub>1</sub>/FVC) statické plicní objemy: in-

spirační kapacita (inspiratory capacity – IC), funkční reziduální kapacita (functional residual capacity – FRC), reziduální objem (residual volume – RV), celková plicní kapacita (total lung capacity – TLC) a jejich vzájemné poměry (RV/TLC a FRC/TLC). Dále byla testována průchodnost dýchacích cest (za použití celotělového pletysmografu a maximálních křivek průtok-objem). Změřili jsme následující parametry: vrcholová výdechová rychlost (peak expiratory flow – PEF) a maximální výdechová rychlost na

úrovni 50% a 25% FVC, tj. FEF<sub>50</sub> a FEF<sub>25</sub>. Rovněž jsme se zaměřili na specifickou konduktanci dýchacích cest (SGtot). Byl použit celotělový pletysmograf Master-Screen, Jaeger VIASYS. Vyšetření funkce plic bylo provedeno podle standardního protokolu (ERS/ATS Task Force 2002). Použili jsme referenční hodnoty dle Zapletal. Pro porovnání naměřených a referenčních hodnot jsme hodnoty vyjádřili v Z skóre referenčních hodnot.

Celková plicní kapacita (TLC), dynamické plicní objemy (FEV<sub>1</sub>, FVC a FEV<sub>1</sub>/FVC) dosahovaly normálních hodnot, které se v Z skóre v průměru nelišily od běžné populace. Podobně nebyly nalezeny alterace vrcholové a maximálních výdechových rychlostí (PEF, FEF<sub>50</sub> a FEF<sub>25</sub>). Hodnota funkční reziduální kapacity (FRC) byla zvýšena (Z skóre 1,349,  $p < 0,0001$ ). Byla prokázána pozitivní korelace mezi vrcholovou spotřebou kyslíku (peak VO<sub>2</sub>) a hodnotou inspirační kapacity IC ( $r = 0,195$ ,  $p < 0,05$ ).

V dlouhém odstupu po léčbě byly nalezeny fyziologické hodnoty velikosti plic a průchodnosti dýchacích cest. Přes nález mírných funkčních abnormalit představují celkové výsledky našich pacientů klinicky příznivý výsledek léčby.

#### Imunita a krevní obraz

Změny sledovaných parametrů krevního obrazu a imunity u vyléčených z NFB uvádí tab. 5. Snížení hladin imunoglobulinů, leukocytů, lymfocytů, granulocytů, podílu celkových T-lymfocytů a CD4+ lymfocytů nebyly časté a snížení NK buněk jsme nenalezli u žádného vyléčeného. Nejčastějšími změnami bylo snížené zastoupení CD8+ lymfocytů, zvýšené zastoupení NK buněk a B lymfocytů a snížení hemoglobinu. Při sledování změn sledovaných parametrů ve vztahu k průběhu prodělaného onemocnění jsme našli statisticky významně častěji snížené zastoupení CD4+ lymfocytů u vyléčených z relapsu a nižší hladiny IgA u pacientů po radioterapii [9].

#### Kvalita života

Dotazník SF 36 jsme odeslali všem pacientům nad 18 let, 2 se nepodařilo doručit. Z 80 pacientů dotazník vyplnilo 44 pacientů (55% dotázaných).

**Tab. 5. Změny sledovaných parametrů krevního obrazu a imunity u pacientů v dlouhodobé remisi nefroblastomu.**

	Prům.	S.D.	% sníž.	% zvýš.
leukocyty × 10 <sup>9</sup> /l	6,50	1,58	3,28	2,46
lymfocyty × 10 <sup>9</sup> /l	2,07	0,6	1,74	1,74
granulocyty × 10 <sup>9</sup> /l	3,72	1,27	10,43	2,46
hemoglobin g/dl	14,4	1,31	41,74	0
CD3	67,14	8,36	9,84	2,46
CD3-CD16+CD56+	11,20	6,71	0	38,52
CD4	39,29	7,44	3,28	1,64
CD8	25,63	5,63	15,57	0
CD20	13,78	4,36	0,82	38,52
CD4/CD8	1,63	0,55	4,92	2,46
IgG	11,45	2,22	1,01	3,03
IgA	1,83	0,72	4,04	3,03
IgM	1,08	0,47	4,92	4,92

Ze všech sekcí týkajících se 8 dimenzí (fyzická činnost, omezení pro fyzické problémy, omezení pro emoční problémy, sociální funkce, duševní zdraví, vitalita, tělesná bolest, celkové zdraví) jsme po vyhodnocení standardizovaným nástrojem zjistili odchylku od normy v jediné kategorii: tělesná bolest (Z skóre 0,707 ± 0,955). Kvalita života našich pacientů ve všech dimenzích kromě bolesti se neliší od normy. Dimenze kvality života „bolest“ vychází u našich pacientů v kvalitě signifikantně vyšší (p < 0,001) ve srovnání s evropskými normami zdravé populace [10] na základě otázek „Jaké bolesti jste měl(a) během posledních 4 týdnů?“ a „Jak moc Vám tato bolest bránila v práci?“. Zda mají pacienti zvýšený práh bolesti, zkušenost s opakovanou větší bolestí, takže čtyřtýdenní interval je příliš krátký, nebo zda jde o výběrovou chybu, nelze určit.

## Diskuze

### Očekávané pozdní následky

Z pozdních následků (PN) jsme na základě literárních údajů očekávali především tyto:

#### Skolióza

U 31 pacientů léčených o dekádu dříve (1971–1984) v Pensylvánii se vyvinula u 10 % skolióza nad 20 ° vyžadující ortopedickou intervenci [15].

#### Hypertenze

Ze 30 pacientů léčených o generaci dříve a průřezově vyšetřených v roce 1990 měla šestina z nich klidovou hypertenzi. Ve skupině byl zachycen pouze minimální nálezh zhoršené renální funkce – nejčastěji lehce vyšší albuminová exkrece [16].

Porovnání naměřených hodnot krevního tlaku ze vzorku 1 528 pacientů v dlouhodobé remisi NFB multicentrické studie z USA (National Wilms Tumor Study Group) s populačními normami svědčí o jiné distribuci hodnot TK s posunem k vyšším hodnotám hlavně u mladších pacientů [17].

#### Sekundární malignity

Pro pacienty léčené v rámci SIOP v letech 1971–1987 je standardizované riziko sekundární malignity proti celé populaci stejného věku 4,15násobné [18].

**Byl prokázán vyšší výskyt PN u podskupiny s vyšším rizikem (radioterapie [19,20], použití antracyklinových cytostatik, vyšší klinické stadium choroby).** V případě relapsu či vyšších klinických stadií byly používány kombinace chemoterapie, kde k daktinomycinu bylo přidáno i antracyklinové cytostatikum (doxorubicin, epirubicin). Tito pacienti mají zvýšený výskyt kardiomyopatie a chronického selhání srdečního, s incidencí 1,2 % za dvě dekády od léčby [21].

#### Relativně vysoká četnost PN

U 42 pacientů průřezové studie, léčených pro NFB v období 1968–1994 a s odstupem od léčby nad 5 let, našli autoři pozdní následky u dvou třetin z nich [22].

Sledování incidence pozdních následků NFB a jejich vývoj v čase byly součástí práce Oeffingera et al [22]. Četnost pacientů s NFB s klinicky významnými pozdními následky onemocnění a jeho léčby udávají na 9–13 % na základě čtyř klinických studií.

Proti očekávání a světové literatuře jsme našli naše pacienty s relativně méně závažnými zdravotními problémy. Střední odstup od léčby je ještě pod 2 dekády, čímž lze zřejmě vysvětlit nulový výskyt kardiomyopatie, srdečního selhání a sekundárních malignit (když nepočítáme plošně se šířící maligní melanom jako sekundární malignitu). Horší systolická funkce levé komory u podskupiny pacientů s relapsem ale naznačuje trend většího rizika pro pacienty s nutnou intenzivnější a delší léčbou.

#### Hybný systém

Data z vyšetření hybného systému potvrdila očekávané zhoršení funkční kompenzace s odstupem od ukončení léčby. Těžké poruchy hybného systému jsme našli v počtu podstatně nižším než udávaných 10 % pacientů, kteří museli podstoupit ortopedickou operaci [15]. Zřejmě také díky tradici rehabilitace a pobytu pacientů v lázních – rehabilitaci někdy v životě prošlo 55,1 % pacientů, pobyt v lázních absolvovalo 33 % našich pacientů – je četnost nutných ortopedických operací na rozdíl od výše citované práce [15] nulová. Jde ovšem o data pacientů léčených o generaci dříve než náš soubor, a tedy léčených radioterapií jinými přístroji a technikami. Zkoumaný soubor je funkčními poruchami hybného systému velmi blízký pacientům přicházejícím s vertebrogenními algickými symptomy. Při zkoumání pozdních následků na pohybovém aparátu můžeme popsat odchylky od normy ve dvou skupinách:

a) Znaky, které jsou **charakteristické** pro pacienta s touto diagnózou a léčbou.

Podstatnou roli hraje typicky široká **jizva** charakteristického tvaru po unila-

Tab. 6. Klidový krevní tlak adolescentní podskupiny souboru v porovnání s hodnotami belgických adolescentů.

	Prevalence systolické hypertenze chlapci	Prevalence diastolické hypertenze chlapci	Prevalence systolické hypertenze dívky	Prevalence diastolické hypertenze dívky
zdraví Belgičané	4/80 = 5 %	1/80 = 1 %	2/120 = 2 %	6/120 = 5 %
Wilms ČR	5/21 = 24 %	8/21 = 38 %	6/36 = 17 %	6/36 = 17 %
Fischerův test	p = 0,018	p = 0,00001	p = 0,002	p = 0,032

terální nefrektomii. Tah jizvy může významně ovlivnit jak fungování vlastních břišních svalů, tak přeneseně i svalové smyčky, které se na trupu, resp. v oblasti břicha nacházejí. Jizva může být patogenetickým faktorem mnoho let [24,25].

U pacientů sledovaného souboru vysvětlujeme postupnou progresi nálezu s věkem zejména dlouhodobým působením asymetrických podmínek pro posturální funkci bránice, zajišťující tvorbu nitrobřišního tlaku, který je podstatou pro zajištění ventrální stabilizace v dolní oblasti bederní páteře [26,27].

b) Znaky, které jsou **uniformní** odpovědí u pacientů s rozličnými diagnózami jako výraz insuficience těch svalů, které vytvářejí ventrální stabilizaci páteře, ve vývoji dozrávají jako poslední a jsou nejfragilnější.

### Kardiovaskulární riziko pacientů v dlouhodobé remisi nefroblastomu: nakolik je zvýšené proti běžné populaci

Hodnocení je obtížné, protože měřený soubor se skládá jak z dětské, tak z adolescentní i dospělé populace. V literatuře jsme nenalezli žádnou práci zabývající se kardiovaskulárními parametry populace v dlouhodobé remisi NFB v tak širokém věkovém spektru. Příčinou mohou být i různé přístupy v metodice sledování pozdních následků v dětství vzniklých onkologických onemocnění [28].

#### Krevní tlak

Krevní tlak má důvod být vyšší už proto, že s výjimkou 6 pacientů s bilaterálním zákrokem a 5 pacientů s pouze parciální resekci jedné ledviny žijí ostatní pacienti s jedinou chirurgicky intaktní ledvinou. Z toho vyplývají důsledky:

Tab. 7. Prevalence hypertenze dospělých pacientů našeho souboru ve srovnání s maďarskými studenty.

	muži	ženy
zdraví maďarští studenti	15/78 = 19 %	6/186 = 3 %
pacienti v dlouhodobé remisi Wilmsova tumoru	7/22 = 32 %	7/33 = 21 %
Fischerův test	ns	p = 0,0008

ns – statisticky nesignifikantní výsledek

- Přinejmenším část vzestupu krevního tlaku je dle literárních údajů důsledkem funkce jediné ledviny – nefrektomie u dárců ledviny má za následek vzestup systolického krevního tlaku v průměru o 2,4 torru a vzestup diastolického krevního tlaku v průměru o 3,1 torru [29]. Protože pro českou dětskou a adolescentní populaci nejsou k dispozici normovaná data pro prevalenci a diagnostiku hypertenze je založena na amerických normách [30,31], použili jsme k porovnání recentní publikaci belgických autorů [32], která navíc obsahuje i prevalenční data o hypercholesterolemii.

V článku je publikovaná prevalence hypertenze belgické adolescentní populace (80 chlapců a 120 děvčat). Pro adolescentní podmnožinu našeho souboru uvádíme prevalenci hypertenze za **stejných kritérií** v tab. 6.

Nejmarkantnější rozdíl je v *prevalenci diastolické hypertenze* pacientů v dlouhodobé remisi Wilmsova tumoru proti zdravým adolescentním chlapcům.

Se stejným zdrojem jsme porovnali i prevalenci hypercholesterolemie, která pro limit 5,2 mmol.l<sup>-1</sup> není signifikantně odlišná. Při testování dvouvýběrovým t-testem ale *hodnoty průměrného chole-*

*sterolu* 4,86 ± 1,34 *adolescentek* našeho souboru proti belgickým adolescentkám s cholesterolem 4,5 ± 0,7 mmol.l<sup>-1</sup> již signifikantně vyšší jsou (p < 0,05).

### Srovnání prevalence faktorů zvyšujících kardiovaskulární riziko u dospělé části měřeného souboru s běžnou populací

Jako referenční hodnoty jsme použili práci zaměřenou na populaci maďarských vysokoškoláků [33].

Pro věk 16–27 let jsme srovnali výskyt hypertenze stejnými kritérii jako autoři citované práce.

Pro testování jsme použili Fischerův test. Srovnání je v tab. 7. Vyplývá z ní signifikantně vyšší prevalence hypertenze žen v dlouhodobé remisi NFB.

Z tab. 8 vyplývá **jasně horší lipidové spektrum mužů i žen námi sledovaného souboru, s vyšším výskytem patologických hodnot zejména u LDL a Lp(a) žen.**

Ze srovnání tedy vychází značně vyšší riziko pacientů v dlouhodobé remisi nefroblastomu proti referenční skupině stejně starých maďarských studentů. Zastoupení rizikových faktorů s vyšší prevalencí patologických hodnot proti zdravé populaci není u mužů a u žen identické.

Naši pacienti v dlouhodobé remisi Wilmsova tumoru vykazují také vysokou

**Tab. 8. Porovnání prevalence patologických hodnot vybraných ukazatelů lipidového metabolismu u pacientů našeho souboru a maďarských studentů.**

	Muži					Ženy				
	zdraví maďarští studenti		pacienti v dlouhodobé remisi Wilmsova tumoru		Fischerův test	zdravé maďarské studentky		pacientky v dlouhodobé remisi Wilmsova tumoru		Fischerův test
	n = 78		n = 22			n = 186		n = 36		
koncentrace triglyceridů v séru > 1,7 mmol/l	4	5 %	5	23 %	p = 0,0230	9	5 %	4	11 %	ns
koncentrace HDL-cholesterolu < 1 mmol/l	8	10 %	4	18 %	ns	2	1 %	1	3 %	ns
koncentrace Lp(a) v séru > 300 mg/l	26	33 %	14	64 %	p = 0,0107	42	23 %	17	47 %	p = 0,0030
koncentrace celkového cholesterolu v séru > 6,2 mmol/l	4	5 %	3	14 %	ns	11	6 %	4	11 %	ns
koncentrace celkového cholesterolu v séru > 5,2 mmol/l	20	26 %	6	26 %	ns	56	30 %	17	47 %	p = 0,0374
koncentrace LDL-cholesterolu v séru > 4,1 mmol/l	3	4 %	5	23 %	p = 0,0120	2	1 %	6	17 %	p = 0,0003
koncentrace LDL-cholesterolu v séru > 3,4 mmol/l	8	10 %	7	32 %	p = 0,0197	14	8 %	12	33 %	p = 0,0001

ns – statisticky nesignifikantní výsledek

prevalenci rizikové rodinné anamnézy na neinfekční civilizační choroby. Rizikovou rodinnou anamnézu má 47 % souboru a tato podskupina **je v průměru signifikantně méně zdatná** –  $p < 0,05$  (vyjádřeno v špičkové spotřebě kyslíku normované na věk a pohlaví) a má i vyšší diastolický krevní tlak ( $p < 0,05$ ) proti zbytku souboru.

### Renální funkce

Práci zabývajících se renálními funkcemi u pacientů v dlouhodobé remisi nefroblastomu není mnoho. Naše výsledky nejsou v zásadním rozporu s nálezy práce týkající se části našeho souboru [34], ani s nálezy z přehledné práce z této dekády, ukazující značně rozporné výsledky sledování ledvinných funkcí u pacientů v dlouhodobé remisi nefroblastomu [35]. Na základě rozporných literárních zdrojů i vlastních výsledků se domníváme, že u pacientů s NFB je nutná dlouhodobá observace renálních funkcí.

### Poruchy imunity

To, že u osob vyléčených z nefroblastomu se poruchy imunity vyskytovaly

méně často než u námi sledované skupiny vyléčených z Hodgkinovy choroby [36], nasvědčuje tomu, že poruchy buněčné imunity nalezené po ukončení léčby po terapii pro Hodgkinovu chorobu jsou patrně podmíněny spíše vlastním onemocněním či genetickou predispozicí než terapií. Prokázali jsme, že změny imunity nacházené u pacientů s Hodgkinovou chorobou přetrvávají i řady z nich i po vyléčení. Dosud diskutovaná otázkou je podíl poruch imunity na vzniku sekundárních malignit [36].

Překvapivým nálezem bylo časté snížení hemoglobinu [9,37]. Ve většině případů se jednalo o snížení normochromní, které bylo pouze hraniční (nad 100 g/l u žen a nad 120 g/l u mužů) a které nemělo závažnější klinické příznaky. Na rozdíl od stavu po transplantaci hematopoetických progenitorových buněk jsou změny krevního obrazu u vyléčených ze zhoubných nádorů za použití konvenčních dávek chemoterapie, pokud je nám známo, v literatuře popsány pouze v jedné polské publikaci [38].

### Závěr

Výsledky průřezové studie odhalily relativně velký počet méně závažných, klinicky zatím nepříliš alarmujících pozdních následků a zdravotních odchylek, které mohou v budoucnu závažně zhoršit zdravotní stav pacientů a kvalitu života v dlouhodobé remisi nefroblastomu. Kromě adekvátního schématu kontrol specialistou na pozdní následky onkologických onemocnění bude v budoucnu péče vyžadovat i větší zaměření na primární i sekundární prevenci civilizačních chorob. Pacienti v dlouhodobé remisi nefroblastomu vykazují ve srovnání s vrstevníky významně vyšší prevalenci rizikových faktorů v oblasti lipidového profilu, krevního tlaku i tělesné zdatnosti. Záření pacienti vykazují také vyšší četnost skoliózy a algických symptomů v důsledku funkčních poruch hybného systému.

Doporučujeme proto pro schéma sledování pacientů v dlouhodobé remisi následující postup:

**Při každé kontrole (po 1 roce do 10 let po ukončení léčby, dále každé 2 roky při příznivých nálezech) vyšet-**



**ření klinického stavu včetně krevního tlaku a percentilu BMI u pacientů pod 18 let a základní laboratorní vyšetření: krevní obraz, biochemismus (lipidový profil viz dále), moč biochemicky a sediment.**

**V případě alterace renálních parametrů – urea, kreatinin, kyselina močová, kvantitativní proteinurie – vyšetření glomerulární filtrace a tubulárních funkcí každý rok, u ostatních každé 3–4 roky.**

**Lipidový profil včetně lipoproteinu Lp(a) u rizikových pacientů (obezita, hypertenze, hyperglykemie, dyslipidemie) při každé kontrole, u ostatních jednorázově a po ukončení puberty.**

**Sonografické vyšetření břicha ob kontrolu, u pacientů po radioterapii pokadě.**

**U pacientů léčených antracyklino-vými cytostatiky ECHO 1krát za 5 let v případě, že mají normální nález 5 let po léčbě.**

**Pokud pacienti měli také zážené břicho, doporučujeme dlouhodobou fyzioterapeutickou péči, totéž pro všechny s progredujícími subjektivními obtížemi s počínajícími funkčními poruchami hybného systému.**

**Zátěžové vyšetření každých 5 let, u rizikových pacientů ob kontrolu.**

**Zajistit dobrou erudici v preventivním působení zdravého životního stylu z hlediska prevence civilizačních chorob, také s ohledem na rodinnou anamnézu pacienta.**

**Upozornit praktické lékaře na vyšší riziko hypertenze těchto pacientů.**

## Literatura

1. Tournade MF, Com-Nougué C, De Kraker J et al. International Society of Pediatric Oncology Nephroblastoma Trial and Study Committee. Optimal duration of preoperative therapy in unilateral and nonmetastatic Wilms' tumor in children older than 6 months: Results of the ninth International Society of Pediatric Oncology Wilms tumor trial and study. *J Clin Oncol* 2001; 19(2): 488–500.

2. Lemerle J, Voûte PA, Tournade MF et al. Pre-operative versus post-operative radiotherapy, single versus multi-

ple courses of actinomycin D in the treatment of Wilms' tumor. Preliminary results of a controlled clinical trial conducted by the International Society of Paediatric Oncology (SIOP). *Cancer* 1976; 38(2): 647–654.

3. Lemerle J, Voûte PA, Tournade MF et al. Effectiveness of pre-operative chemotherapy in Wilms' tumor: Results of an International Society of Pediatric Oncology (SIOP) clinical trial. *J Clin Oncol* 1983; 1(10): 604–609.

4. Tournade MF, Com-Nougué C, Voûte PA et al. Results of the Sixth International Society of Pediatric Oncology Wilms' Tumor Trial and Study: A risk-adapted therapeutic approach in Wilms' tumor. *J Clin Oncol* 1993; 11(6): 1014–1023.

5. D'Angio GJ, Evans AE, Breslow N et al. The treatment of Wilms' Tumor: Results of the National Wilms' Tumor Study. *Cancer* 1976; 38(2): 633–646.

6. D'Angio GJ, Evans AE, Breslow N et al. The treatment of Wilms' tumor: Results of the Second National Wilms' Tumor Study. *Cancer* 1981; 47(9): 2302–2311.

7. D'Angio JG, Breslow N, Beckwith JB et al. The treatment of Wilms' tumor: Results of the Third National Wilms' Tumor Study. *Cancer* 1989; 64(2): 466–479.

8. Green DM, Breslow NE, Beckwith JB et al. Comparison between single-dose and divided dose administration of dactinomycin and doxorubicin for patients with Wilms' tumor: A report from the National Wilms' Tumor Study Group. *J Clin Oncol* 1998; 16(1): 237–245.

9. Eckschlagler T, Radvanska J, Slaby K et al. Changes of blood count, lymphocyte subpopulations and immunoglobulin levels in nephroblastoma long term survivors. *Neoplasma* 2009; 56(1): 9–12.

10. Jenkins C, Layte R, Wright, L et al. The U.K. SF-36: An analysis an interpretation manual. Oxford: Health Services. Research Unit 1996.

11. First T, Skovranek J. Normal values of M-mode echocardiographic parameters in children. *Cesk Pediatr* 1984; 39(12): 699–708.

12. Appleton CP, Hatle LK. The Natural History of Left Ventricular Filling Abnormalities: Assessment by Two-Dimensional and Doppler Echocardiography. *Echocardiography* 1992; 9(4): 437–457.

13. Elbl L. Poškození srdce protinádorovou léčbou. 1. vyd. Praha: Grada Publishing 2002.

14. Niederle P, Aschermann M, Elbl L et al (eds). *Echokardiografie*. Praha: Triton 2002.

15. Rate WR, Butler MS, Robertson WW et al. Late orthopedic effects in children with Wilms' tumor treated with abdominal irradiation. *Med Pediatr Oncol* 1991; 19(4): 265–268.

16. Mäkiperna A, Koskimies O, Jääskeläinen J et al. Renal growth and function 11–28 years after treatment of Wilms' tumour. *Eur J Pediatr* 1991; 150(6): 444–447.

17. Finklestein JZ, Norkool P, Green DM et al. Diastolic hypertension in Wilms' tumor survivors: a late effect of treatment? A report from the National Wilms' Tumor Study Group. *Am J Clin Oncol* 1993; 16(3): 201–205.

18. Carli M, Frascella E, Tournade MF et al. Second malignant neoplasms in patients treated on SIOP Wilms tumour studies and trials 1, 2, 5, and 6. *Med Pediatr Oncol* 1997; 29(4): 239–244.

19. Benoist MR, Lemerle J, Jean R et al. Effects of pulmonary function of whole lung irradiation for Wilms' tumour in children. *Thorax* 1982; 37(3): 175–180.

20. Evans AE, Norkool P, Evans I et al. Late effects of treatment for Wilms' tumor. A report from the National Wilms' Tumor Study Group. *Cancer* 1991; 67(2): 331–336.

21. Breslow NE, Ou SS, Beckwith JB et al. Doxorubicin for favorable histology, Stage II–III Wilms tumor: results from the National Wilms Tumor Studies. *Cancer* 2004; 101(5): 1072–1080.

22. Paulino AC, Wen BC, Brown CK et al. Late effects in children treated with radiation therapy for Wilms' tumor. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2000; 46(5): 1239–1246.

23. Oeffinger KC, Eshelman DA, Tomlinson GE et al. Grading of late effects in young adult survivors of childhood cancer followed in an ambulatory adult setting. *Cancer* 2000; 88(7): 1687–1695.

24. Kobesova A, Morris CE, Lewit K et al. Twenty-year-old pathogenic „active” postsurgical scar: a case study of a patient with persistent right lower quadrant pain. *J Manipulative Physiol Ther* 2007; 30(3): 234–238.

25. Lewit K, Olsanska S. Clinical importance of active scars: abnormal scars as a cause of myofascial pain. *J Manipulative Physiol Ther* 2004; 27(6): 399–402.

26. Kolář P, Lewit K. Význam hlubokého stabilizačního systému v rámci vertebrogenních obtíží. *Neurologie pro praxi* 2005; 6(5): 270–275.

27. Kolář P. Vertebrogenní obtíže a stabilizační funkce svalů – diagnostika. *Rehabilitace a fyzikální lékařství* 2006; 13(4): 155–170.

28. Mladosievičová B, Kaiserová E, Foltinová A et al. Dlhodobé nežiaduce účinky terapie u pacientov vyliečených z detskej malignity. *Klin Onkol* 2007; 20(1): 18–22.

29. Kasiske BL, Ma JZ, Louis TA et al. Long-term effects of reduced renal mass in humans. *Kidney Int.* 1995; 48(3): 814–819.

30. Seeman T. Arterial hypertension in children and adolescents. *Cas Lek Cesk* 2006; 145(8): 625–632; discussion 632–634.

31. National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Children and Adolescents. The fourth report on the diagnosis, evaluation, and treatment of high blood pressure in children and adolescents. *Pediatrics* 2004; 114(2 Suppl 4th Report): 555–576.

32. Nawrot TS, Hoppenbrouwers K, Den Hond E et al. Prevalence of hypertension, hypercholesterolemia, smoking and overweight in older Belgian adolescents. *Eur J Public Health* 2004; 14(4): 361–365.

33. Antal M, Nagy K, Regoly-Mérei A et al. Assessment of cardiovascular risk factors among Hungarian university students in Budapest. *Ann Nutr Metab* 2006; 50(2): 103–107.

34. Janda J, Koutecky J, Lukes M et al. The solitary kidney in patients after nephrectomy in Wilms' tumor. *Cesk Pediatr* 1993; 48(10): 577–580.

35. Bailey S, Roberts A, Brock C et al. Nephrotoxicity in survivors of Wilms' tumours in the North of England. *Br J Cancer* 2002; 87(10): 1092–1098.

36. Eckschlagler T, Prusa R, Hladikova M et al. Lymphocyte subpopulations and immunoglobulin levels in Hodgkin's disease survivors. *Neoplasma* 2004; 51(4): 261–264.

37. Eckschlagler T, Radvanska J, Slaby K et al (eds). Změny krevního obrazu, hladin imunoglobulinů a lymfocytárních subpopulací u osob vyléčených z nádorů dětského věku. Edukační sborník, XXX. Brněnské onkologické dny; 2008.

38. Pawlicki M, Zuchowska-Vogelgesang B, Ziobro M et al. Late hematologic status after chemotherapy observed in patients 3 to 10 years after treatment. *Przegl Lek* 1995; 52(7): 344–346.

# Změny cílových objemů při použití magnetické rezonance pro plánování radioterapie lůžka prostaty – předběžné výsledky

## Changes in Target Volumes Definition by Using MRI for Prostate Bed Radiotherapy Planning – Preliminary Results

Šefrová J.<sup>1</sup>, Paluska.<sup>1</sup>, Odrážka K.<sup>2,3,4,5</sup>, Bělobrádek Z.<sup>6</sup>, Hoffmann P.<sup>6</sup>, Prošvic P.<sup>7</sup>, Brodák M.<sup>8</sup>, Louda M.<sup>8</sup>, Mačingová Z.<sup>1</sup>, Vošmik M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Klinika onkologie a radioterapie, FN Hradec Králové

<sup>2</sup> Multiscan s.r.o., Oddělení klinické a radiační onkologie, Pardubická krajská nemocnice, a.s., Pardubice

<sup>3</sup> Onkologická klinika 1. LF UK a VFN, Praha

<sup>4</sup> Radioterapeutická a onkologická klinika 3. LF UK, Praha

<sup>5</sup> Katedra radiační onkologie, IPVZ Praha

<sup>6</sup> Radiologická klinika, FN Hradec Králové

<sup>7</sup> Urologické oddělení, Oblastní nemocnice Náchod a.s., Náchod

<sup>8</sup> Urologická klinika, FN Hradec Králové

### Souhrn

**Východiska:** Magnetická rezonance (MRI) je používána již celkem rutinně pro plánování primární radioterapie karcinomu prostaty, protože poskytuje kontrastnější zobrazení měkkých tkání malé pánve než plánovací CT, díky čemuž umožňuje přesnější zakreslení cílových objemů a tím i šetření okolních rizikových orgánů. Ověřovali jsme, zda lze MRI použít analogicky i v plánování radioterapie lůžka prostaty. **Soubor pacientů a metody:** Do studie bylo zařazeno celkem 21 pacientů indikovaných k ozáření lůžka prostaty. Zde přinášíme předběžné výsledky u 10 z nich. Čtyři pacienti byli indikováni k adjuvantní radioterapii, šest k záchranné radioterapii. Všem bylo kromě standardního plánovacího CT provedeno vyšetření MRI ve stejné poloze. V CT, T1 a T2 MRI byly zakresleny cílové objemy a rizikové orgány – klinický cílový objem (CTV), plánovací cílový objem (PTV), močový měchýř a rektum. Na základě fúze obrazů byly objemy zakreslené v MRI přeneseny do plánovacího CT, kde probíhalo vyhodnocení. Hodnoceny byly objemy jednotlivých struktur, shoda v zakreslení pomocí poměru sjednocení/průnik a pomocí Cohena koefficientu a prostorové odchylky mezi objemy CTV na CT, T1 a T2 MRI. **Výsledky:** Objemy CTV a PTV se statisticky významně neliší. Objem rekta je na MRI signifikantně menší na T1 i T2 vážených obrazech. Index shody (sjednocení/průnik) je statisticky významně odlišný od 1 pro CTV i PTV. Kappa koeficienty značí průměrnou shodu pro CTV na CT a T1, T1 a T2, podprůměrnou shodu pro CTV CT a T2, podstatnou shodu pro PTV. Ve směru superiorním a superolaterálním je objem CTV na MRI v centrální rovině zakreslen menší na T1 i T2 vážených obrazech. V oblasti semenných váčků (SV) je kranální hranice stejná na CT i MRI. Ve směru superioposteriorním je objem CTV na CT menší než na T1 i T2 MRI, což znamená, že semenné váčky jsou na MRI zakresleny větší směrem dozadu (o 0,24 cm na T1, o 0,20 cm na T2). Ve směru posteriorním se neliší CTV CT a T1, kdežto CTV T2 je v tomto směru zakreslen větší (odchylka 0,29 cm). Ve směru posterolaterálním je oboustranně, vpravo i vlevo, menší objem na T1 MRI než na CT. **Závěr:** Předběžné výsledky naznačují, že klinický cílový objem definovaný pomocí MRI je posunut vůči objemu definovanému na plánovacím CT. Shoda v zakreslení CTV jedním radiačním onkologem je průměrná až podprůměrná a odpovídá přibližně shodě v zakreslení lůžka prostaty více pozorovateli v plánovacím CT. MRI poskytuje kontrastnější zobrazení přední stěny rekta, kde jsme potvrdili největší rozdíly v zakreslení. Dále poskytuje lepší zobrazení lokálních recidiv a semenných váčků, kde se v našem souboru též vyskytly největší rozdíly ve srovnání s plánovacím CT.

### Klíčová slova

nádory prostaty – radioterapie – plánování radioterapie – magnetická rezonance – klinický cílový objem

Článek vznikl za podpory Grantové agentury Univerzity Karlovy pod číslem 104909.

This work was supported by the Charles University Grant Agency under grant No. 104909.

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

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

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

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



MUDr. Jana Šefrová

Klinika onkologie a radioterapie

FN Hradec Králové

Sokolská 581

500 05 Hradec Králové

e-mail: sefrova@fnhk.cz

Obdrženo/Submitted: 13. 4. 2010

Přijato/Accepted: 20. 5. 2010

## Summary

**Backgrounds:** Magnetic resonance imaging (MRI) is used quite routinely in radiotherapy treatment planning in the primary radiotherapy of prostate cancer as it provides more contrast imaging of soft tissues in the small pelvis than planning CT, thanks to which it allows more exact delineation of target volumes and thus the saving of organs at risk. We tried to verify whether it is possible to use MRI by analogy in the planning of prostate bed radiotherapy. **Patients and Methods:** Twentyone patients indicated for prostate bed radiotherapy were considered in this study. Here we present the preliminary results of 10 of them. Four patients were indicated for adjuvant, 6 for salvage radiotherapy. All the patients underwent, besides standard planning CT, MRI in the same position. Target volumes and organs at risk were delineated into CT, T1 and T2 MRI images – clinical target volume (CTV), planning target volume (PTV), urinary bladder and rectum. Based on the merging of images, the volumes delineated in MRI were copied into planning CT, where the evaluation was done. We evaluated the volumes of each structure, agreement in contouring with the help of the rate of union and intersection of the volumes and with Cohen's kappa, and 3D differences between volumes of CTV on CT, T1 and T2 MRI. **Results:** Statistically, volumes of CTV and PTV are not significantly different. The volume of the rectum is significantly smaller on T1 and also T2 MRI images. The index of agreement (union/intersection) is statistically significantly different from 1 for CTV and PTV as well. Cohen's kappa indicates moderate agreement for CTV CT and T1, T1 and T2 MRI, fair agreement for CTV CT and T2 MRI, and substantial agreement for PTV. In the superior and superolateral direction, the CTV volume on MRI in the central plane is smaller on T1 and T2 images. In the area of seminal vesicles (SV) the cranial border is similar on CT and MRI. In the superoposterior direction, the volume of CTV is smaller on CT than on T1 and T2 MRI, which means, that seminal vesicles are delineated larger in the posterior direction on MRI (about 0.24 cm on T1; by about 0.20 cm on T2 images). In the posterior direction, there are no differences in CTV on CT and T1 while on T2 the CTV is larger (a difference of 0.29 cm). In the posterolateral direction, CTV is smaller on T1 MRI than on CT on both sides, on the right as well as on the left. **Conclusion:** Preliminary results suggest that clinical target volume defined with the help of MRI is shifted compared with CTV defined on planning CT. The agreement of CTV delineation by one radiation oncologist is moderate to fair and is similar to interobserver variability in the contouring of the prostate bed in the planning CT. MRI provides more contrast imaging of the anterior rectal wall, where we have confirmed the most differences in contouring. Moreover, it provides better imaging of local recurrences and seminal vesicles, where the most differences in our group of patients were seen in comparison with planning CT.

## Key words

prostate cancer – radiotherapy – radiotherapy planning – magnetic resonance imaging – clinical target volume

## Východiska

Magnetická rezonance (MRI) je celkem standardně používána v plánování primární radioterapie karcinomu prostaty, protože oproti CT vyšetření poskytuje kontrastnější zobrazení měkkých tkání a díky tomu i přesnější zakreslení klinického cílového objemu (clinical target volume – CTV) i rizikových orgánů [1–3]. Je prokázáno, že objem zakreslený pomocí MRI je menší než objem zakreslený pomocí plánovacího CT [2,4]. Variabilita v zakreslení na MRI je menší než variabilita zakreslení na CT, a to především v oblasti apexu prostaty a při konturování přední stěny rekta [2,5,6]. V plánování radioterapie po radikální prostatektomii (RP) se MRI využívá k lokalizaci vezikouretrální anastomózy, která je dobře viditelná zejména na sagitálních T2 vážených řezech [7].

Nález na MRI po radikální prostatektomii se od stavu před operací odlišuje více než pouhou nepřítomností předstojné žlázy. Baze močového měchýře se posouvá kaudálně a dopředu na místo resekované prostaty. V různé míře nacházíme zbytky semenných váčků a ductus deferens, které se zobrazují s nízkým nebo středním signálem na T1 i T2 MRI. V místě přední stěny rekta se často zob-

razuje fibrotická tkáň jakožto lineární okrsek s nízkým signálem na T1 i T2 MRI. Stejně se zobrazuje fibróza v oblasti vezikouretrální anastomózy. Po podání gadolinia při absenci recidivy nedochází v oblasti lůžka k žádné opacifikaci v arteriální fázi a jen výjimečně k slabé opacifikaci ve fázi venózní. Někdy se objevuje reziduální prostatická tkáň, která může imitovat recidivu/perzistenci. Zobrazuje se na T2 MRI jakožto homogenní okrsek tvaru prostaty, většinou v oblasti anastomózy, na T2 se středním, na T1 s nízkým signálem [8].

Na základě zkušeností z plánování primární radioterapie karcinomu prostaty jsme se pokusili ověřit, zda použití MRI bude mít vliv na velikost cílového objemu také při plánování radioterapie lůžka prostaty po radikální prostatektomii, případně ve kterých oblastech se klinický cílový objem zakreslený na CT liší od CTV zakresleného na MRI. Pokud je autorům známo, není problematika využití MRI pro plánování ozáření lůžka prostaty v literatuře popsána.

## Materiál a metody

### Soubor pacientů

Do studie bylo zařazeno celkem 21 mužů s karcinomem prostaty indikovaných k pooperační radioterapii, kteří neměli

kontraindikace provedení MRI a s vyšetřením vyslovili souhlas. Zde přinášíme předběžné výsledky vyhodnocení u 10 pacientů. Charakteristiku souboru shrnuje tab. 1. Průměrný věk pacientů byl 65 let, 4 pacienti byli indikováni k adjuvantní radioterapii, 6 pacientů k záchranné radioterapii pro biochemický relaps. Průměrné Gleason skóre bylo 6 (6–9), prostatický specifický antigen (PSA) před operací 7,8 ng/ml (3,5–14,3, medián 8,3 ng/ml), PSA před ozářením 0,7 ng/ml (0,2–2,6, medián 0,4 ng/ml). Devět z deseti pacientů podstoupilo transrektální ultrasonografii (TRUS) k potvrzení či vyloučení makroskopicky viditelné recidivy/perzistence. Jeden pacient pro bolestivou reakci nebyl vyšetřen ani fyzikálně, ani ultrasonograficky.

### Postup vyšetření a zakreslení objemů

Pacientům bylo provedeno standardní plánovací CT v supinační poloze s fixační podložkou pod nohy na přístroji Siemens Somatom Sensation Open (Siemens AG, Erlangen, Německo) se získáním transverzálních řezů o síle 3 mm. Následně ve stejné poloze podstoupili MRI na přístroji Siemens Magnetom Symphony 1.5 T (Siemens AG, Erlangen, Německo) s akvizicí T1 a T2 vážených

**Tab. 1. Charakteristika souboru pacientů.**

Č.	Věk	Stadium	GS	PSAi	PSAr	Důvod	TRUS	Palpace	CT	MRI
1	62	pT2apN0M0	4	9,4	0,2	R	+	+	+	+
2	73	pT2cpN0M0	6	4,2	0,1	R	+	-	+	+
3	70	pT2aN0M0	6	5,2	0,2	R	+	-	-	-
4	69	pT2cpN0M0	9	8,7	0,3	R	+	+	+	+
5	69	pT2cNxM0	6	8,0	2,6	A	neprovedeno	neprovedeno	+	+
6	67	pT2cNxM0	6	9,5	0,4	A	+	+	+	+
7	63	pT2cpN0M0	6	9,8	0,2	R	+	+	+	+
8	58	pT3apN0M0	6	3,5	0,8	R	+	-	-	-
9	63	pT3bpN0M0	6	5,8	1,3	A	+	-	+	+
10	59	pT3apN0M0	6	14,3	0,6	A	+	+	+	+

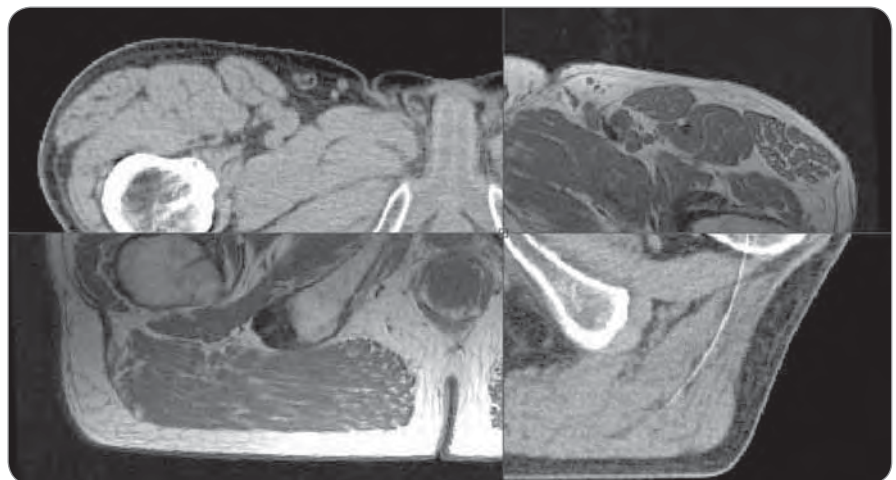
Věk – věk v době radioterapie, GS – Gleason skóre, PSAi – iniciační prostatický specifický antigen před operací v ng/ml, PSAr – prostatický specifický antigen před zahájením radioterapie v ng/ml, důvod k radioterapii: R – relaps, A – adjuvance, TRUS – transrektální ultrasonografie. CT – plánovací počítačová tomografie, MRI – magnetická rezonance. Viditelnost recidivy/perzistence/reziduální prostatické tkáně na zobrazovacích metodách a pozitivní nález při fyzikálním vyšetření označen +; bez nálezu při fyzikálním vyšetření nebo na zobrazovacích metodách označeno –.

obrazů v transverzálních řezech, taktéž o síle 3 mm. Vyšetření MRI bylo provedeno průměrně jednu hodinu po CT.

Fúze obrazů byla provedena v plánovací systému Eclipse pomocí softwaru ARIA Radiation Oncology (Varian Medical Systems, Palo Alto, Kalifornie, USA) na základě vzájemné registrace pěti bodů umístěných na měkké tkáni v páni, zejména v okolí lůžka prostaty (obr. 1). Fúze byla provedena s průměrnou střední odchylkou 1,01 mm pro T1, 1,06 mm pro T2, s maximální průměrnou odchylkou 1,39 mm a 1,40 mm pro T1 a T2 MRI.

Zakreslení cílových objemů i rizikových orgánů bylo provedeno u všech subjektů jedním radiačním onkologem, nejprve do plánovacího CT, následně do T1 a T2 MRI, poté byly všechny objemy na základě provedené fúze obrazů překopírovány do plánovacího CT, kde probíhalo vyhodnocení.

Pro zakreslení klinického cílového objemu jsme zvolili doporučení European Organisation for Research and Treatment of Cancer (EORTC) [9] s následnou úpravou objemu v zadní části kolem rektu a bez rozšiřování v místě pozitivních okrajů nebo extrakapsulární extenze, a to hlavně z důvodu heterogeneity patologických popisů, kde směr pozitivních okrajů není spolehlivě popsán u všech pacientů. V případě viditelné recidivy/perzistence byla tato za-



**Obr. 1. Fúze plánovacího CT s T1 magnetickou rezonancí, odpovídající uložení svalů dna pánevního, bulbus penis a rektu. Neodpovídající uložení pohyblivějších struktur – obrysů těla a hlavic stehenních kostí.**

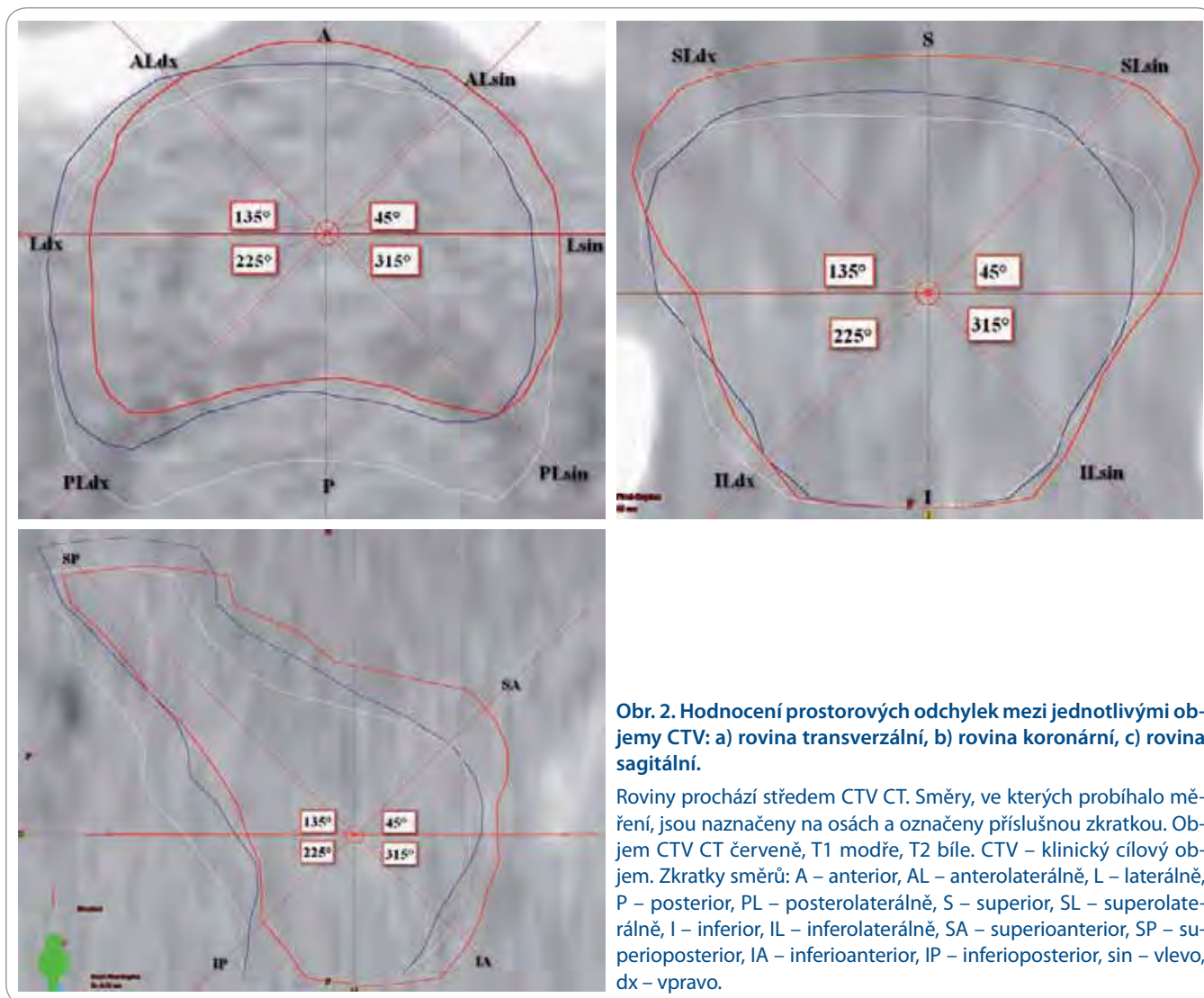
hrnuta do CTV, stejně jako reziduální semenné včky (SV).

Plánovací cílový objem (planning target volume – PTV) byl vytvořen symetrickým lemem 10 mm ve všech směrech, močový měchýř a rektum jsme zakreslovali 10 mm nad a 10 mm pod hranice PTV.

#### Vyhodnocení výsledků

Hodnocení probíhalo v plánovacím CT za pomoci plánovacího systému Eclipse, software ARIA Radiation Oncology (Varian Medical Systems, Palo Alto, Kalifor-

nie, USA). Hodnotili jsme objemy jednotlivých zakreslených struktur – CTV, PTV, rektu a močového měchýře, odlišnost objemů jednovýběrovým t-testem poměru objemů na CT a T1, případně CT a T2, dále shodu v zakreslení mezi CT, T1 a T2 MRI, a to dvěma způsoby. Jednak pomocí indexu shody, který je dán poměrem mezi sjednocením a průnikem dvou porovnávaných objemů, kde hodnota 1 značí absolutní shodu, jednak pomocí Cohenova kappa koeficientu [10], u něž hodnota 1 značí také absolutní



Obr. 2. Hodnocení prostorových odchylek mezi jednotlivými objemy CTV: a) rovina transverzální, b) rovina koronární, c) rovina sagitální.

Roviny prochází středem CTV CT. Směry, ve kterých probíhalo měření, jsou naznačeny na osách a označeny příslušnou zkratkou. Objem CTV CT červeně, T1 modře, T2 bíle. CTV – klinický cílový objem. Zkratky směrů: A – anterior, AL – anterolaterálně, L – laterálně, P – posterior, PL – posterolaterálně, S – superior, SL – superolaterálně, I – inferior, IL – inferolaterálně, SA – superioanterior, SP – superioposterior, IA – inferioanterior, IP – inferioposterior, sin – vlevo, dx – vpravo.

Tab. 2. Objemy jednotlivých struktur na plánovacím CT, T1 a T2 vážených obrazech MRI.

objem v cm <sup>3</sup>	CTV			PTV			Rektum			Močový měchýř		
	CT	T1	T2	CT	T1	T2	CT	T1	T2	CT	T1	T2
minimum	22,7	18,5	21,8	104,8	104,3	102,2	38,6	25,0	23,1	66,7	52,4	49,8
maximum	43,6	45,2	49,2	192,7	189,5	200,0	196,7	122,1	113,7	134,4	132,0	129,7
průměr	35,6	33,8	36,5	145,8	143,1	147,7	77,8	57,9	55,4	91,0	107,8	96,3
SD	6,4	9,3	9,8	24,2	30,3	31,7	46,7	31,2	31,8	24,5	27,2	24,3

CTV – klinický cílový objem, PTV – plánovací cílový objem, SD – výběrová směrodatná odchylka průměru.

shodu, hodnoty záporné značí shodu náhodnou a pro hodnoty v intervalu 0–1 jsme využili interpretační tabulku dle Landise a Kocha [11]. Pro prostorové vyhodnocení jsme měřili odchylky mezi jednotlivými objemy CTV (CTV CT vůči CTV T1 a CTV CT vůči CTV T2) ve

třech rovinách, jejichž střed byl zvolen ve středu CTV CT, celkem v 18 směrech (obr. 2a–c).

### Výsledky

Zobrazitelná recidiva/perzistence, případně reziduální tkáň prostaty, byla

prokázána u všech 10 pacientů. U 9 pacientů na TRUS, u jednoho, který TRUS nepodstoupil, na plánovacím CT i MRI. Fyzikální vyšetření bylo pozitivní pouze u pěti pacientů.

Objemy CTV ani PTV se na CT, T1 a T2 vážených obrazech statisticky vý-

**Tab. 3. Poměr objemů CTV, PTV, rekta a močového měchýře na jednotlivých zobrazeních. Hodnota 1 odpovídá absolutní shodě.**

poměr	CTV			PTV			Rektum			Močový měchýř		
	T1/CT	T2/CT	T1/T2	T1/CT	T2/CT	T1/T2	T1/CT	T2/CT	T1/T2	T1/CT	T2/CT	T1/T2
minimum	0,66	0,84	0,79	0,82	0,88	0,90	0,59	0,54	0,85	0,76	0,72	1,00
maximum	1,26	1,21	1,29	1,21	1,14	1,18	1,01	1,04	1,19	1,75	1,64	1,25
průměr	0,94	1,01	0,93	0,98	1,01	0,97	0,75	0,72	1,06	1,23	1,09	1,12
SD	0,17	0,11	0,15	0,11	0,08	0,08	0,13	0,15	0,10	0,37	0,30	0,08

CTV – klinický cílový objem, PTV plánovací cílový objem, SD – výběrová směrodatná odchylka průměru, T1/CT – poměr objemů na T1 vážené MRI a plánovacím CT, T2/CT – poměr objemů na T2 vážené MRI a plánovacím CT, T1/T2 – poměr objemů na T1 a T2 vážené MRI.

**Tab. 4. Indexy shody (poměr sjednocení a průniku) pro CTV a PTV.**

	CTV			PTV		
	index CT/T1	index CT/T2	index T1/T2	index CT/T1	index CT/T2	index T1/T2
průměr	1,51	1,61	1,46	1,26	1,29	1,23
medián	1,53	1,5	1,45	1,28	1,26	1,22
minimum	1,19	1,23	1,17	1,11	1,12	1,12
maximum	1,79	2,11	1,9	1,33	1,48	1,41
SD	0,18	0,3	0,2	0,08	0,11	0,08

CTV – klinický cílový objem, PTV – plánovací cílový objem, SD – výběrová směrodatná odchylka průměru.

**Tab. 5. Cohenův kappa koeficient pro CTV a PTV.**

Cohenův kappa koeficient	CTV			PTV		
	kappa CT/T1	kappa CT/T2	kappa T1/T2	kappa CT/T1	kappa CT/T2	kappa T1/T2
minimum	0,21	-0,11	0,10	0,67	0,52	0,59
maximum	0,81	0,77	0,83	0,89	0,88	0,88
průměr	0,49	0,39	0,54	0,74	0,71	0,77
SD	0,18	0,30	0,20	0,08	0,11	0,08

SD – výběrová směrodatná odchylka průměru, CTV – klinický cílový objem, PTV – plánovací cílový objem, kappa CT/T1 – Cohenův kappa koeficient pro porovnání plánovacího CT a T1 vážené MRI, kappa CT/T2 – Cohenův kappa koeficient pro porovnání plánovacího CT a T2 vážené MRI, kappa T1/T2 – Cohenův kappa koeficient pro porovnání T1 a T2 váženého obrazu MRI.

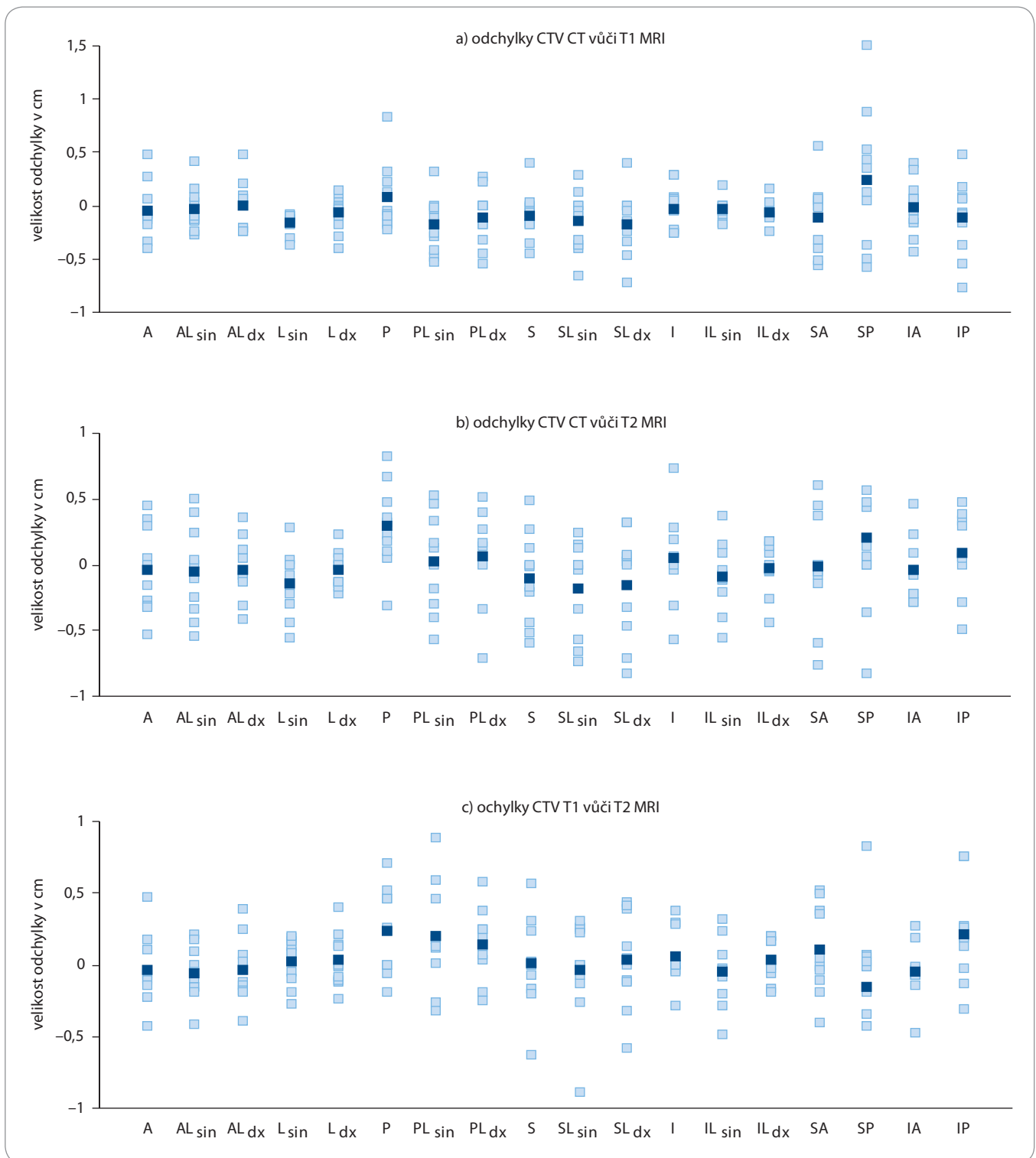
znamně neliší. Objem močového měchýře je signifikantně větší na T1 než na CT ( $p = 0,0397$ ), na T2 se statisticky významně neliší. Objem rekta je statisticky významně menší na T1 i T2 MRI oproti CT (pro T1 i T2  $p < 0,001$ ) – viz tab. 2 a 3. Objem CTV CT je průměrně  $35,6 \pm 6,4 \text{ cm}^3$ , CTV T1  $33,8 \pm 9,3 \text{ cm}^3$ , CTV T2  $36,5 \pm 9,8 \text{ cm}^3$ . Objem PTV CT je  $145 \pm 24,2 \text{ cm}^3$ , PTV T1  $143,1 \pm 30,3 \text{ cm}^3$ , PTV T2  $147,7 \pm 31,7 \text{ cm}^3$ .

Index shody pro CTV CT/T1 je průměrně 1,51, pro CT/T2 1,61, pro T1/T2 1,46. Pro PTV jsou průměrné hodnoty indexů 1,26, 1,29 a 1,23 (tab. 4).

Cohenův kappa koeficient pro zakreslení CTV na plánovací CT a T1 váženém obrazu MRI je  $0,49 \pm 0,18$ , což dle interpretační tabulky autorů Landise a Kocha značí průměrnou shodu. Kappa pro CT a T2 je  $0,39 \pm 0,30$ , což znamená shodu podprůměrnou. Kappa pro porovnání

shody zakreslení na T1 a T2 váženém obrazu MRI je  $0,54 \pm 0,20$ , což značí průměrnou shodu. Kappa koeficient pro PTV se pohybuje pro všechny porovnávané objemy v oblasti značící podstatnou shodu v zakreslení (CT/T1 0,74, CT/T2 0,71 a T1/T2 0,77) – viz tab. 5.

Prostorové odchylky shrnuje graf 1. Vzhledem k velikosti objemu a nepřesnosti zakreslení se dále zmiňujeme pouze o odchylkách větších než 0,10 cm.



**Graf 1. Prostorové odchylky.**

Odchylky mezi jednotlivými objemy CTV v 18 zvolených směrech ve třech rovinách se středem ve středu CTV CT. Pozitivní hodnota znamená, že v daném směru je objem na T1 MRI větší než na CT (graf a), na T2 MRI větší než na CT (graf b), na T2 MRI větší než na T1 MRI (graf c). Negativní hodnota znamená, že objem je v daném směru menší. Tmavomodře zobrazena průměrná odchylka.

a – odchylka mezi CTV CT a CTVT1, b – odchylka mezi CTV CT a CTVT2, c – odchylka mezi CTVT1 a CTVT2, CTV CT – klinický cílový objem na plánovacím CT, CTVT1 – klinický cílový objem na T1 váženém obraze MRI, CTVT2 – klinický cílový objem na T2 váženém obraze MRI. Zkratky směrů: A – anterior, AL – anterolaterálně, L – laterálně, P – posterior, PL – posterolaterálně, S – superior, SL – superolaterálně, I – inferior, IL – inferolaterálně, SA – superioanterior, SP – superioposterior, IA – inferioanterior, IP – inferioposterior, sin – vlevo, dx – vpravo.

Největší rozdíly jsou ve směru kraniálním, posteriorním, posterolaterálním a superioposteriorním (směry viz obr. 2). Kraniálně je objem na CT ve zvolených rovinách o 1–2 mm větší než na T1 i T2 vážených obrazech MRI. V oblasti semenných váčků je kraniální hranice totožná na CT i MRI. Ve směru superioposteriorním je objem na CT menší než na T1 i T2 MRI, což znamená, že semenné váčky jsou na MRI zakresleny větší směrem dozadu (o 0,24 cm na T1, o 0,20 cm na T2). Ve směru posteriorním kontura CTV CT přibližně odpovídá kontuře CTV T1, kdežto objem CTV T2 je v tomto směru zakreslen větší (odchylka 0,29 cm). Ve směru posterolaterálním je oboustranně, vpravo i vlevo, menší objem na T1 MRI než na CT.

## Diskuze

Definice CTV lůžka prostaty je problematická vzhledem k časté absenci zobrazitelné recidivy, zvláště u pacientů indikovaných k adjuvantní radioterapii. MRI má pro zobrazení recidivy/perzistence vysokou senzitivitu i specifitu, a to zejména MRI s endorektální cívkou [12,13]. V našem souboru deseti pacientů byla recidiva/perzistence/reziduální prostatická tkáň na MRI viditelná u osmi, z nichž u všech byla viditelná i na plánovacím CT. Na transrektálním ultrazvuku byla recidiva popsána u všech devíti vyšetřených pacientů, jeden pacient, který nebyl pro bolestivost vyšetřen, měl pozitivní nález na MRI i CT.

Lůžko prostaty se vůči kostěným strukturám pohybuje obdobně jako prostata samotná. Z primární radioterapie karcinomu prostaty a odchylek nastavení je známo, že nastavení na kosti je méně přesné než nastavení na samotnou prostatu. Rozdíl může činit i více než 10 mm [14,15], proto jsme použili fúzi na měkké tkáni v oblasti lůžka prostaty, nikoliv fúzi na kostěné struktury. Ze studií primární radioterapie karcinomu prostaty je prokázáno, že vynecháním fúze, pokud se použije plánování a simulace přímo pomocí MRI, se sníží systematická chyba během všech frakcí ozáření z 3–4 mm na 2–3 mm [16].

Při plánování pomocí magnetické rezonance v primární radioterapii karcinomu prostaty je objem CTV zakres-

lený na CT významně větší než objem zakreslený na MRI [2,4]. V práci, kterou publikovali Roach et al [2], činí rozdíl objemu CTV průměrně 32 % (5–63 %), v práci Rasche et al [4] je poměr objemů 1,4; to znamená, že CTV je na CT průměrně o 40 % větší než na MRI, přičemž největší rozdíly jsou v oblasti baze a SV (8 mm) a v oblasti apexu (6 mm). Pro ozáření lůžka prostaty obdobná data zatím nejsou k dispozici. V našem souboru se objemy CTV zakreslené na CT a MRI statisticky významně neliší. Rozdílné je zakreslení močového měchýře, který je signifikantně větší na T1 než na CT, na T2 se statisticky významně neodlišuje. Rektum je na T1 i T2 MRI zakresleno menší než na CT. Důvodem může být kromě přesnější definice rekta na MRI i rozdílná náplň při plánovacích vyšetřeních, jejichž časový odstup byl průměrně jednu hodinu. Dále má jistě vliv i zvolený způsob zakreslení rizikových orgánů 10 mm nad a pod hranici PTV, která se ovšem na CT, T1 a T2 obrazech různí.

V primární radioterapii prostaty se diskrepance mezi CT a MRI objevuje především v zadní části prostaty, tj. rozdílné zakreslení přední stěny rekta na CT a MRI, v posterioinferiorní apikální části, v oblasti apexu, který je rozdílně definován na CT a MRI, a v oblasti neurovaskulárního svazku [2]. Podobné závěry vyplývají i ze studie, kterou publikovali Debois et al, kteří porovnávali variabilitu mezi jednotlivými lékaři v zakreslení prostaty na CT a MRI s využitím axiálních a koronárních řezů. Variabilita je největší v oblasti apexu, a to na CT 0,54–1,07 cm, na MRI je signifikantně menší, 0,17–0,25 cm. V definici přední stěny rekta jsou na MRI minimální rozdíly v průběhu celé jeho délky ( $0,09 \pm 0,02$  cm), kdežto na CT je poměrně stabilně zakresleno rektum v oblasti baze, u apexu se ale variabilita zvyšuje na 0,39 cm. Na CT se navíc objevuje tendence zahrnovat i neurovaskulární svazek [4]. Stejně tak potvrzují problematická místa v zakreslení na CT i Smith et al, kteří opět hodnotili interpersonální variabilitu, která je na CT významně větší než na MRI. Na CT byly rozdíly v zakreslení zadní kontury prostaty, čili opět odlišení od přední stěny rekta, na MRI naopak v zakreslení přední kontury [6].

V našem souboru jsou minimální rozdíly v definici přední a laterální hranice (pouze směrem doleva je objem CTV na T1 i T2 MRI menší než na CT), což může být dáno poměrně jasnou definicí lůžka prostaty v těchto směrech, kde ohraničení nepřesahuje do kosti, objem je zakreslován v horní části kolem stěny močového měchýře, v dolní části pak kolem uretry a laterálně je celkem zřetelně ohraničen musculus obturatorius internus, do kterého nezasahuje. V kaudálním směru, tj. v definici anastomózy, se v našem souboru neobjevily významné rozdíly mezi zakreslením na CT a MRI, ačkoliv na T2 vážených obrazech je anastomóza lépe definovatelná díky hyperintenznímu zobrazení náplně močového měchýře a dobře viditelnému bulbus penis. Na T2 vážených obrazech by mělo být i lepší ohraničení od tukové tkáně v oblasti přední části prostaty a apexu [17], které se ale při zakreslení lůžka prostaty v našem souboru neprojevovalo, což může být dáno posunutím tukové tkáně do původního místa prostaty [8], kde je pak tato zahrnuta do CTV na základě jeho definice pomocí jiných anatomických struktur. Mírný je rozdíl v inferioposteriorním směru, tj. v zadním ohraničení anastomózy směrem k rektu, kde na T1 je objem menší a na T2 MRI větší než na CT.

V definici zadní hranice hraje významnou roli, kromě přesnosti zakreslení, i náplň rekta. Jak ale vyplývá ze studií s primární radioterapií karcinomu prostaty [2,4,6], MRI poskytují kontrastnější zobrazení přední stěny rekta, a to v celém jeho průběhu. Oproti tomu na CT je přední stěna rekta špatně ohraničená od prostaty/lůžka v oblasti od apexu/anastomózy až po střední část žlázy/lůžka. V našem souboru bylo na T1 MRI zakreslení CTV menší ve směru posterolaterálním vpravo i vlevo, ve směru posteriorním se od zakreslení na CT téměř neliší. Na T2 MRI je naopak objem ve směru posteriorním větší než na CT, ve směru posterolaterálním zde není rozdíl. Porovnání T1 a T2 MRI tyto rozdíly potvrzuje. CTV T2 je ve směru posteriorním i posterolaterálním větší než CTV T1, čili rektum je na T2 MRI zakresleno menší. Podíl náplně rekta na rozdílu mezi T1 a T2 MRI by měl být minoritní, neboť oba skeny



T1 i T2 MRI byly získány najednou, v časovém rozmezí přibližně 10 minut a zakreslení je podobné u všech pacientů. Rozdíl může být způsoben kontrastnějším ohraničením rekta od okolní tukové tkáně na T2 MRI.

Semenné vácčky bývají přítomny až u 20 % pacientů po radikální prostatektomii [18], což je způsobeno rozdíly v chirurgickém přístupu. Ze studií primární radioterapie prostaty vyplývá, že zakreslení CTV v oblasti baze a SV je na CT větší než na MRI, kde je objem v této oblasti o 8 mm menší než na CT [4]. V našem souboru tomu odpovídá menší rozměr CTV na T1 i T2 MRI v kranialním i kraniolaterálním směru. Naopak ve směru superioposteriorním je objem na T1 i T2 MRI větší, to znamená, že oblast baze a zbytky semenných váčků jsou zakresleny více dozadu než na CT. Zde by důvodem opět mohlo být rozdílné zakreslení rekta na MRI a CT.

Indexy shody se pro CTV i PTV statisticky významně odlišují od jedné, což při stejné velikosti objemů znamená, že tyto jsou vůči sobě vzájemně posunuty. Hodnoty v našem souboru se pohybují v rozmezí 1,46–1,61. Pro porovnání uvádíme indexy shody v práci Rasche et al [4], kteří porovnávali variabilitu v zakreslení prostaty mezi více pozorovateli na CT a MRI.

Objem prostaty zakreslený na CT byl přibližně 1,5krát větší než na MRI, index shody mezi zakreslením na CT a MRI pro 3 zúčastněné pozorovatele byl 2,5, 2,3 a 2,6. Indexy pro rozdíly mezi jednotlivými pozorovateli byly 1,5 pro CT, transverzální a koronární MRI a 1,7 pro sagitální MRI.

Rozdílnost objemů v našem souboru podporují i hodnoty kappa koeficientů, které se pohybují od 0,39 do 0,54 a značí průměrnou až podprůměrnou shodu v zakreslení CTV, což je obdobná shoda, jakou pozorovali Michalski et al v zakreslení lůžka prostaty na CT více radiač-

ními onkology, kteří zakreslovali objem u dvou daných pacientů v rámci tvorby doporučení RTOG pro zakreslení lůžka prostaty [19].

Rozdíly indexů i kappa koeficientů pro PTV oproti CTV jsou způsobeny velikostí objemu. Největší odlišnosti jsou mezi CT a T2 MRI, nejmenší rozdíly nalezneme, jak lze předpokládat, mezi zakreslením na T1 a T2 MRI.

### Závěr

Předběžné výsledky našeho výzkumu naznačují, že klinický cílový objem definovaný pomocí MRI je posunut vůči objemu definovanému na plánovacím CT. Oba bezpečně zahrnují (na základě definice CTV a dobře provedené fúze) oblast nejčastějšího výskytu lokálních recidiv, tj. oblast kolem vezikouretrální anastomózy a krčku močového měchýře. Shoda v zakreslení CTV jedním radiačním onkologem je průměrná až podprůměrná, relativně obdobná jako shoda mezi více radiačními onkology, popisovaná v literatuře pro zakreslení samotné prostaty i lůžka prostaty, lepší než shoda mezi zakreslením prostaty na CT a MRI v primární radioterapii. MRI poskytuje kontrastnější zobrazení přední stěny rekta, kde jsme potvrdili největší rozdíly v zakreslení, analogické primární radioterapii karcinomu prostaty. Dále poskytuje lepší zobrazení lokálních recidiv a semenných váčků, kde se v našem souboru též vyskytly největší rozdíly ve srovnání s plánovacím CT.

### Literatura

1. Khoo VS, Padhani AR, Tanner SF et al. Comparison of MRI with CT for the radiotherapy planning of prostate cancer: a feasibility study. *Br J Radiol* 1999; 72(858): 590–597.
2. Roach M 3rd, Faillace-Akazawa P, Malfatti C et al. Prostate volumes defined by magnetic resonance imaging and computerized tomographic scans for three-dimensional conformal radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1996; 35(5): 1011–1018.
3. Villeirs GM, L Verstraete K, De Neve WJ et al. Magnetic resonance imaging anatomy of the prostate and periprostatic area: a guide for radiotherapists. *Radiother Oncol* 2005; 76(1): 99–106.

4. Rasch C, Barillot I, Reimeijer P et al. Definition of the prostate in CT and MRI: a multi-observer study. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1999; 43(1): 57–66.
5. Debois M, Oyen R, Maes F et al. The contribution of magnetic resonance imaging to the three-dimensional treatment planning of localized prostate cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1999; 45(4): 857–865.
6. Smith WL, Lewis C, Bauman G et al. Prostate volume contouring: a 3D analysis of segmentation using 3DTRUS, CT, and MR. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2007; 67(4): 1238–1247.
7. Wiltshire KL, Brock KK, Haider MA et al. Anatomic boundaries of the clinical target volume (prostate bed) after radical prostatectomy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2007; 69(4): 1090–1099.
8. Allen SD, Thompson A, Sohaib SA. The normal post-surgical anatomy of the male pelvis following radical prostatectomy as assessed by magnetic resonance imaging. *Eur Radiol* 2008; 18(6): 1281–1291.
9. Poortmans P, Bossi A, Vandeputte K et al. EORTC Radiation Oncology Group. Guidelines for target volume definition in post-operative radiotherapy for prostate cancer, on behalf of the EORTC Radiation Oncology Group. *Radiother Oncol* 2007; 84(2): 121–127.
10. Cohen J. A coefficient of agreement for nominal scales. *Educational and Psychological Measurement* 1960; 20(1): 37–46.
11. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 1977; 33(1): 159–174.
12. Sella T, Schwartz LH, Swindle PW et al. Suspected local recurrence after radical prostatectomy: endorectal coil MR imaging. *Radiology* 2004; 231(2): 379–385.
13. Silverman JM, Krebs TL. MR imaging evaluation with a transrectal surface coil of local recurrence of prostatic cancer in men who have undergone radical prostatectomy. *AJR Am J Roentgenol* 1997; 168(2): 379–385.
14. Meijer GJ, de Klerk J, Bzdusek K et al. What CTV-to-PTV margins should be applied for prostate irradiation? Four-dimensional quantitative assessment using model-based deformable image registration techniques. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2008; 72(5): 1416–1425.
15. Wong JR, Gao Z, Uematsu M et al. Interfractional prostate shifts: review of 1870 computed tomography (CT) scans obtained during image-guided radiotherapy using CT-on-rails for the treatment of prostate cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2008; 72(5): 1396–1401.
16. Nyholm T, Nyberg M, Karlsson MG et al. Systematization of spatial uncertainties for comparison between a MR and a CT-based radiotherapy workflow for prostate treatments. *Radiat Oncol* 2009; 4: 54.
17. McLaughlin PW, Narayana V, Drake DG et al. Comparison of MRI pulse sequences in defining prostate volume after permanent implantation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2002; 54(3): 703–711.
18. Sella T, Schwartz LH, Hricak H. Retained seminal vesicles after radical prostatectomy: frequency, MRI characteristics, and clinical relevance. *AJR Am J Roentgenol* 2006; 186(2): 539–546.
19. Michalski JM, Lawton C, El Naqa I et al. Development of RTOG consensus guidelines for the definition of the clinical target volume for postoperative conformal radiation therapy for prostate cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2010; 76(2): 361–368.

# Diseminovaný karcinóm prsníka u 28-ročného muža

## Metastatic Breast Cancer in 28 Years Old Man

Drahokoupilová M.

FNsP Milosrdní bratia, s. r. o, Bratislava, Slovenská republika

### Súhrn

**Východiska:** Rakovina prsníka u mužov predstavuje asi len 1 % všetkých malignít v mužskej populácii, priemerný vek pacientov v čase diagnózy je 68 rokov. V terapii sa používajú najmä postupy potvrdené v klinických štúdiách na ženách. **Prípad:** Prezentovaný je prípad 28-ročného muža s rakovinou prsníka iniciálne v štvrtom klinickom štádiu. **Výsledky:** Pacient bol liečený chemoterapiou s pridaním trastuzumabu, rádioterapiou, hormonálnou liečbou, pri progresii ochorenia opäť chemoterapiou s lapatinibom. 18 mesiacov po zahájení terapie pacient zomrel. **Záver:** Napriek vzostupu incidencie zostáva táto diagnóza zriedkavou a údaje o liečbe nie sú potvrdené v prospektívnych radnomizovaných štúdiách.

### Kľúčové slová

rakovina prsníka – muži – liečba

### Summary

**Backgrounds:** Male breast cancer only makes up about 1% of all malignancies in the male population; the median age at time of diagnosis is 68 years. The treatment procedures used in clinical practice are those confirmed by studies on women. **Case:** Presented is a case of a 28-year-old man with breast cancer in the fourth clinical stage. **Results:** The patient was treated with the addition of trastuzumab to chemotherapy, radiotherapy, hormone treatment, with disease progression with lapatinib added to chemotherapy. 18 months after initiation of therapy, the patient died. **Conclusion:** Despite the increase in incidence, male breast cancer remains a rare diagnosis and treatment data are not confirmed in prospective randomized studies.

### Key words

breast cancer – male – treatment

Autor deklaruje, že v súvislosti s predmetom studie nemá žiadne komerčné zájmy.

The author declare he has no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakčná rada potvrdzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.

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



MUDr. Miriam Drahokoupilová  
FNsP Milosrdní bratia, s. r. o  
Nám. SNP 10  
814 65 Bratislava  
Slovenská republika  
e-mail: drahokoupilova@yahoo.com

Obdrženo/Submitted: 18. 5. 2010

Přijato/Accepted: 15. 6. 2010

## Úvod

Rakovina prsníka u mužov predstavuje asi len 1 % všetkých malignít v mužskej populácii s incidenciou 1/100 000 ročne. Zo všetkých diagnostikovaných malignít prsníka to je len 0,6 % [1]. Za posledných 25 rokov došlo k vzostupu incidence o 26 %, napriek tomu táto diagnóza stále zostáva zriedkavou [2], a preto neexistujú dáta o liečebných postupoch potvrdené z prospektívnych randomizovaných klinických skúšaní.

Priemerný vek v čase diagnózy je 68 rokov, čo je o 5 rokov vyšší priemerný vek než u žien, aj keď v literatúre sú popisované prípady výskytu v rozpätí veku 5–93 rokov [3]. Pod 45 rokov sa karcinóm prsníka u mužov vyskytuje len veľmi zriedkavo. Incidencia rastie s vekom a dosahuje plateau vo veku okolo 80 rokov [4].

V podstate všetky histologické typy rakoviny prsníka popisované u žien sa vyskytujú aj u mužov. Infiltratívny ductálny karcinóm je najbežnejšie sa vyskytujúcou formou invazívneho karcinómu prsníka, u mužov sa najčastejšie vyskytuje subareolárne a vychádza z hlavného ductu [2]. Stanovenie diagnózy infiltratívneho ductálneho karcinómu je exklúzne, tento tumor je definovaný ako histologický typ rakoviny, ktorá nie je klasifikovaná do žiadnej ďalšej presne určenej podskupiny invazívneho karcinómu prsníka, ako napríklad lobulárny, tubulárny, mucinózny, medulárny alebo iný histologický podtyp [6].

Expresia hormonálnych estrogénových a progesterónových receptorov u mužov je vyššia ako u žien, približne 90 % tumorov exprimuje estrogénové a 81 % progesterónové receptory. Miera hormonálnej pozitivity sa zvyšuje s vekom pacienta [7]. Úloha androgénových receptorov v rakovine prsníka u mužov je nejasná, expresia je prítomná u 34–95 %, tieto receptory však neovplyvňujú prognózu ochorenia [8].

Miera HER2-neu overexpresie u mužov zatiaľ nie je presne známa, z doterajších pozorovaní sa zdá, že je prítomná v 2–15 % tumorov [9].

Za rizikové faktory rozvoja rakoviny prsníka u mužov sa považujú zmenené hladiny hormónov – napríklad užívanie estrogénov, relatívna androgénová insu-

ficiencia, neskorá puberta, neplodnosť, abnormality semeníkov (nezostúpené semeníky, kongenitálna inguinálna hernia, orchiektómia). Niektorí autori popisujú aj vplyv nemaligných zmien prsnej žľazy (úraz prsníka, výtok z bradavky, vplyv gynekomastie je nejasný). Možný je aj vplyv stravy, hypercholesterolémie, obezity, abúzu alkoholu, ochorenia pečene či enviromentálne vplyvy, ako je elektromagnetické žiarenie alebo rádioterapia na oblasť hrudnej steny pri Hodgkinovom lymfóme. Klinefelterov syndróm (pacienti s XXY chromozómovou výbavou) sa popisuje u 3–7 % mužských pacientov s rakovinou prsníka, zvyšuje pravdepodobnosť výskytu rakoviny prsníka u týchto mužov 50-násobne oproti bežnej populácii [4,5].

Z genetických predispozícií je známa spojitosť s mutáciami génov *BRCA1* a *BRCA2*. *BRCA1* mutácia je zriedkavou v mužskej populácii, je prítomná v 0–4 % prípadov rakoviny prsníka u mužov v bežnej populácii, v rodinách s výskytom mutácie *BRCA1* je postihnutých 10–16 % mužských potomkov. Mutácia *BRCA2* je frekventnejšia s výskytom 4–16 % v bežnej populácii bez dedičnej dispozície, vyskytuje sa u mužov postihnutých v nižšom veku a je spojená s horším prežívaním [8,10].

## Case report

28-ročný pacient od apríla 2007 s bolesťami chrbtice, opakovane vyšetrený praktickým lekárom, následne odoslaný k ortopédovi, ktorý podľa röntgenového snímku vyslovil podozrenie na metastatický kostný proces a odoslal pacienta na CT vyšetrenie (27. 6. 2007) s nálezom rozsiahleho postihnutia stavcov, bedrových kostí, femuru.

Klinické vyšetrenie s nálezom rozsiahleho nádoru v oblasti prsníka. Na CT hrudníka nález zväčšených lymfatických uzlín (LU) v pravej axile vytvárajúcich paket, tumorózneho formácie laločnatých kontúr v oblasti pravého prsníka, invertovanej mamily. CT bruha a malej panvy: v oblasti tela stavca L3 deštrukcia kostnej štruktúry so znížením tela asi o polovicu. V ľavej časti tela stavca L4 je prítomná patologická formácia, ktorá deštruuje processus transversus a processus intervertebralis, vľavo sa propa-

guje a obturuje predný laterálny recessus v spinálnom kanáli. Veľkosť formácie je cca 4,9 × 4 cm. Podobná formácia je aj v tele stavca S1, veľkosti cca 3,7 cm v priemere, lokalizovaná viac vľavo. Ďalšia patologická formácia deštruuje lopatu bedrovej kosti vľavo, jej veľkosť je cca 6,7 × 3,2 cm. Menšie mäkkotkanivové ložisko veľkosti 2,3 × 1,5 cm je v dorzálnych časti lopaty bedrovej kosti vpravo. Menšie ložisko veľkosti 3 × 2,2 cm je aj v proximálnej časti femuru vľavo, ostatné orgány bez postihnutia.

Pacient prijatý na oddelenie, pracovná diagnóza: karcinóm prsníka, s rozsiahlym metastatickým postihnutím kostí, T4N3M1, pri príjme pacient s výraznými bolesťami, antireumatická liečba. Pacient bez iných ochorení.

Rodinná anamnéza: otec zomrel ako 58-ročný na karcinóm pľúc, fajčiar, matka sestra bola možno operovaná na karcinóm prsníka – nejasné.

Objektívny nález pri vyšetrení: prsník vpravo – rozsiahla rezistencia 10 × 9 × 4 cm, tuhá, nepohyblivá voči spodine, nad vtiahnutou bradavkou, masa infiltruje kožu s lividným sfarbením, v axile masa lymfadenopatie 9 × 8 × 4 cm. Semimobilná chôdza s vynúteným postavením, pomalá, šetriaca chrbticu i panvu, pod ľavou lopatkou výrazný svalový spazmus pri prenášaní váhy. TK 130/100, frekvencia 90/min.

## Laboratórne vyšetrenia

Krvný obraz: v norme, biochémia: GMT 1,07 μkat/l (0,1–0,75), Ca 2,77 mmol/l (2,1–2,55), LDH 2,81 μkat/l (2,25–2,75), nádorové markery: CEA 3,34 μg/l (0–2,5), CA 15–3 viac ako 373 kIU/l (0–32), ostatné laboratórne vyšetrenia v norme.

Echokardiografické vyšetrenie: incipientné hypertrofické srdce, ejekčná frakcia cca 65 %. MRI: patologická fraktúra tela stavca L3–L4, infiltrácia S1 bez fraktúry.

Gamagrafia skeletu: viacpočetný ložiskový nález – panva, L stavce, femury bilaterálne, humery bilaterálne, pravá klavikula, suspektne aj lebka.

Realizované neurologické a ortopedické vyšetrenie: vzhľadom na rozsah ochorenia uprednostnená chemoterapia pred prípadným ortopedickým zákrokom – výmena bedrového kĺbu (do-

hovor s ortopédmi – možno riešiť i ako urgenciu).

Vykonaná extirpácia lymfatickej uzliny 3 × 1 cm z axily.

Zahájená analgetická terapia (morfín), bisfosfonáty, terapia hypertenzie, podporná liečba.

Externá rádioterapia v celkovej dávke (TD) na oblasť L1–L4, L-S bilaterálne v TD 30 Gy.

Výsledok histologického vyšetrenia: odobraná LU z axily s metastázou solídneho karcinómu do uzliny s komedo „like“ nekrózami, s ložiskami prenikania tumoru cez puzdro aj do tukového tkaniva, ER 70 %, PR 20 %, HER2 nebolo stanovené.

Vzhľadom na nestanovenie HER2 (žiadame o stanovenie) zahájená v júli 2007 chemoterapia režimom FEC (5-FU, epirubicín, cyklofosfamid). Následne pacient pokračuje v ambulantnej chemoterapii FEC, podané 4 cykly. Ukončená analgetická terapia, klinická odpoveď zjavná, zobrazovacími metódami potvrdená (CT mierna regresia Tu formácie v pravom prsníku, výrazná regresia lymfadenopatie v pravej axile. Zmeny v kostnej štruktúre tiel stavcov L3 a L4 bez podstatných zmien, lepšie ohraničenie sklerotickým lemom. Gamagrafia skeletu: úprava prekrvenia takmer na normu (obraz flare efektu), čo svedčí o dobrom účinku liečby. Echokardiografické vyšetrenie: EF 50 %, hraničná diastolická funkcia ĽK.

Po dohovore s pacientom pri skompletizovanej histológii (FISH: amplifikácia HER2 génu, záver: pozitívny HER2 stav) navrhnutie pokračovania v liečbe: zmena terapie na docetaxel + trastuzumab, CA 15–3 147 kIU/l, CEA 2,39 ug/l. Objektívne chôdza už o barliach, lokálny nález: rezistencia nad prsníkom 4 × 4 × 3 cm, v axile 3 × 2 cm.

Pacient pokračuje v liečbe do januára 2008 – podanie 4. cyklu docetaxel + + trastuzumab, s ďalším poklesom nádorových markerov (S-CEA 3,11 μg/l, S-CA15-3 83,60 kIU/l), objektívne chôdza o barliach, možná aj samostatne, lokálny nález: rezistencia nad prsníkom 2 × 2 × 1,5 cm, v axile 2 × 1 cm (klinicky výrazne zlepšenie). Subjektívne sa má pacient dobre, bolesti nemá. Pokračuje do 6. cyklu docetaxel + trastuzumab. Echokardiografické vyšetrenie bez



Obr. 1.



Obr. 2.



Obr. 3.

zhoršenia stavu. Pri zmenšení primárneho tumoru prsníka, bez iných ako skeletálnych metastáz indikovaná rádioterapia na primárny tumor prsníka a axily (stav chirurgicky neriešiteľný). Nádalej pokračuje v terapii trastuzumabom, do terapie pridaná hormonálna liečba tamoxifénom.

V máji 2008 sa znova objavujú bolesti a pacient musí opätovne zahájiť terapiu opiátmi, zobrazovacími vyšetreniami konštatovaná progresia ochorenia kostí, najmä v oblasti panvy. CT hrudník, brucho, CNS – bez metastáz, vzostup CA 15–3.

Jún 2008: patologická fraktúra v oblasti proximálneho femuru vľavo, vykonaná TEP, následne i pravostranná TEP. Pacient sa dostavil až začiatkom augusta 2008 (po 2 mesiacoch), pri progresii ochorenia, ležiaci, na lôžku aktívny, ostatný nález vrátane lokálneho nálezu bez zmeny, zmena osobnosti, verifikovaná progresia ochorenia v kostiach a v mozgu: metastatické postihnutie oboch hemisfér, edém.

Do 26. 8. 2008: RAT na CNS a rameno I. sin, koxy bilaterálne, klinicky zlepšenie stavu, rehabilituje, z ležiaceho stavu čiastočne možný i pobyt na invalidnom vozíku.

Zahájená terapia lapatinib s kapecitabínom. V októbri 2008 – 40. deň terapie lapatinibom hnačka grade III, kožná toxicita grade II. Pozastavená terapia, restaging ochorenia – CT mozgu: regresia mts ložísk. Ostatné orgány bez mts, progresia mts kostí. Echokardiografické vyšetrenie bez dynamiky. Po prerušení terapie pokračuje redukcia dávok lapatinibu i kapecitabínu (obr. 1–3). Posledná kontrola 7. 11. 2008: bez ďalších nežiadúcich účinkov terapie.

Avšak celkovo zhoršovanie stavu, chradnutie, pri progresii v kostiach sa hybnosť definitívne znižuje. Ostáva v domácom prostredí, má excelentnú starostlivosť príbuzných.

Koncom novembra prestáva užívať terapiu, len symptomatická liečba. Exitus letalis: 25. 12. 2008, 18 mesiacov od stanovenia diagnózy a zahájenia terapie.

### Ďalšie získané výsledky vyšetrení

Genetické vyšetrenie: Klinefelterov syndróm – nebol dokázaný.

Vykonaná analýza vybraných častí génu *BRCA2* s výskytom najčastejších mutácií v stredoeurópskej populácii. Predpokladaná záchytnosť patologických mutácií génu je 89%.

U pacienta nebola vykonaná molekulovo-genetická analýza génu *BRCA1* (na koľko karcinóm prsníka u mužov je prednostne asociovaný s poruchami génu *BRCA2*). Analyzované boli exóny: 2, 5, 6, 10, 11, 17, 20, 23, 25. Výsledok: pomocou molekulovo-genetickej analýzy bola dokázaná prítomnosť dvoch germinatívnych mutácií. Dokázaná mutácia: C.1114C>A, P.His 372 Asn – v heterozygotnom stave, mutácia patrí medzi fyziologické mutácie, čo znamená, že nespôsobuje výmenu aminokyseliny v proteínovom produkte génu *BRCA2*, preto neovplyvňuje štruktúru a funkciu.

C.3807T>C, p.Val 1269 Val – v heterozygotnom stave, mutácia spôsobuje výmenu aminokyseliny v proteínovom produkte génu *BRCA2*, avšak podľa databázy BIC je táto mutácia hodnotená ako mutácia bez efektu na vznik dedičnej formy mamárneho/ovariálneho karcinómu s včasným nástupom.

Nie je jednoznačne vylúčená patologická mutácia v tomto géne (nebol vyšetrený celý gén *BRCA2*), avšak predpokladaná záchytnosť mutácií v ostatných častiach génu *BRCA2* je v našej populácii približne 11%.

### Diskusia a záver

Liečba rakoviny prsníka u mužov pre zriedkavosť tohto ochorenia a s tým spojený nedostatok prospektívnych klinických skúšaní vychádza zo skúseností s liečbou tohto ochorenia u žien.

Modifikovaná radikálna mastektómia je štandardom liečby skorých štádií rakoviny prsníka u mužov, pričom alternatívou axilárnej disekcie je v poslednom období využitie techniky sentinelovej biopsie. Na základe výsledkov niekoľkých retrospektívnych štúdií, lumpektómia nie je odporúčaná, mužský prsník obsahuje menej tkaniva, tumory sú zväčša centrálné uložené a táto technika zvyšuje riziko lokálnej rekurencie v porovnaní s mastektómiou [2,5,8].

Rádioterapia sa riadi rovnakými princípmi ako pri liečbe rakoviny prsníka u žien. Podľa doterajších poznatkov rov-

nako ako v ženskej populácii vedie k zvýšeniu lokálnej kontroly ochorenia, ale nemá vplyv na celkové prežívanie [2,5,8].

**Adjuvantná liečba.** Adjuvantná chemoterapia znižuje riziko rekurencie ochorenia a zlepšuje celkové prežívanie. Je indikovaná u pacientov s pozitívnymi lymfatickými uzlinami alebo pri tumore > 1 cm. Podávajú sa režimy na báze taxánov a antracyklínov, pričom v podskupine pacientov bez postihnutia lymfatických uzlín sú preferované antracyklíny. U hormonálne pozitívnych nádorov je odporúčaná 5-ročná liečba tamoxifénom [5,8].

**Paliatívna liečba.** Vzhľadom na vysokú expresiu hormonálnych receptorov v karcinómoch prsníka u mužov je hormonálna liečba prvou líniou terapie – v minulosti využívané invazívne techniky ovplyvnenia hormonálneho statusu ako orchiektómia, adrenalectómia a hypofyzektómia sú pre vážne nežiadúce vedľajšie efekty dnes mimo terapeutického záujmu [11]. Chemoterapeutiká sú podávané v druhej línii liečby a u pacientov s agresívnym, rýchlo progredujúcim ochorením, na základe dát známych z liečby karcinómu prsníka u žien.

**Inhibitory aromatázy (IA) III. generácie.** U žien sú známe dáta o vyššej efektívnosti inhibítorov aromatázy v porovnaní s tamoxifénom v liečbe postmenopauzálnych pacientok. Keďže tumory prsníka u mužov sú svojimi charakteristikami podobné tumorom prsníka u postmenopauzálnych žien, je možné predpokladať efektívnosť aromatázovaných inhibítorov aj v mužskej populácii. V literatúre sú popisované prípady mužských pacientov dosahujúcich klinickú odpoveď pri liečbe IA, na základe ktorých je možné považovať IA za ďalšiu alternatívnu liečebnú modalitu k už používanému tamoxifénu [12].

**Trastuzumab, lapatinib.** Na základe extrapolácie dát zo ženskej populácie je opodstatnené očakávanie účinnosti trastuzumabu alebo lapatinibu aj u mužov. Karcinómy prsníka u mužov majú častejšie ako u žien vysokú pozitivitu ER receptorov spojenú s nadmernou expresiou HER-2neu – v tejto podskupine je možný benefit kombinácie hormonálnej liečby s trastuzumabom alebo lapatinibom [2,13].

**Literatúra**

1. Romics L, O'Brien ME, Relihan N et al. Intracystic papillary carcinoma in a male as a rare presentation of breast cancer: a case report and literature review. *J Med Case Reports* 2009; 3: 13.
2. Dimitrov N, Nagpal S, Chitneny S. Management of male breast cancer. *Oncol Rev* 2008; 2: 44–52.
3. Ewertz M, Holmberg L, Karjalainen S et al. Incidence of male breast cancer in Scandinavia, 1943–1982. *Int J Cancer* 1989; 43(1): 27–31.
4. Luini A, Gatti G, Brenelli F et al. Male breast cancer in a young patient treated with nipple-sparing mastectomy. *Tumori* 2007; 93(1): 118–120.
5. Giordano SH, Buzdar AU, Hortobagyi GN. Breast Cancer in Men. *Ann Intern Med* 2002; 137(8): 678–687.
6. DeVita, Hellman, and Rosenberg's *Cancer: Principles & Practice of Oncology*, Eighth Edition 1617.
7. Crichlow RW. Carcinoma of the male breast. *Surg Gynecol Obstet* 1972; 134(6): 1011–1019.
8. Giordano SH. A review of a diagnosis and management of male breast cancer. *The Oncologist* 2005; 10(7): 471–479.
9. Rudlowski C, Friedrichs N, Faridi A et al. Her-2neu gene amplification and protein expression in primary male breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2004; 84(3): 215–223.
10. Kwiatkowska E, Teresiak M, Filas V et al. BRCA2 mutations and androgen receptor expression as independent predictors of outcome of male breast cancer patients. *Clin Cancer Res* 2003; 9(12): 4452–4459.
11. Lanitis S, Rice AJ, Vaughan A et al. Diagnosis and Management of Male Breast Cancer. *World J Surg* 2008; 32(11): 2471–2476.
12. Arriola E, Hui E, Dowsett M, Smith IE. Aromatase inhibitors and male breast cancer. *Clin Transl Oncol* 2007; 9(3):192–194.
13. Johnston S, Pippen J, Pivot X et al. Lapatinib Combined With Letrozole Versus Letrozole and Placebo As First-Line Therapy for Postmenopausal Hormone Receptor-Positive Metastatic Breast Cancer. *J Clin Oncol* 2009; 27(33):5 538–5546.

# Klinický registr NEXAVAR®

Büchler T.

Onkologické oddělení, Fakultní Thomayerova nemocnice a 1. LF UK, Praha

Sorafenib (NEXAVAR®) je perorální lék ze skupiny multikinázových inhibitorů. Je registrován k léčbě pacientů s pokročilým nebo metastatickým renálním karcinomem (metastatic renal cell carcinoma – mRCC), kteří již prodělali terapii cytokiny, nebo je u nich terapie cytokiny kontraindikovaná. Další indikací léku je pokročilý nebo metastatický hepatocelulární karcinom. Sorafenib blokuje receptor pro VEGF,  $\beta$  receptor pro PDGF a Raf kinázu. Účinkuje jak přímo na nádorové buňky, tak na endoteliální prekursor, čímž zabraňuje nádorové angiogenezi.

Sorafenib byl pro léčbu mRCC registrován na základě výsledků mezinárodní multicentrické, dvojitě zaslepené, randomizované studie fáze III TARGET [1]. Pacienti v experimentálním rameni této studie byli léčeni sorafenibem (400 mg

2krát denně,  $n = 451$ ), pacienti v kontrolním rameni ( $n = 452$ ) dostávali odpovídající placebo. Většina z nemocných byla do studie zařazena po selhání cytokinové terapie. Studie TARGET splnila svoje cíle – sorafenib prodloužil dobu do progresu (5,5 vs 2,8 měsíce,  $p < 0,01$ ) a po analýze dat před překřížením ramen bylo prokázáno i statisticky signifikantní prodloužení celkového přežití (17,8 vs 14,3 měsíce,  $p = 0,0287$ ). Nejčastějšími nežádoucími účinky sorafenibu byly exantém, průjem, únava, palmo-plantární syndrom, hypertenze, nevolnost a alopecie.

V klinickém registru NEXAVAR® jsou uložena anonymizovaná data o 248 pacientech s mRCC léčených sorafenibem většinou ve druhé linii po cytokinech. Menší část pacientů dostala sorafenib v první linii nebo až ve třetí

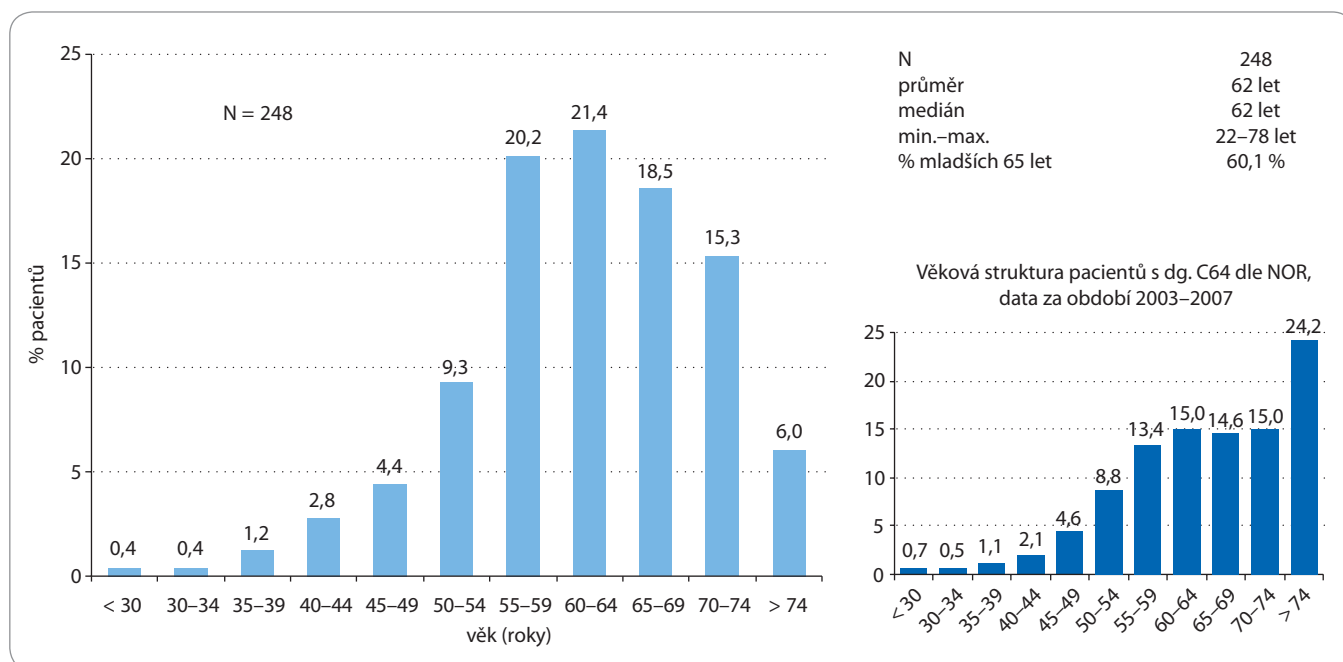


**MUDr. Tomáš Büchler, Ph.D.**  
Onkologické oddělení  
Fakultní Thomayerova nemocnice  
a 1. LF UK  
Videňská 800  
140 59 Praha  
e-mail: tomas.buchler@ftn.cz

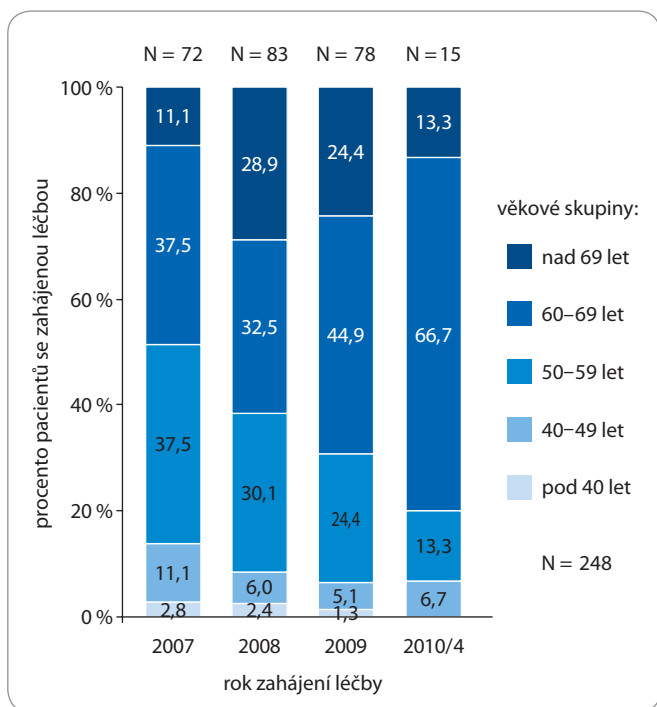
Obdrženo/Submitted: 20. 5. 2010  
Přijato/Accepted: 7. 6. 2010

či další linii při progresi po jiné cílené léčbě.

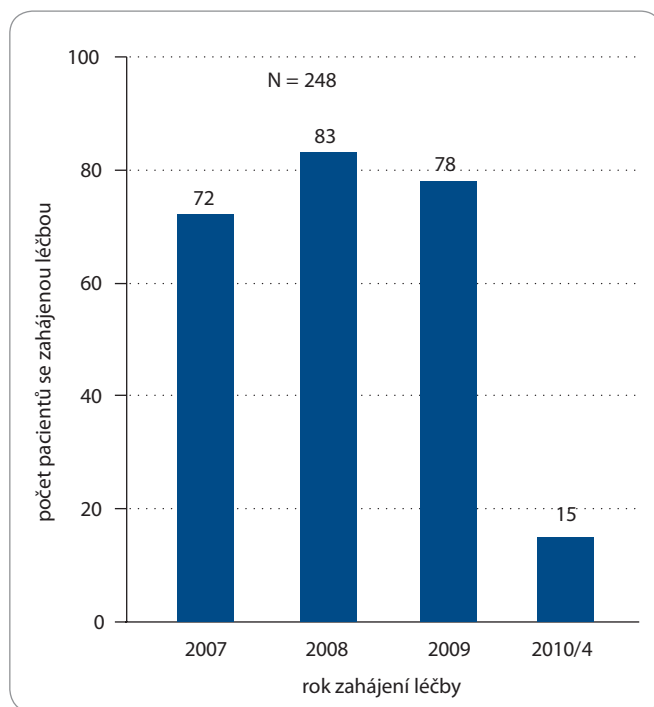
Medián věku pacientů léčených sorafenibem v registru NEXAVAR® je 62 let, což je méně, než je medián věku všech pacientů s nádory ledvin podle údajů Národního onkologického registru



Graf 1. Zastoupení věkových kategorií v době zahájení léčby Nexavarem (vlevo). Věková struktura s diagnózou C64 dle NOR (vpravo).



**Graf 2. Počet pacientů léčených Nexavarem® dle věkových skupin v době zahájení léčby.**



**Graf 3. Počet léčených pacientů – rok zahájení léčby Nexavarem®.**

(graf 1 a 2). Důvodem pro tento rozdíl je zřejmě tendence poskytovat drahou cílenou terapii spíše mladším než starším pacientům a jistě také vyšší pravděpodobnost komorbidit limitujících léčebné možnosti u seniorů s mRCC. Podle výsledků registrační studie TARGET je však sorafenib minimálně stejně účinný i u pacientů starších a redukce rizika oproti placebo byla ve věkové kategorii

nad 65 let dokonce vyšší než u mladších nemocných.

Z grafu číslo 3 vyplývá, že se počet nemocných za poslední čtyři roky stabilizoval, nicméně otázkou zůstává, zda v roce 2010 nebude ovlivněn registrací několika jiných cílených léků v indikaci mRCC.

Výsledky léčby sorafenibem a analýza toxicity budou předmětem dalších sdělení.

### Poděkování

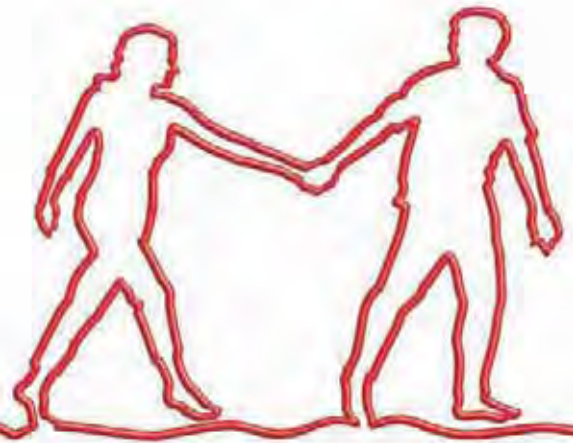
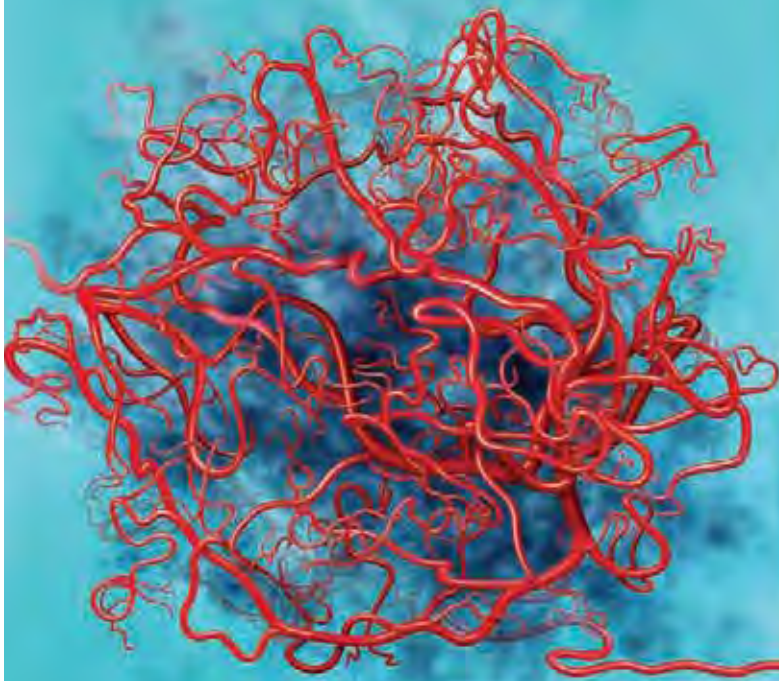
Autor článku děkuje za přípravu podkladů pracovníkům Institutu biostatistiky a analýz MU v Brně, zejména panu Mgr. Radimu Klapkovi.

### Literatura

1. Escudier B, Eisen T, Stadler WM et al. Sorafenib in advanced clear-cell renal-cell carcinoma. *N Engl J Med* 2007; 356(2): 125–134.



# Kontrolou angiogeneze...



## ...k prodloužení přežití

**AVASTIN JE OD 1. 3. 2010 HRAZEN Z PROSTŘEDKŮ VEŘEJNÉHO ZDRAVOTNÍHO POJIŠTĚNÍ PRO INDIKACE KOLOREKTÁLNÍ KARCINOM, KARCINOM PRSU, NSCLC A KARCINOM LEDVINY.**

**AVASTIN JE INDIKOVÁN PRO LÉČBU METASTAZUJÍCÍHO KOLOREKTÁLNÍHO KARCINOMU PRVNÍ I DRUHÉ LINIE.**

**Avastin je možné podávat v Komplexních onkologických centrech. Jejich síť je popsána na [www.onconet.cz](http://www.onconet.cz)**

**AVASTIN® 25 mg/ml koncentrát pro přípravu infuzního roztoku**  
– Základní informace o přípravku

**Účinná látka:** bevacizumabum. **Držitel rozhodnutí o registraci:** Roche Registraton Limited, Velká Británie. **Registrační čísla:** EU/1/04/300/001-002. **Schválené indikace pro použití:** Terapie metastazujícího karcinomu tlustého střeva nebo rektu v kombinaci s chemoterapeutickým režimem obsahujícím fluoropyrimidin. Avastin v kombinaci s paklitaxelem nebo docetaxelem je indikován jako léčba první linie u nemocných s metastazujícím karcinomem prsu. Avastin přidáný k chemoterapeutickému režimu s platinou je indikován k léčbě první linie nemocných s neresekabilním pokročilým a/nebo metastazujícím karcinomem ledviny. **Kontraindikace:** Přecitlivělost na léčivou látku nebo jakoukoli pomocnou látku přípravku, na látky produkované ovariálními buňkami čínských křečků nebo na jiné rekombinantní lidské nebo humanizované protilátky. **Těhotenství. Upozornění:** Zvýšená pozornost u pacientů s intraabdominálním zánětlivým procesem (zvýšené riziko vzniku perforace a píštěle GIT), po operaci (možné komplikace při hojení ran), s nekontrolovanou

hypertenzí (riziko hypertenzní krize a proteinurie), ve věku nad 65 let (zvýšené riziko vzniku arteriálních tromboembolických příhod), u pacientů s kongenitální hemoragickou diatézou, získanou koagulopatií nebo u pacientů léčených plnou dávkou antikoagulancií k léčbě tromboembolismu před zahájením léčby Avastinem. V případě vzniku tracheoesofageální píštěle nebo jakékoli píštěle 4 stupně trvale ukončit léčbu. Ukončení léčby zvážit v případě vnitřní píštěle mimo oblast GIT. V ojedinělých případech riziko vzniku reakce na infuzi/hypersenzitivní reakce. **Klinicky významné interakce:** Bevacizumab neovlivňuje v klinicky závažném rozsahu farmakokinetiku 5-fluorouracilu, karboplatiny, paklitaxelu a doxorubicinu. U některých pacientů léčených kombinací bevacizumabu a sunitinibi malátu byla hlášena mikroangiopatická hemolytická anemie (MAHA). **Hlavní klinicky významné nežádoucí účinky** (u pacientů léčených jak v monoterapii, tak v kombinaci s chemoterapií): Nejzávažnější pozorované nežádoucí účinky – gastrointestinální perforace, píštěle, hemoragie, arteriální a žilní tromboembolismus, syndrom reverzibilní zadní leukoencefalopatie, proteinurie. Nejčastější nežádoucí účinky – astenie, průjem, dysfonie, nauzea a jinak nespecifikované bolesti. **Dávkování a způsob podání** – Obecná doporučení: První dávka Avastinu by měla být podávána během 90 minut ve formě nitrožilní infuze. Jestliže je první infuze dobře snášena, druhá infuze může být podávána během 60

minut. Jestliže je dobře snášena infuze podávaná během 60 minut, všechny následující infuze mohou být podávány během 30 minut. Nepodávejte jako bolus v nitrožilní injekci nebo bolusovou injekci. Infuze nesmí být podávány nebo míchány s roztoky glukózy. Snižování dávky při výskytu nežádoucích příhod se nedoporučuje. V případě nutnosti musí být léčba buď trvale ukončena nebo dočasně pozastavena. **Doporučené dávkování pro jednotlivé diagnózy:** Viz platný Souhrn údajů o přípravku. **Dostupná balení přípravku:** 1× 100 mg bevacizumabu ve 4 ml; 1× 400 mg bevacizumabu v 16 ml koncentrátu pro přípravu infuze. **Podmínky uchovávání:** Uchovávejte v chladničce (2°C–8°C). Chraňte před mrazem. Uchovávejte injekční lahvičku v krabičce, aby byl přípravek chráněn před světlem. **Datum poslední revize textu:** 6. 7. 2010. **Výdej léčivého přípravku je vázán na lékařský předpis. Léčivý přípravek je hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění** (pro indikace kolorektální karcinomu, karcinomu prsu, nemalobuněčný karcinom plic a karcinom ledviny – přesné podmínky úhrady jsou uvedeny na adrese: [www.sukl.cz](http://www.sukl.cz)). **Další informace o přípravku** získáte z platného Souhrnu údajů o přípravku Avastin nebo na adrese: Roche, s.r.o., Dukelských hrdinů 52, 170 00 Praha 7, telefon 220 382 111. Podrobné informace o tomto přípravku jsou uveřejněny na webových stránkách Evropské lékové agentury (EMA) <http://www.ema.europa.eu/>.

**AVASTIN®**  
bevacizumab  
Leading angiogenesis  
inhibition



# Zápis z XVII. pracovního setkání Fóra onkologů a zástupců zdravotních pojišťoven Brno 21. 5. 2010

## Účastníci

přednostové onkologických klinik ČR nebo jejich zástupci, zástupci KOC, České urologické společnosti ČLS JEP, České chirurgické společnosti ČLS JEP, České onkologické společnosti ČLS JEP, VZP a Svazu zdravotních pojišťoven a zástupci SÚKL

## Referující

- prof. MUDr. J. Vorlíček, ředitel MOÚ v Brně, předseda České onkologické společnosti ČLS JEP
- prof. MUDr. Rostislav Vyzula, CSc., přednosta Kliniky komplexní onkologické péče, MOÚ v Brně
- doc. MUDr. Jindřich Fínek, Ph.D., primář Onkologického a radioterapeutického oddělení FN v Plzni
- prof. MUDr. Marek Babjuk, CSc., Česká urologická společnost ČLS JEP
- prof. MUDr. Miroslav Ryska, CSc., předseda České chirurgické společnosti ČLS JEP
- doc. MUDr. Marián Hajdúch, Ph.D., předseda Sekce diagnostické a prediktivní onkologie České onkologické společnosti ČLS JEP
- MUDr. Pavel Horák, CSc., MBA – ředitel VZP ČR v Praze
- MUDr. Ladislav Havlíček, SZP
- PharmDr. Martin Beneš, ředitel SÚKL v Praze

## Vorlíček J.: Úvod

### Vyzula R.: Registry

Byly prezentovány registry ČOS pro solidní nádory a srovnány predikce počtu pacientů s reálnými vloženými pacienty v registru. Klinické registry i nadále plní funkci: klinickou pro lékaře a informativní pro plátce. Klinická data v registrech jsou většinou v souladu s výsledky klinických studií ve světě a v některých registrech (Herceptin, Avastin) vykazují dokonce výrazně lepší výsledky.

### Babjuk M.: Nové možnosti léčby karcinomu ledvin

Shrnuje možnosti operativní léčby karcinomu ledvin s důrazem na laparoskopické postupy. Podrobněji v prezentaci na [www.linkos.cz](http://www.linkos.cz).

### Fínek J.: Nové možnosti léčby karcinomu ledvin

Popsal nové léčivé přípravky pro léčbu karcinomu ledvin a předložil schéma jejich použití v 1., 2. a další linii.

### Ryska M.: Současné úkoly onkochirurgie v léčbě nemocných se solidními maligními nádory

Soustředil se na možnosti operativního řešení jaterních metastáz s poukazem na současné nedostatky využívání této léčebné metody klinickými onkology. Podpořil návrh České chirurgické společnosti na vytvoření celostátní sítě center, která by se zabývala problematikou řešení jaterních metastáz.

### Hajdúch M.: Prediktivní biomarkery – výhled na rok 2010

Popsal základní prediktivní biomarkery používané v klinické praxi v terapii inhibitory EGFR 1. signální dráhy. Na příkladu vyšetření mutací genu KRAS poukázal na variabilní citlivost jednotlivých genetických metod a otevřel otázku klinické významnosti nízkofrekvenčních mutací KRAS genu (< 5–10%) pro indikaci cílené biologické léčby u kolo-rektálního karcinomu. V další části vystoupení se soustředil na nové potřeby molekulární diagnostiky nádorů v oblasti stanovení aktivačních mutací genu EGFR1 u NSCLC. Tato diagnostika musí předcházet indikaci nově registrovaného přípravku Iressa podávaného v první linii léčby NSCLC. Poukázal na metodickou náročnost testu vycházející z malého množství dostupného

biologického materiálu a potřebu kombinace několika metod pro zajištění rutinní diagnostiky. Nicméně stanovení mutačního stavu EGFR1 je klinicky proveditelné a některá pracoviště již tuto diagnostiku provádějí.

### Horák P.: Pilotní projekt k identifikaci nákladů onkochirurgie

Souhlasil s návrhem, který předložil prof. Ryska, na identifikaci onkocenter zabývajících se nákladnou onkochirurgickou péčí (např. resekce jaterních metastáz), shrnul ekonomickou situaci týkající se onkologické péče. Podpořil myšlenku evidence pacientů s nákladnou onkologickou péčí, která by využívala současnou registry ČOS.

Podpořil názor patientských organizací na onkologickou péči (reakce na dopis Aliance žen s rakovinou prsu).

V rámci zachování ekonomické dostupnosti péče bude zřejmě nutné provést výběr zdravotnických pracovišť pro jednotlivé léčebné metody.

Podrobněji na [www.linkos.cz](http://www.linkos.cz).

### Havlíček L., Knorová R.: Vývoj spolupráce SZP ČR a ČOS ČLS JEP

Dr. Havlíček přednesl sdělení reprezentující SZP, které je přílohou zápisu na [www.linkos.cz](http://www.linkos.cz).

### Beneš M.: Predikce dostupnosti nákladné péče 2010?

Byly prezentovány možnosti současného systému regulace a nastíněny rezervy, bez jejichž využití nelze zajistit fiskální stabilitu vysoce nákladné léčby onkologických pacientů.

## Diskuze

**Vorlíček J.:** Nejsou úhradové dodatky – přišly před 3 dny, některé mají chyby odborné i formální.

**Horák P.:** Mechanismus úhrady realizovaný v předchozích letech zůstává v platnosti i pro rok 2010. Diskuze je de facto jen o nárůstu počtu pacientů. Systém z minulých let i na žádost ČOS změněn nebude. Osobně by byl rád, aby systém úhrad – dodatků platil bez přerušování, dokud nebude dán nový dodatek, ale takto to dle vyjádření právníků nelze (nová úhradová vyhláška znamená potřebu měnit dodatek).

**Avastin** – je léčivo kategorizované s úhradou vázanou na specializovaná centra. V indikacích původních je hrazen dle zvláštního dodatku o úhradě mimořádně nákladné péče, v indikacích nových zatím speciální dodatek není (to se týkalo některých léčiv i dříve – např. IVIG byl hrazen v indikaci RS dle dodatku, v ostatních jako standardní ZÚLP). Avastin v nových indikacích bude zařazen do specifických úhradových dodatků v okamžiku, kdy dojde ke shodě o počtu pacientů a kdy budou ukončena jednání s výrobcem o DNC. Do té doby je v nových indikacích hrazen dle standardního dodatku (v ambulantním režimu se jedná o výkonový způsob s omezením dolního a horního risk koridoru). Z tohoto důvodu se snažíme v současné době dohodnout balíček s firmou Roche, která dodává i Herceptin, za nějž ZP platí 132% nejnižší evropské ceny.

Cílem dohody, kterou firma zatím neakceptovala, je zlevnění Herceptinu, a tím možnost navýšení počtu pacientů pro Avastin.

**Vorlíček J.:** Jak se staví farmaceutické firmy k dostupnosti cílené léčby?

Přítomné farmaceutické firmy se vesměs vyjádřily, že již snížily prodejní ceny přípravků. A také, že nabídly před časem VZP balíček snížení cen více léčiv jako kompenzaci nárůstu počtu pacientů a léčby v nových indikacích.

**Horák P.:** Uvedl příklad Herceptinu, jehož cena u nás činí 132% ceny v Evropě.

**Samek J. (Roche):** Cena Herceptinu by mohla být nižší (podle SÚKL), ale VZP (i SZP) se odvolala. Chtěli snížit cenu Herceptinu a Tarcevy, aby bylo možno rozšířit indikace pro Avastin.

**Horák P.:** VZP se odvolala proti návrhu firmy Roche v ceně Herceptinu pro nestatečně snížení ceny ve srovnání s Evropou. Odhadovaná ztráta VZP činí za rok cca 120 mil. Kč, zároveň odhad ročních nákladů na léčbu pacientů Avastinem v nových indikacích činí cca 1 mld. Kč.

**Beneš M.:** K odvolání VZP a SZP proti rozhodnutí o stanovení výše a podmínek úhrady u Herceptinu uvedl, že úhrada byla stanovena na základě cenových referencí z EU v rozsahu registrovaných indikací. **Odvolání pojišťoven ministerstvo nepotvrdilo.** Rozhodnutí SÚKL bylo ministerstvem zamítnuto z jiného důvodu – absence nákladové efektivity. Tím došlo k paradoxnímu, nákladově neefektivnímu zatížení zdrojů zdravotního pojištění. Úspory, které mohly pojišťovny již dávno dosáhnout, mohly být o 17% vyšší, než jakých dosáhnou bezpředmětným odvoláním. Nová úhrada Herceptinu bude stanovena na fixovanou úhradu (z roku 2008), sníženou o 7% (pozn.: celkové úspory proti dřívější, dosud platné úhradě mohly činit 24%).

**Prausová J. (FN Motol):** Oddělení má stanoven rozpočet vedením nemocnice a nemůže jej překročit – nemůže podat lék.

**Vorlíček J.:** Nedovolí podat lék, pokud nebude domluvena úhrada.

**Mazan P. (Pfizer):** Sutent byl zařazen do 1. linie léčby – byla snížena jeho cena reálně o 23% (důsledek Janotova balíčku).

**Kubátová J. (Novartis):** Nabídka balíčku cen pro plátce.

**Vyzula R.:** Uvedl 2 kazuistiky možnosti podání cílené léčby z pohledu lékaře – uvedeny v příloze zápisu.

**Horák P.:** Není možno říci, že nelze léčit, dokud není pokryto finančně zvláštní smlouvou. Inovace v oblasti léčiv je třeba vyvážit úsporou při nákupu ostatních preparátů. Existují i nákladnější situace, které přicházejí v nemocnici akutně a zařízení nemůže nejprve žádat o zvláštní úhradu a pak teprve poskytnout léčbu – situaci je nutno manažersky zvládnout

(vedení nemocnice). Problémem může být jednooborový ústav (MOÚ), kde nemusí dojít ke kompenzaci ztrátových činností výdělečnými provozny.

**Duda M. (ČCHS):** Pochvalně se zmínil o dohodě dosažené mezi odbornou společností a VZP.

## Závěry

1. **Úhradové dodatky** pro cílenou léčbu by mohly platit trvale do jejich změny (to však naráží na úhradovou vyhlášku).
2. **Farmaceutické firmy** vesměs přislíbily snížení cen přípravků pro cílenou léčbu.
3. **Klinické registry ČOS** by se mohly stát základem evidence nákladné péče (nutná další jednání mezi ČOS a plátcí).
4. Lékaři by měli **informovat vedení svých nemocnic o potřebách léčby**, stejně jako by vedení nemocnic mělo nastavit vnitřní limity pracovišť tak, aby pokrývaly nutné potřeby.  
V případě, kdy počty nemocných převyšují odhad, je třeba postupovat podle smlouvy a jednat s pojišťovnou.
5. O situaci v úhradách indikované cílené léčby by měla být informována **politická reprezentace státu** – odbornou společností i patientskými organizacemi.
6. Současné některé zasláné **úhradové dodatky** vykazují nedostatky, které je nutno dalším jednáním napravit (jednání mezi plátcí – ČOS – vedení KOC).

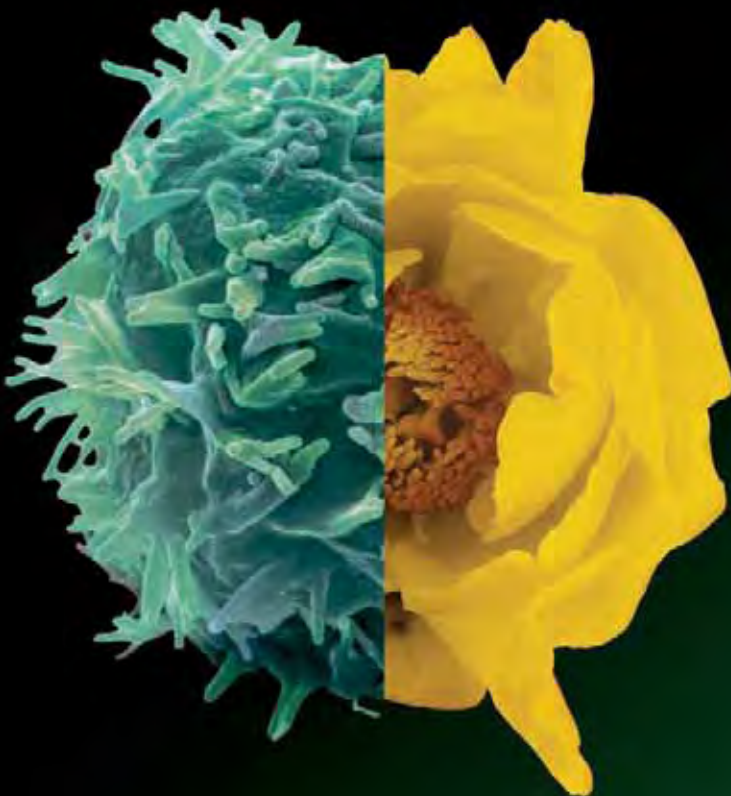
## Zapsali

RNDr. Jiří Netočný  
za Koordinační radu Fóra onkologů  
a zástupců ZP

prof. MUDr. Rostislav Vyzula, CSC.  
za Klinikou komplexní onkologické péče  
MOÚ Brno

**Poznamenejte si, prosím, datum příštího pracovního setkání Fóra onkologů a zástupců pojišťoven: XVIII. setkání se bude konat v pátek 5. listopadu 2010 v 11.00 hod. v MOÚ, Brno**

Přednesené příspěvky a zápis v elektronické podobě najdete na [www.linkos.cz](http://www.linkos.cz).



Nově schválená  
indikace: Tyverb®  
nyní i v první linii

## Nová možnost léčby HR-pozitivního/ErbB2-pozitivního metastatického karcinomu prsu v první linii<sup>1</sup>

**Tyverb**<sup>®</sup>  
lapatinib

Inhibice receptorů uvnitř buňky  
je nadějí pro život

### ZKRÁCENÁ INFORMACE O PŘÍPRAVKU

**NÁZEV A LÉKOVÁ FORMA:** TYVERB 250 mg, potahované tablety. **SLOŽENÍ:** Lapatinibum ditosylatum monohydricum v množství odpovídajícím 250 mg lapatinibu. **INDIKACE:** K léčbě pacientů s karcinomem prsu, jejichž nádory ve zvýšené míře exprimují HER2 (ErbB2): V kombinaci s kapecitabinem k léčbě pacientů s pokročilým nebo metastazujícím karcinomem, u kterých došlo k progresi onemocnění po předchozí léčbě, která musí zahrnovat antracykliny a taxany, a dále léčbu trastuzumabem pro metastazující onemocnění. V kombinaci s inhibítorem aromatázy k léčbě žen po menopauze s metastazujícím karcinomem prsu s pozitivními hormonálními receptory, u kterých se neuvažuje o chemoterapii. Pacientky zařazené do registrační studie nebyly dříve léčeny trastuzumabem nebo inhibítorem aromatázy. **DÁVKOVÁNÍ:** Kombinace Tyverb/kapecitabin: Přípravek Tyverb v dávce 1250 mg (tj. 5 tablet) 1x denně. Kapecitabin v dávce 2000 mg/m<sup>2</sup>/den, ve 2 dávkách po 12 hodinách ve dnech 1–14 v průběhu 21denního cyklu. Kapecitabin se užívá s jídlem nebo během 30 minut po jídle. **Kombinace Tyverb/inhibitor aromatázy:** Přípravek Tyverb v dávce 1500 mg denně (tj. 6 tablet) 1x denně. Dávkování letrozolu viz příslušné SPC. Léčba přípravkem Tyverb se má přerušit u pacientů s příznaky snížené ejekční frakce levé srdeční komory st.3, intersticiální plicní nemocí st.3 a u jiné toxicity od st. 2 se má také zvážit přerušit či ukončit. Opětovné nasazení viz SPC. **SPECIÁLNÍ SKUPINY PACIENTŮ:** U pacientů s mírným až středně závažným poškozením ledvin není nutná žádná úprava dávkování. U pacientů se závažnou poruchou funkce ledvin se doporučuje opatrnost, nejsou žádné zkušenosti s podáváním přípravku. U pacientů se středně závažnou až závažnou poruchou funkce jater by měl být lék podáván se zvýšenou opatrností. Pokud dojde k závažným změnám jaterních funkcí, má být léčba ukončena. Podávání dětem se nedoporučuje. U pacientů starších 65 let jsou k dispozici pouze omezené údaje o podávání přípravku. **KONTRAINDIKACE:** Hypersenzitivita na léčivou nebo kteroukoli pomocnou látku.

**ZVLÁŠTNÍ UPOZORNĚNÍ:** Hlášeny případy snížené ejekční frakce levé srdeční komory (LVEF). Před zahájením léčby je třeba se ujistit, že LVEF pacienta je v rozmezí stanovených norm. hodnot a během léčby je třeba je kontrolovat. Hlášená úmrtí neměla jasnou souvislost s léčbou. Pozorováno prodloužení intervalu QTc. Doporučeno vyšetřit QT (EKG) před léčbou a dále sledovat. Doporučeno sledovat příznaky plicní toxicity: dušnost, kašel a horečku. Pulmonární toxicita může vést ke vzrůstu respiračního selhání. Hlášená úmrtí neměla jasnou souvislost s přípravkem Tyverb. Opatrnost je nezbytná u pacientů se středně až závažnou poruchou funkce jater a závažnou poruchou funkce ledvin. Transaminázy, bilirubin a ALP mají být zhodnoceny před léčbou a dále se doporučuje kontrolovat je měsíčně nebo podle potřeby. Pacienti by měli být informováni o riziku hepatotoxicity. Hlášen byl průjem, včetně těžkého, následkem závažné dehydratace zaznamenaná i několik případů akutního renálního selhání. Doporučeno zaznamenat brňší symptomatologii před léčbou a poučit pacienty, že mají lékaře neprodleně informovat o střežných potížích. Důležitá je preventivní léčba průjmu pomocí antiidiarhoik. **INTERAKCE:** Je třeba se vyhnout podávání přípravku Tyverb se silnými inhibitory a induktry CYP3A4. S opatrností podávat se středně silně působícími inhibitory CYP3A4. Tyverb je substrátem pro Pgp a BCRP. Grapefruitová šťáva a látky zvyšující pH žaludku se nemají podávat současně s přípravkem Tyverb. Současné podání s irinotekanem (ve FOLFIRI) mělo za následek zhruba 40% nárůst AUC aktivního metabolitu irinotekanu. Při užívání přípravku Tyverb v kombinaci s paklitaxelem (175 mg/m<sup>2</sup> každé tři týdny) je možná těžká neutropenie s průjmem. Současné podávání přípravku Tyverb s kapecitabinem, letrozolem nebo trastuzumabem neovlivňovalo významně farmakokinetiku těchto látek (nebo metabolitů kapecitabinu) ani lapatinibu. **TĚHOTENSTVÍ, KOJENÍ:** Potenciální riziko pro člověka není známo. Studie na zvířatech prokázaly reprodukční toxicitu. Tyverb se nemá v těhotenství podávat, pokud to není nezbytně nutné.

Ženy v reprodukčním věku musí být upozorněny na nutnost používání účinné antikoncepce v průběhu léčby. U žen, které jsou léčeny přípravkem Tyverb, musí být kojení ukončeno. **NEŽÁDOUCÍ ÚČINKY:** **Velmi časté:** průjem, nauzea a zvracení, palmární-plantární erytrodysestézie (PPE) a vyrážka, akneiformní dermatitida. Incidence PPE ve skupině užívající přípravek Tyverb s kapecitabinem podobná incidenci ve skupině se samotným kapecitabinem, dále dyspepsie, zácpa, bolesti břicha, anorexie, suchá kůže, stomatitida, záněty sliznic, zarudnutí kůže, alopecie, pruritus, bolesti končetin, zad, nespavost, únava, astenie. **Časté:** snížení ejekční frakce levé srdeční komory (1%), bolesti hlavy, hyperbilirubinémie, hepatotoxicita, poruchy nehtů, paronychia, zácpa. **Méně časté:** Intersticiální plicní nemoc, epistaxe, kašel, dyspnoe. **Vzácné:** Hypersenzitivní reakce, anafylaxe. **FARMAKOLOGICKÉ VLASTNOSTI:** Inhibitor proteinkinázy, skupina: ATC kód: L01XE07, inhibitor tyrozinkinázových receptorů ErbB1 a ErbB2. **UCHOVÁVÁNÍ:** Při teplotě do 30 °C. **DOBA POUŽITELNOSTI:** 2 roky. **BALENÍ:** Krabička 70 tbl. v blistru po 10 tbl. Vícečetné balení 140 tbl. s obsahem 2 balení o 70 tbl. Krabička 84 tbl. po 12 tbl. v jednom blistru. **DRŽITEL ROZHODNUTÍ O REGISTRACI:** Glaxo Group Ltd., Berkeley Avenue, Greenford, Middlesex UB6 0NN, Velká Británie. **REG. Č.:** EU/1/07/440/001-003. **REGISTRACE:** 10. 6. 2008. **REVIZE TEXTU:** 17. 6. 2010. **DOSTUPNOST:** Lék je vázán na lékařský předpis, v kombinaci s kapecitabinem je hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění. V kombinaci s letrozolem není léčba z prostředků veřejného zdravotního pojištění dosud hrazena. Před použitím léku si prosím přečtěte úplný Souhrn údajů o přípravku nebo se obraťte na společnost GSK s.r.o. SPC je platné ke dni vydání propagačního materiálu: 1.8. 2010. **GlaxoSmithKline s.r.o.,** Na Pankráci 17/1685, 140 21 Praha 4, Tel: 222 001 111, fax 222 001 444, e-mail: gsk.czmail@gsk.com, www.gsk.cz, www.GSKOncology.com

### Reference:

1. Souhrn údajů o přípravku Tyverb®, GlaxoSmithKline, 2010

# 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  
MUDr. Lenka Foretová, Ph.D.  
prof. MUDr. Roman Hájek, CSc.

#### výkonný redaktor

MUDr. Marek Svoboda, Ph.D.

MUDr. Ivo Kocák, Ph.D.  
MUDr. Jiří Novák  
prof. MUDr. Aleš Rejthar, CSc.

doc. MUDr. Dalibor Valík, Ph.D.  
prof. MUDr. Jiří Vorlíček, CSc.  
prof. MUDr. Jan Žaloudík, CSc.

### Širší redakční rada

prof. MUDr. Zdeněk Adam, CSc., Brno  
MUDr. Olga Babušíková, DrSc., Bratislava  
MUDr. Otakar Bednařík, CSc., Brno  
MUDr. Tomáš Büchler, Ph.D., Praha  
prof. MUDr. David Cibula, CSc., Praha  
MUDr. Karel Cwierka, Ph.D., Olomouc  
doc. MUDr. Ladislav Dušek, Ph.D., Brno  
prof. MUDr. Tomáš Eckschlager, CSc., Praha  
MUDr. David Feltl, Ph.D., Ostrava  
doc. MUDr. Marián Hajdúch, Ph.D., Olomouc  
prof. MUDr. Ľudovít Jurga, DrSc., Trnava  
doc. MUDr. Juraj Kaušitz, CSc., Bratislava

prof. MUDr. Pavel Klener, DrSc., Praha  
prof. RNDr. Jan Kovařík, DrSc., Brno  
prof. MUDr. Ivan Koza, DrSc., Bratislava  
doc. MUDr. Jozef Mardiak, CSc., Bratislava  
prof. MUDr. Jiří Mayer, CSc., Brno  
MUDr. Michal Mego, Ph.D., Bratislava  
prof. MUDr. Bohuslav Melichar, Ph.D., Olomouc  
doc. MUDr. Beata Mladosičová, CSc., Bratislava  
MUDr. Rudolf Nenuť, CSc., Brno  
MUDr. Jan Novotný, Ph.D., Nová Ves pod Pleší  
prof. MUDr. Dalibor Ondruš, DrSc., Bratislava  
doc. MUDr. Zdeněk Pačovský, CSc., Brno  
prof. MUDr. Luboš Petruželka, CSc., Praha

doc. RNDr. Šárka Pospíšilová, Ph.D., Brno  
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  
RNDr. Ondřej Slabý, Ph.D., Brno  
prof. MUDr. Martin Smrčka, Ph.D., Brno  
MUDr. Tomáš Svoboda, Ph.D., Plzeň  
MUDr. Tomáš Šálek, Bratislava  
prof. MUDr. Anna Vašků, CSc., Brno  
prof. MUDr. Rostislav Vyzula, CSc., Brno  
doc. MUDr. Mária Wagnerová, CSc., Košice

© Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně, Praha 2010

## KLINICKÁ ONKOLOGIE

Vydává Česká lékařská společnost J. E. Purkyně

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

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

Časopis Klinická onkologie je uveden na Seznamu recenzovaných neimpaktovaných periodik vydávaných v ČR, schváleném Radou pro výzkum a vývoj vlády ČR.

Nakladatel: Medica Healthworld, a. s., ve spolupráci s Ambient Media, a. s., Media Hall, Bidláky 20, 639 00 Brno, tel./fax: +420 533 337 340/312.

Odpovědná redaktorka: Ambient Media, a. s. – Mgr. Jana Lounová, e-mail: [jana.lounova@ambientmedia.cz](mailto:jana.lounova@ambientmedia.cz).

Grafická úprava: Medica Healthworld, a. s. – Karel Zlevor. Jazyková korektorka: Mgr. Ivana Dachary.

Vychází 6krát ročně. Předplatné na rok 2010 činí 540 Kč (22 eur).

Informace o předplatném podává a objednávky předplatitelů přijímá: Pavla Hrouzková, e-mail: [pavla.hrouzkova@ambientmedia.cz](mailto:pavla.hrouzkova@ambientmedia.cz).

Informace o podmínkách inzerce poskytuje a objednávky přijímá:

Mgr. Dana Stripaiová, e-mail: [dana.stripaiova@ambientmedia.cz](mailto:dana.stripaiova@ambientmedia.cz), tel.: 725 778 001.

Rukopisy zasílejte na adresu:

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 nebo na [www.klinickaonkologie.cz](http://www.klinickaonkologie.cz).

# nová hvězda na onkologickém trhu



## GENERICKÁ CYTOSTATIKA OD ORIGINÁLNÍ SPOLEČNOSTI



