

KLINICKÁ ONKOLOGIE

Z obsahu:

Současné trendy adjuvantní chemoterapie u nemalobuněčného karcinomu plic

Cytogenetické vyšetření lymfocytů periferní krve po stimulaci IL-2 a CpG oligonukleotidem DSP30 u pacientů s chronickou lymfocytární leukemií

Synchronous Bilateral Testicular Germ Cell Tumour: Case Report and Review of the Literature





VOTRIENT:

Významně oddaluje progresi pokročilého karcinomu ledviny¹

VOTRIENT je účinný, selektivní tyrozinkinázový inhibitor pro léčbu první linie pacientů s pokročilým karcinomem ledvin^{1,2}

- **Významné zlepšení v PFS ve srovnání s placebem u:**
 - **Dříve neléčených pacientů: 11,1 měsíce vs. 2,8 měsíce¹**
 - **Pacientů předléčených cytokiny: 7,4 měsíce vs. 4,2 měsíce¹**
 - **Celkové populace ve studii: 9,2 měsíce vs. 4,2 měsíce¹**
- **Dobrá tolerance**
 - **Většina nežádoucích příhod stupně 1/2¹**
 - **Stomatitida/mukozitida, syndrom ruka-noha stupně 3/4 < 1 %¹**
- **Zachovává kvalitu života¹**

ZKrácená informace o přípravku

NÁZEV A LÉKOVÁ FORMA: Votrient 200 nebo 400 mg potahované tablety. **SLOŽENÍ:** Pazopanibum 200 mg. **INDIKACE:** Přípravek Votrient je indikován u dospělých k podávání v první linii léčby pokročilého karcinomu ledviny a k léčbě pacientů, kterým byly dříve podávány cytokiny pro pokročilé onemocnění. Votrient je indikován k léčbě dospělých pacientů s vybranými subtypy pokročilého sarkomu měkkých tkání, kteří podstoupili chemoterapii pro metastazující onemocnění nebo u pacientů, u kterých došlo k progresi onemocnění během 12 měsíců po (neo) adjuvantní terapii. **DÁVKOVÁNÍ:** Doporučená dávka pazopanibu u obou indikací je 800 mg jednou denně. Dávka se upravuje postupným přidáváním 200 mg podle individuální snášenlivosti. **SPECIÁLNÍ SKUPINY PACIENTŮ:** U poruchy renálních funkcí u pacientů s clearance kreatininu nad 30 ml/min není nutno dávku upravovat. Pacientům s clearance kreatininu nižší než 30 ml/min (0,5 ml/s) je třeba věnovat zvýšenou pozornost. U pacientů s mírnou až středně závažnou poruchou funkce jater před zahájením léčby je doporučeno zahajovat léčbu pazopanibem v dávce 800 mg, event. podle hladin sérového bilirubinu dávkou sníženou na 200 mg viz SPC. U pacientů s mírnou až středně závažnou poruchou jaterních funkcí, která vznikla během léčby pazopanibem, je doporučena dávka 800 mg, event. podle hladiny ALT a bilirubinu dávkou snížená na 200 mg viz SPC. Současné užívání pazopanibu a simvastatinu (statinů) zvyšuje riziko zvýšení hladin ALT a má probíhat s opatrností a za pečlivého monitorování. Pazopanib se nedoporučuje u pacientů s těžkou poruchou jaterních funkcí. Nemá být podáván dětem mladším 2 let. O použití pazopanibu u pacientů ve věku 65 let a starších jsou k dispozici pouze omezené údaje. **KONTRAINDIKACE:** Hypersenzitivita na léčivou látku nebo na kteroukoli pomocnou látku tohoto přípravku. Těžká porucha jaterních funkcí. **ZVLÁŠTNÍ UPOZORNĚNÍ:** Při užívání pazopanibu byly hlášeny případy jaterního selhání (včetně případů končících úmrtím). Bezpečnost a farmakokinetika pazopanibu nebyla zatím u pacientů s preexistující poruchou jaterních funkcí plně stanovena. V klinických studiích s pazopanibem bylo pozorováno zvýšení sérových transamináz ALT, AST, většinou izolovaně bez zvýšení alkalické fosfatázy nebo bilirubinu. **INTERAKCE:** Vzhledem k riziku zvýšení expozice pazopanibu je třeba se

vyvarovat souběžné léčby silnými inhibitory CYP3A4, glykoproteinem P (P-gp) nebo BCRP. V nezbývajících případech souběžné léčby se silnými inhibitory CYP3A4 by se měl pazopanib podávat ve snížené dávce 400 mg denně. Vzhledem k riziku snížení expozice pazopanibu je třeba se vyvarovat podávání induktorů CYP3A4 nebo inhibitorů protonové pumpy (esomeprazol) viz SPC. Protože pazopanib je inhibitor UGT1A1, je při souběžném podávání pazopanibu a substrátů uridin difosfát-glukuronosyltransferázy 1A1 (UGT1A1) (např. irinotekan) nutno postupovat s opatrností. V průběhu léčby pazopanibem se nesmí pít grapefruitový džus. **TĚHOTENSTVÍ A KOJENÍ:** Adekvátní údaje o podávání pazopanibu těhotným ženám nejsou k dispozici. Studie o zvířatech prokázaly reprodukční toxicitu. Možné riziko pro člověka není známo. Pazopanib lze v těhotenství podat pouze v případě, že klinický stav ženy vyžaduje léčbu pazopanibem. Ženy ve fertilním věku by měly být poučeny, aby v průběhu léčby pazopanibem užívaly vhodnou metodu antikoncepce a vyvarovaly se otěhotnění. V průběhu léčby pazopanibem by mělo být kojení přerušeno. **NEŽÁDOUCÍ ÚČINKY:** Nejzávažnějšími závažnými nežádoucími účinky byly tranzitorní ischemická ataka, ischemická cévní mozková příhoda, ischemie a infarkt myokardu, kardiální dysfunkce, gastrointestinální perforace, pšitěl, prodloužení QT intervalu, plicní, gastrointestinální a cerebrální krvácení, tromboembolická nemoc a pneumothorax. Nežádoucí účinky, které vedly k úmrtí pravděpodobně souvisejícímu s léčbou pazopanibem, zahrnovaly gastrointestinální krvácení, plicní krvácení/hemoptýzu, abnormální jaterní funkce, střevní perforaci, ischemickou cévní mozkovou příhodu nebo závažné infekce. Nejčastějšími nežádoucími účinky jakéhokoli stupně byly: průjem, změna barvy vlasů a kůže, hypertenze, nauzea, únava, anorexie, zvracení, dysgeuzie, zvýšení hladiny ALT, AST a bolesti břicha. Časté nežádoucí účinky: trombocytopenie, neutropenie, leukopenie, hypotyreóza, bolest hlavy, závrať, letargie, parestezie, návaly horka, epistaxe, dysfonie, dyspepsie, stomatitida, flatulence, abdominální distenze, porucha jaterních funkcí, hyperbilirubinémie, vyrážka, alopecie, syndrom palmo-plantární erytrodysestazie, hypopigmentace kůže, erytém, pruritus, depigmentace kůže, suchá kůže, hyperhidróza, myalgie, svalové spazmy, proteinurie, asténie, zánět sliznic, otok, bolest na hrudi, snížení hmotnosti, zvýšení hladiny kreatininu v krvi, zvýšení hladiny bilirubinu v krvi, snížení počtu bílých

krvinek, zvýšení lipázy, zvýšení krevního tlaku, zvýšení TSH v krvi, zvýšení GMT, **nově mikroangiopatická angiopatie a zadní reverzibilní encefalopatie (PRES).** Pazopanib není indikován do kombinace s jinou léčivou látkou. **FARMAKOLOGICKÉ VLASTNOSTI:** Inhibitor tyrozinkinázy, ATC kód: L01XE11, inhibitor na receptorech VEGFR-1, -2 a -3, PDGFR- α a - β , SCF. **UCHOVÁVÁNÍ:** Žádné zvláštní podmínky uchovávání se nevyžadují. **DOBA POUŽITELNOSTI:** 2 roky. **BALENÍ:** HDPE lahvička s dětským bezpečnostním uzávěrem, 30, 60 nebo 90 tablet. **DRŽITEL ROZHODNUTÍ O REGISTRACI:** Glaxo Group Ltd., Berkeley Avenue, Greenford, Middlesex UB6 0NN, Velká Británie. **REG. ČÍSLO:** EU/1/10/628/001-004. **REGISTRACE:** 14. 6. 2010. **REVIZE TEXTU:** 13. 12. 2012. **DOSTUPNOST LÉKU:** Lék je vázán na lékařský předpis a pro renální karcinom je hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění, pro sarkom není úhrada stanovena (přesné podmínky úhrady jsou uvedeny na adrese www.sukl.cz).

Před předepsáním léku se, prosím, seznámte s úplnou informací o přípravku, kterou najdete v Souhrnu údajů o přípravku na www.gskkompandium.cz nebo se obraťte na společnost GlaxoSmithKline, s.r.o., Hvězdova 1734/2c, 140 00 Praha 4; e-mail: cz.info@gsk.com; www.gsk.cz. Poslední aktualizace potvrděná.

Případné nežádoucí účinky nám prosím nahláste na cz.safety@gsk.com. SPC přípravku je platné ke dni vydání propagačního materiálu: 1. 3. 2013.

GlaxoSmithKline s.r.o., City Green Court, Hvězdova 1734/2C, Praha 4, Tel: 222 001 111, fax: 222 001 444, e-mail: cz.info@gsk.com, www.gsk.cz, www.zdravi.gsk.cz

Citace:

1. Sternberg CN, et al. Pazopanib in locally advanced or metastatic renal cell carcinoma: results of a randomized Phase III trial. J Clin Oncol 28, 1061-1068
2. Sonpavde G, et al. Pazopanib, a potent orally administered small-molecule multitargeted tyrosine kinase inhibitor for renal cell carcinoma, Expert Opin. Investig. Drugs (2008) 17 (2): 253-261

Votrient®
pazopanib
Stojí za to žít

Jaké bylo ASCO 2013

Každoroční kongres Americké společnosti klinické onkologie ASCO je jedna z nejvíce očekávaných odborných akcí na poli onkologie. V oblasti klinické onkologie jde o nejprestižnější světové fórum. Na letošní kongres bylo zařazeno přes 4 000 sdělení a bylo registrováno více než 32 000 účastníků, kteří se rekrutují nejenom z řad lékařů, nelékařských zdravotnických pracovníků a vědců, ale tradičně i ze zástupců pacientů a jejich organizací. Během kongresu není možné stihnout vše, co by si člověk přál. Při troše snahy a díky velmi dobré elektronické plánovací aplikaci si ale lze najít optimální variantu. Musím ocenit perfektní přípravu, organizaci a logistiku tak veliké akce. Elektronická forma prakticky všech oficiálních materiálů z kongresu téměř zcela vytlačila tištěné zprávy. Také kongresové noviny ASCO Daily News velká část účastníků prolistovala jen ve svém tabletu. Velmi kladně hodnotím možnost podívat se na většinu přednášek včetně následné diskuze kdykoliv později ze záznamu. Pomůže to udělat si vlastní názor především tehdy, pokud jsou přednesená data následně různým způsobem interpretována.

Významných sdělení bylo na kongresu v jednotlivých oborech základního výzkumu a u různých diagnóz mnoho. Dovolím si zmínit jen některé z oblasti léčby kolorektálního karcinomu.

Na první linii léčby pacientů s metastatickým kolorektálním karcinomem (mCRC) s nemutovaným *KRAS* (wt-*KRAS*) byla zaměřena studie III. fáze FIRE III. Všichni pacienti byli léčeni chemoterapií FOLFIRI a randomizováni byli do ramene s bevacizumabem nebo s cetuximabem.

Primárním cílem studie bylo dokázat, že v rameni s cetuximabem bude dosaženo vyšší léčebné odpovědi. Primární cíl studie dosažen nebyl, léčebná odpověď byla v obou ramenech obdobná (FOLFIRI + cetuximab 62,0 % vs FOLFIRI + bevacizumab 58,0 %, $p = 0,183$), také doba přežití bez progresu (PFS) se významně nelišila (10,0 vs 10,3 měsíce). Vzhledem k těmto výsledkům byl poněkud překvapivý statisticky významný rozdíl v celkovém přežití ve prospěch režimu FOLFIRI + cetuximab (28,7 vs 25,0 měsíce, $p = 0,017$). Křivky přežití se od sebe oddělují po 24 měsících, přičemž medián doby léčby prvními liniemi nedosáhl ani v jednom rameni půl roku (4,8 vs 5,3 měsíce). Co bylo příčinou lepšího výsledku při podání cetuximabu v první linii, bylo a ještě bude předmětem diskuzí. Mohla to být jak léčba prvními liniemi, tak rozdílná léčba v dalších liniích již mimo studii.

Studie New EPOC se věnovala neoadjuvantní léčbě resekabilních a hraničně resekabilních jaterních metastáz pacientů s mCRC. Šlo o akademickou studii III. fáze britských autorů, která randomizovala pacienty pro léčbu chemoterapií samotnou nebo chemoterapií s cetuximabem. Do studie bylo zařazeno jen 272 pacientů a pak byla studie zastavena pro inferioritu ramene s cetuximabem.

Švýcarští autoři se věnovali ve studii III. fáze udržovací léčbě monoterapií bevacizumabem v rámci první linie terapie mCRC. V kontrolním rameni byli pacienti bez jakékoliv protinádorové léčby. Do studie byli zařazeni pacienti s minimálně stabilním onemocněním po 4–6 měsících léčby prvními liniemi chemoterapie s be-

vacizumabem. Rozdíl v mediánu PFS byl 1 měsíc ve prospěch udržovací léčby bevacizumabem (9,5 vs 8,5 měsíce, $p = 0,021$), švýcarští kolegové zdůraznili ve farmakoekonomické analýze velkou ekonomickou náročnost monoterapie bevacizumabem.

Studie PRIME již dříve prokázala, že u pacientů s mCRC wt-*KRAS* je panitumumab v kombinaci s chemoterapií FOLFOX účinnější než chemoterapie samotná. Na kongresu byla publikována další analýza, která potvrdila, že podobný prediktivní význam jako stav onkogenu *KRAS* má také stav *NRAS*. Testování onkogenů rodiny *RAS* vede k přesnějšímu výběru pacientů s mCRC vhodných pro léčbu panitumumabem a zlepšení léčebných výsledků. Vyšetření stavu *RAS* bude prováděno v dohledné době také u našich pacientů.

Na závěr zmiňuji studii, jejíž výsledek se přenesl prakticky ihned do naší běžné praxe v MOÚ. Randomizovaná klinická studie III. fáze z Mayo kliniky v Rochesteru neprokázala jakýkoliv význam aplikace kalcia a magnézia ke snížení rizika neuropatie vyvolané oxaliplatinou. Na základě této studie jsme mohli z protokolů chemoterapie zmíněnou premedikaci vynechat. Ušetří se tak práce zdravotního personálu a čas pacientů strávený v aplikačním křesle na stacionáři.

Tolik bezprostřední dojmy. Zajímavých sdělení byla na konferenci celá řada a jistě se o nich mezi českými a slovenskými onkology povede další diskuze.

MUDr. Jiří Tomášek

Klinika komplexní onkologické péče
Masarykův onkologický ústav, Brno

FASLODEXTM v dávce **500mg**
fulvestrant

**VYDRŽTE!
NA CHEMOTERAPII
MÁTE JEŠTĚ ČAS***



ZKRÁCENÝ SOUHRN ÚDAJŮ O PŘÍPRAVKU FASLODEX® 250 mg/5 ml

Kvalitativní a kvantitativní složení: jedna předem naplněná injekční stříkačka obsahuje 250 mg fulvestrantu (fulvestrant) v 5 ml injekčního roztoku. **Terapeutické indikace:** Faslodex je indikován k léčbě postmenopauzálních žen s hormonálně dependentním, lokálně pokročilým nebo metastatickým karcinomem prsu při relapsu onemocnění v průběhu nebo po adjuvantní antiestrogenové terapii nebo progresi onemocnění při léčbě antiestrogeny. **Dávkování a způsob podání:** doporučená dávka je 500 mg jednou měsíčně s dodatečnou dávkou 500 mg po dvou týdnech od první (zahajovací) dávky; Faslodex má být podáván jako dvě 5 ml injekce a aplikován pomalu nitrosvaleově po jedné injekci do každé hýždě (1–2 minuty/injekce). **Kontraindikace:** Faslodex je kontraindikován u pacientek se známou přecitlivělostí na účinnou látku nebo pomocné látky přípravku, v těhotenství, při kojení a při závažném poškození jater. Faslodex se nedoporučuje používat u dětí a dospívajících. **Zvláštní upozornění:** u pacientek s mírným až středním poškozením jater, u pacientek se závažným poškozením ledvin (clearance kreatininu < 30 ml/min) a u pacientek s krvácející diatézou, trombocytopenií či léčených antikoagulancii je třeba užívat Faslodex opatrně. **Interakce:** pacientkám, kterým je podáván fulvestrant současně s inhibitory nebo s induktory CYP 3A4, není nutné upravovat dávku. **Těhotenství a kojení:** Faslodex je kontraindikován v těhotenství a v době kojení. **Nežádoucí účinky:** nejčastěji hlášenými nežádoucími účinky, které jsou obvykle mírné, jsou návaly horka, nevolnost a reakce v místě injekce. Dále zvracení, průjem, nechutenství, zvýšené hladiny jaterních enzymů, vyrážka, infekce urogenitálního traktu, bolest hlavy a zad, astenie. **Zvláštní opatření pro uchovávání:** uchovávejte při 2–8 °C (v chladničce). Uchovávejte v původním obalu, aby byl přípravek chráněn před světlem. **Držitel rozhodnutí o registraci:** AstraZeneca UK Ltd., Macclesfield, Cheshire, Velká Británie. **Registrační číslo:** EU/1/03/269/001. **Datum revize textu:** 17. 2. 2012. **Referenční číslo dokumentu:** 17022012API. Výdej léčivého přípravku vázán na lékařský předpis a je hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění. Předtím, než přípravek předepíšete, přečtěte si pozorně úplnou informaci o přípravku, kterou naleznete na adrese: AstraZeneca Czech Republic s.r.o., Plzeňská 3217/16, 150 00 Praha 5, tel.: +420 222 807 111, fax: +420 222 807 221 nebo na www.astrazeneca.cz nebo na webových stránkách Evropské agentury pro léčivé přípravky <http://www.ema.europa.eu/>.

Registrovaná ochranná známka FASLODEX je majetkem AstraZeneca plc. © AstraZeneca 2012

HR+ hormonálně pozitivní

* Fulvestrant v dávce 500 mg významně snižuje riziko progresu onemocnění o 20 % oproti dávce 250 mg (HR = 0,80; 95% CI 0,68–0,94; p = 0,006)

Reference: 1. DiLeo A. et al. J Clin Oncol 2010; 28: 4594–4600. 2. NCCN guidelines, Breast Cancer, V.2.2010.

AstraZeneca 

Obsah | Contents

Editorial	231
PŘEHLEDY REVIEWS	
Moderní zobrazovací techniky pro antracyklinová cytostatika – literární přehled	239
Modern Imaging Techniques for Anthracycline Cytostatics – Review of the Literature Blažková I., Ryvolová M., Křížková S., Jílková E., Kopel P., Eckschlager T., Stiborová M., Adam V., Kizek R.	
Současné trendy adjuvantní chemoterapie u nemalobuněčného karcinomu plic	245
Contemporary Trends of the Adjuvant Chemotherapy in Non-small Cell Lung Cancer Kolek V.	
Degradace proteinů ubiquitin-proteazomovou dráhou	251
Degradation of Proteins by Ubiquitin-Proteasome Pathway Matějčková J., Kubiczková L., Sedlářková L., Potáčková A., Hájek R., Ševčíková S.	
PŮVODNÍ PRÁCE ORIGINAL ARTICLES	
Karcinom pankreatu a faktory životního stylu	257
Pancreatic Cancer and Lifestyle Factors Azeem K., Ševčíková J., Tomášková H., Horáková D., Procházka V., Martínek A., Shonová O., Janout V., Kollárová H.	
Cytogenetické vyšetření lymfocytů periferní krve po stimulaci IL-2 a CpG oligonukleotidem DSP30 u pacientů s chronickou lymfocytární leukemií	263
Chromosome Banding Analysis of Peripheral Blood Lymphocytes Stimulated with IL-2 and CpG Oligonucleotide DSP30 in Patients with Chronic Lymphocytic Leukemia Štěpanovská K., Vaňková G., Némethová V., Tomášková L., Šmuhařová P., Divišková E., Vallová V., Kuglík P., Plevová K., Oltová A., Doubek M., Pospíšilová Š., Mayer J.	
Registr neuroendokrinních nádorů (NET) v ČR po třech letech sběru dat	271
Registry of Neuroendocrine Tumors (NET) in Czech Republic After Three Years of Data Collection Vítek P., Strenková J., Sedláčková E., Barkmanová J., Mužík J., Louthan O.	
KAZUISTIKY CASE REPORTS	
Synchronous Bilateral Testicular Germ Cell Tumour: Case Report and Review of the Literature	281
Synchronní bilaterální testikulární tumor ze zárodečných buněk: kazuistika a přehled literatury Detti B., Scoccianti S., Cassani S., Franzese C., Di Cataldo V., Villari D., Cai T., Desideri I., Livi L., Lapini A., Nicita G., Carini M., Biti G.	
Je ten istý tyrozín-kinázový inhibitor efektivní aj po vzniku mozgových metastáz? Kazuistika	286
Is the Same Tyrosine Kinase Inhibitor Still Effective After Development of Brain Metastases? A Case Report Obertová J., Mego M., Palacka P., Rajec J., Chovanec M., Mardiak J.	

AKTUALITY V ONKOLOGII | ONCOLOGY HIGHLIGHTS

Týdenní vs dvoutýdenní aplikace cetuximabu v léčbě metastatického kolorektálního karcinomu – aktuální klinická data 291

Němeček R.

Zajímavé případy z nutriční péče v onkologii 295

Šachlová M., Maňásek V., Tomáška M., Holečková P., Pazdrová G., Krčmová L., Beneš P.

SDĚLENÍ | SHORT COMMUNICATIONS

Dimenze onkochirurgie 296

Sphere of Surgical Oncology

Horváth T

RŮZNÉ | VARIOUS

Oncology in Images 298

Giant Metastatic Testicular Tumor

Szturz P., Bednařík O., Brančíková D., Mechl Z., Mayer J.

Bezplatná distribuce časopisu členům České onkologické společnosti České lékařské společnosti
Jana Evangelisty Purkyně je uskutečněna za podpory společnosti



I tak může vypadat zmenšení nádoru

Regrese nádoru je prvním krokem k úspěšnému dosažení léčebných cílů a prodloužení přežití.¹ Časná regrese nádoru je spojena s významným prodloužením přežití při léčbě přípravkem Erbitux® v 1. linii u pacientů s metastazujícím kolorektálním karcinomem exprimujícím receptor epidermálního růstového faktoru a vykazujícím gen KRAS divokého typu.^{2,3} Erbitux® také navíc přináší zmírnění příznaků nemoci a zlepšení kvality života.⁴

Merck Serono Oncology | Combination is key™

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

Léčivá látka: cetuximabum. **Indikace:** K léčbě pacientů s metastazujícím kolorektálním karcinomem (mCRC) exprimujícím receptor epidermálního růstového faktoru (EGFR) a vykazujícím gen KRAS divokého typu. Používá se v kombinaci s chemoterapií na základě irinotekanu, v první linii léčby v kombinaci s FOLFOX, a/nebo jako samostatná látka k léčbě pacientů, u kterých selhala léčba na základě oxaliplatinu a irinotekanu a u pacientů, kteří nesnáší irinotekan. 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 je 400 mg/m², následující týdenní dávky jsou každá 250 mg/m². Pacienti musí být premedikováni antihistaminiky a kortikosteroidy. **Kontraindikace:** U pacientů se známou těžkou hypersenzitivní reakcí na cetuximab. Kombinace s chemoterapií zahrnující oxaliplatinu je kontraindikována u pacientů s metastazujícím kolorektálním karcinomem s mutovaným genem KRAS nebo u pacientů, u nichž není mutační stav genu KRAS u kolorektálního karcinomu znám. Před zahájením kombináční léčby se musí vzít v úvahu kontraindikace pro současně užívané chemoterapeutické látky nebo radiační terapii. **Nežádoucí účinky:** Mírné až středně závažné reakce zahrnují příznaky jako je horečka, třesavka, nevolnost, vyrážka nebo dušnost. K těžkým formám 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. V kombinaci s lokální radiační terapií se objevily nežádoucí účinky jako mukozitida, radiační dermatitida a dysfagie nebo leukopenie, převážně ve formě lymfocytopenie. Mezi kožní reakce patří akneiformní vyrážka, poruchy nehtů (paronychie). **Interakce:** V kombinaci s infuzemi fluoropyrimidinů se zvyšuje četnost výskytu srdeční ischemie, včetně infarktu myokardu a městnavého srdečního selhání, stejně jako četnost výskytu syndromu ruka – noha. **Léková forma a balení:** Infuzní roztok. Balení obsahuje jednu 20 ml lahvičku s obsahem 100 mg cetuximabu. **Uchování:** Uchovávejte v chladničce (2–8 °C). **Držitel rozhodnutí o registraci:** Merck KGaA, 64293 Darmstadt, Německo. **Registrační číslo:** EU/1/04/281/003. **Datum poslední revize textu:** 02/2013. Výdej přípravku je vázán na lékařský předpis a je hrazen z prostředků zdravotního pojištění. Před předepsáním se seznamte s úplnou informací o přípravku.

Reference: 1. Buyse M. et al. Lancet 2000; 356:373–378. 2. Piessevaux H. et al. Ann Oncol 2012 23(Supplement 11):xi37. 3. Modest DP. et al. Acta Oncologica 2012; Early Online: 1–7. 4. Au H J. et al. J Clin Oncol 2009; 27:1822–1828.

Úplnou informaci o přípravku obdržíte na adrese:
Divize Merck Serono, Merck spol. s r.o.
Na Hřebenech II 1718/10, 140 00 Praha 4
Tel.: +420 272 084 211, Fax: +420 272 084 307
E-mail: erbitux@merck.cz

Redakce časopisu **Klinická onkologie** vypisuje

SOUTĚŽ O NEJLEPŠÍ PRÁCI

v kategoriích:

- Původní práce
- Přehled
- Kazuistika

Podmínky soutěže:

1. Do soutěže budou automaticky zařazeny všechny práce přijaté do redakce od 1. 12. 2012 a publikované v roce 2013.
2. Práce budou hodnoceny členy redakční rady.
3. Hlavními kritérii hodnocení budou odborná úroveň, originalita a přínos zveřejněných údajů.
4. Výsledky soutěže budou vyhlášeny v časopise Klinická onkologie 1/2014.

Nejlepší práce z každé kategorie bude oceněna částkou 10 000 Kč.

Instrukce pro autory naleznete na internetových stránkách České onkologické společnosti ČLS JEP www.linkos.cz nebo na stránkách www.klinickaonkologie.cz.
Dotazy a příspěvky můžete zasílat na adresu klinickaonkologie@mou.cz.

Proč publikovat v časopise Klinická onkologie?

Vaše práce budou dohledatelné ve 4 renomovaných světových bibliografických databázích MEDLINE/PubMed, EMBASE/Excerpta Medica, SCOPUS, Index Copernicus a tuzemské databázi Bibliographia medica chechoslovaca.

Vaše práce budou uznávány při hodnocení grantů, pro obhajoby doktorského studia a pro habitační a profesorské řízení.

Vaše práce budou čteny. Časopis Klinická onkologie patří k nejčtenějším onkologickým časopisům!

Partner:



Tarceva = 1 tableta denně, která významně prodlužuje život všem skupinám nemocných s nemalobuněčným karcinomem plic



Tarceva[®]
erlotinib

Více informací o Tarcevě
naleznete také na
www.tarceva.cz

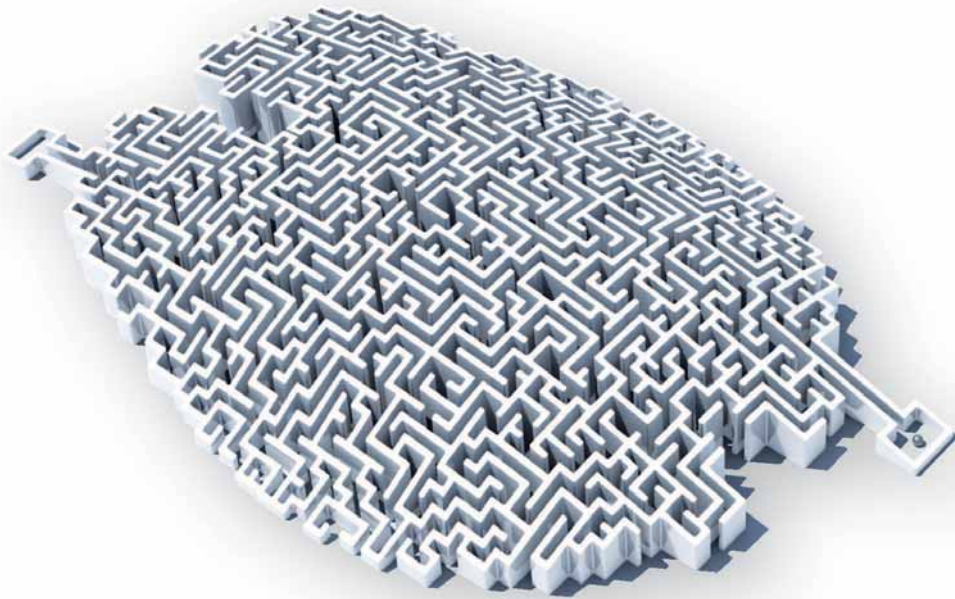


Roche

Tarceva[®] 100 mg potahované tablety, Tarceva[®] 150 mg potahované tablety - Základní informace o přípravcích

Léčivá látka: erlotinibum. **Držitel rozhodnutí o registraci:** Roche Registration Limited, 40 Broadwater Road, Welwyn Garden City, Hertfordshire, AL7 3AY, Velká Británie. **Registrační čísla:** EU/1/05/311/001, EU/1/05/311/002 a EU/1/05/311/003. **Schválené indikace pro použití:** Prvoliniová léčba pacientů s lokálně pokročilým nebo metastazujícím nemalobuněčným karcinomem plic (NSCLC) s aktivujícími mutacemi EGFR. V monoterapii k udržovací léčba pacientů s lokálně pokročilým nebo metastazujícím NSCLC se stabilizací nemoci po 4 cyklech standardní chemoterapie první linie s platinou. Léčba pacientů s lokálně pokročilým nebo metastazujícím NSCLC v případě, že alespoň jednou došlo k selhání předchozí chemoterapeutické léčby. V kombinaci s gemcitabinem k léčbě pacientů s metastazujícím karcinomem pankreatu. Při předepisování je nutno vzít v úvahu faktory související s delším přežitím. Pokud se u nemocných s karcinomem pankreatu do 4–8 týdnů neobjeví vyrážka, je nutno znovu zvážit další léčbu. **Kontraindikace:** Vážná přecitlivělost na erlotinib nebo na kteroukoliv z pomocných látek. **Zvláštní upozornění:** Kuřákům je třeba doporučit přerušit kouření (možné snížení plazmatických koncentrací erlotinibu). Při akutním výskytu nových a/nebo progresivních nevysvětlených plicních symptomů (např. dyspnoe, kašel a horečka), by terapie přípravkem měla být přerušena až do vyhodnocení diagnózy. Pokud je diagnostikována intersticiální plicní nemoc nebo ulcerativní keratitida je třeba podávání přípravku přerušit nebo ukončit. Byly zaznamenány vzácné případy výskytu hypokalémie a renálního selhání jako následek těžké dehydratace, především u pacientů současně léčených chemoterapií. Zvýšené riziko vzniku perforace gastrointestinálního traktu u pacientů, kteří současně užívají anti-angiogenní léčivé přípravky, kortikosteroidy, nesteroidní protizánětlivé léčivé přípravky a/nebo chemoterapii s taxany, nebo kteří mají anamnézu peptického vředu nebo divertikulózy. Vzácně byly hlášeny případy jaterního selhání; bulosní, puchýřnaté nebo exfoliativní kožní změny; oční poruchy (ve výjimečných případech případy perforace nebo ulcerace rohovky). Léčba Tarcevou se nedoporučuje u nemocných s těžkou poruchou funkce jater a/nebo ledvin. **Klinicky významné interakce:** Při kombinování erlotinibu se substráty CYP3A4 je třeba postupovat se zvýšenou opatrností. Neměla by se užívat kombinace erlotinibu s inhibitory protonové pumpy, s H₂ antagonisty a antacidy. Tablety obsahují laktózu a neměly by být podávány pacientům s dědičnými problémy s nesnášenlivostí galaktózy, Lapp-laktázovou deficiencí nebo glukózo-galaktózovou malabsorpcí. **Hlavní klinicky významné nežádoucí účinky:** Nejčastěji hlášenými nežádoucími účinky byly únava, vyrážka (mírná až středně těžká erytematózní nebo papulopustulární vyrážka) a průjem, u většiny nemocných stupně 1-2 bez nutnosti lékařské intervence. Další nežádoucí účinky: infekce, anorexie, dyspnoe, paronychie, xerodermie, krvácení do zažívacího traktu, abnormální funkční jaterní testy, keratitida. **Dávkování a způsob podávání:** Viz platné souhrny údajů o přípravcích Tarceva. **Těhotenství a kojení:** Pravděpodobná míra rizika u člověka není známa. Ženy v plodném věku musí být upozorněny, že při užívání přípravku nesmí dojít k otěhotnění. Není známo, zda se erlotinib vylučuje do mateřského mléka. Kvůli možnému riziku pro kojení by ženám užívajícím přípravek Tarceva mělo být doporučeno během terapie nekojit. **Dostupná balení přípravku:** Potahované tablety 30 × 150 mg erlotinibu, 30 × 100 mg erlotinibu. **Podmínky uchovávání:** Žádné zvláštní podmínky nejsou vyžadovány. Doba použitelnosti: 4 roky. **Datum poslední revize textu:** 30. 4. 2013. **Výdej léčivého přípravku je vázán na lékařský předpis. Přípravek je hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění. Další informace o přípravku získáte z platných Souhrnů údajů o přípravcích Tarceva 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.emea.europa.eu/>**

LET'S THINK



**BOEHRINGER INGELHEIM IS COMMITTED TO ONCOLOGY
AND ADVANCED RESEARCH IN THE AREAS OF:**

- ANGIOGENESIS INHIBITION
- SIGNAL TRANSDUCTION INHIBITION
- CELL-CYCLE KINASE INHIBITION

WWW.INONCOLOGY.COM

LET'S WORK

ONCOLOGY FROM BOEHRINGER INGELHEIM

Moderní zobrazovací techniky pro antracyklinová cytostatika – literární přehled

Modern Imaging Techniques for Anthracycline Cytostatics – Review of the Literature

Blažková I.¹, Ryvolová M.^{1,2}, Křížková S.^{1,2}, Jílková E.¹, Kopel P.^{1,2}, Eckschlager T.³, Stiborová M.⁴, Adam V.^{1,2}, Kizek R.^{1,2}

¹ Ústav chemie a biochemie, Agronomická fakulta Mendelovy univerzity v Brně

² CEITEC – Středoevropský technologický institut, VUT v Brně

³ Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN v Motole, Praha

⁴ Katedra biochemie, Přírodovědecká fakulta UK v Praze

Souhrn

Antracyklinová cytostatika lze pozorovat na úrovni organel, buněk i celých organismů díky jejich fluorescenčním vlastnostem. Zobrazovací techniky na bázi detekce fluorescence mohou být použity nejen pro pozorování interakce léčiva s nádorovými buňkami, ale také mohou sloužit pro cílení léčby nádorů nanočásticemi s obsahem antracyklinového cytostatika. V klinické praxi je využíván doxorubicin a daunorubicin uzavřený do lipozomů jako zástupce nanočástic vhodných pro cílenou léčbu. Hlavní výhodou lipozomálních preparátů je omezení nežádoucích účinků v důsledku rozdílné farmakokinetiky a distribuce léku v organismu. Vzhledem k tomu, že stále nejsou prozkoumány všechny biologické mechanismy účinku antracyklinových léčiv, nabízejí moderní zobrazovací techniky nástroj pro *in vivo* studium těchto mechanismů.

Klíčová slova

nanomedicína – cytostatika – doprava léčiv – doxorubicin – lipozomy

Summary

Anthracycline cytostatics can be observed at the level of organelles, cells and whole organisms due to their fluorescent properties. Imaging techniques based on detection of fluorescence can be used not only for observation of drug interaction with tumor cells, but also for targeting therapy of tumors with nanoparticles containing anthracycline cytostatics. Doxorubicin and daunorubicin, enclosed in liposomes, as representatives of nanoparticles suitable for targeted therapy, are used in clinical practice. The main advantage of liposomal drugs is to reduce the side effects due to differences in pharmacokinetics and distribution of the drug in the body. Due to the fact that all biological mechanisms of action of anthracycline drugs are not still fully understood, modern imaging techniques offer tool for *in vivo* studies of these mechanisms.

Key words

nanomedicine – cytostatic agents – drug delivery systems – doxorubicin – liposomes

Práce byla podpořena granty Liga proti rakovině Praha 2012 (Ryvolová), CYTORES GA ČR P301/10/0356, IGA IP22/2013 a projektem koncepčního rozvoje výzkumné organizace 00064203.

This study was supported by League against Cancer Prague 2012 (Ryvolová), CYTORES GA CR P301/10/0356, IGA IP22/2013 and the project for conceptual development of research organization 00064203.

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

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

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

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



prof. Ing. René Kizek, Ph.D.
Ústav chemie a biochemie
Agronomická fakulta
Mendelova univerzita v Brně
Zemědělská 1
613 00 Brno
e-mail: kizek@sci.muni.cz

Obdrženo/Submitted: 30. 12. 2012
Přijato/Accepted: 28. 5. 2013

Úvod

Nanomedicína je moderní obor zabývající se medicínskými aplikacemi nanotechnologií. Je založena na třech vzájemně se překrývajících oblastech, především na: 1. nanostrukturních materiálech s potenciálem pro konstrukci diagnostických nanosenzorů; 2. prostředcích pro cílenou distribuci léčiv a vývoji inteligentních léků; 3. molekulární medicíně a vývoji molekulárních strojů, které umožní rychlou diagnostiku následovanou odstraněním defektu (likvidací patogenu, opravou chromozomu, neurochirurgickými zákroky). Nejpropracovanější aplikace nanomedicíny je možné najít v oblastech diagnostických senzorů, zobrazovacích metod, v chirurgických oborech a farmakoterapii [1,2].

Klinicky ověřovaná léčiva na bázi nanotechnologií

V oblasti základního i aplikovaného výzkumu probíhá intenzivní vývoj nanoléčiv (léků enkapsulovaných v nanočásticích nebo absorbovaných na jejich povrchu). Převážně z technologických důvodů je nejrozšířenější enkapsulace léčiv v liposomech. Autoři přehledového článku [3] uvádějí, že je k dispozici pět cytostatických preparátů na bázi lipozomů, z toho ve třech případech je účinnou látkou doxorubicin, v jednom daunorubicin a v jednom cytosin arabinosid. V České republice a na Slovensku jsou registrovány čtyři přípravky na bázi nanotechnologií, a to doxorubicin a cytarabin enkapsulované v liposomech (Caelyx, Myocet a DepoCyte) a paclitaxel navázaný na albuminové nanočástice (Abraxane), viz údaje v databázích Státního ústavu pro kontrolu léčiv (www.sukl.cz) a Státního ústavu pro kontrolu léčiv (www.sukl.sk). Další léčiva jsou ve fázi klinických studií, z toho je účinnou látkou doxorubicin, cisplatina a analog cisplatiny L-NDDP. Intenzivně se testují další cytostatické látky: paclitaxel, mitoxantron, vincristin, tretinoin, camptotecin, lurtotecan, vinorelbin, topotecan, irinotecan, cytarabin a aktivní metabolit irinotecanu SN-38. Kromě protinádorových léků jsou využívány i jiné lipozomální preparáty (lipozomální amfotericin B, mifamurtid, morfin k epidurální aplikaci nebo některé virové vakcíny) [3]. Dále je pod názvem Abraxane dostupný paclitaxel na-

vázaný na albumin pomocí technologie NaB (Nanoparticle albumin-bound technology). Tento lék je v některých státech registrován pro léčbu karcinomu prsu při selhání chemoterapie na bázi antracyklinů. Ve fázi klinických studií je preparát docetaxelu na bázi polymerních nanočástic (Genexol-PM) [4].

Nanočástice pro cílený transport doxorubicinu

Vzhledem k faktu, že doxorubicin patří mezi nejpoužívanější cytostatika (akutní myeloidní i lymfoidní leukemie, neuroblastom, Hodgkinův lymfom, karcinomy prsu, plic, močového měchýře a další) [5–7], je upravován za využití nanotechnologií s cílem snížit toxické účinky. Je dobře známo, že použití doxorubicinu je limitováno jeho vysokou kardiotoxicitou. Při překročení kumulativní dávky, která je 400 mg/m² (některé zdroje udávají i 450 mg/m² [8] nebo 570 mg/m² [9]), se výrazně zvyšuje riziko vzniku kardiomyopatie. Proto je při dosažení této kumulativní dávky nutné volit jinou, mnohdy méně efektivní léčbu [10–12]. Jednou z možností snížení kardiotoxicity doxorubicinu jsou různé metody jeho cíleného transportu.

Enkapsulace doxorubicinu

Nově připravené nanomateriály umožnily zkoumání pasivní i aktivní cílené strategie využitelné pro léčbu nádorů [13–15]. Specifické nosiče by měly dopravit léčivo do konkrétního místa působení, a zacylit tak léčbu jen na danou tkáň, soubor buněk, jednotlivou buňku či na buněčné kompartmenty [8,16]. Cílenou léčbou lze účinně omezit nežádoucí účinky terapie a potlačit některé ze známých mechanismů rezistence nádorových buněk.

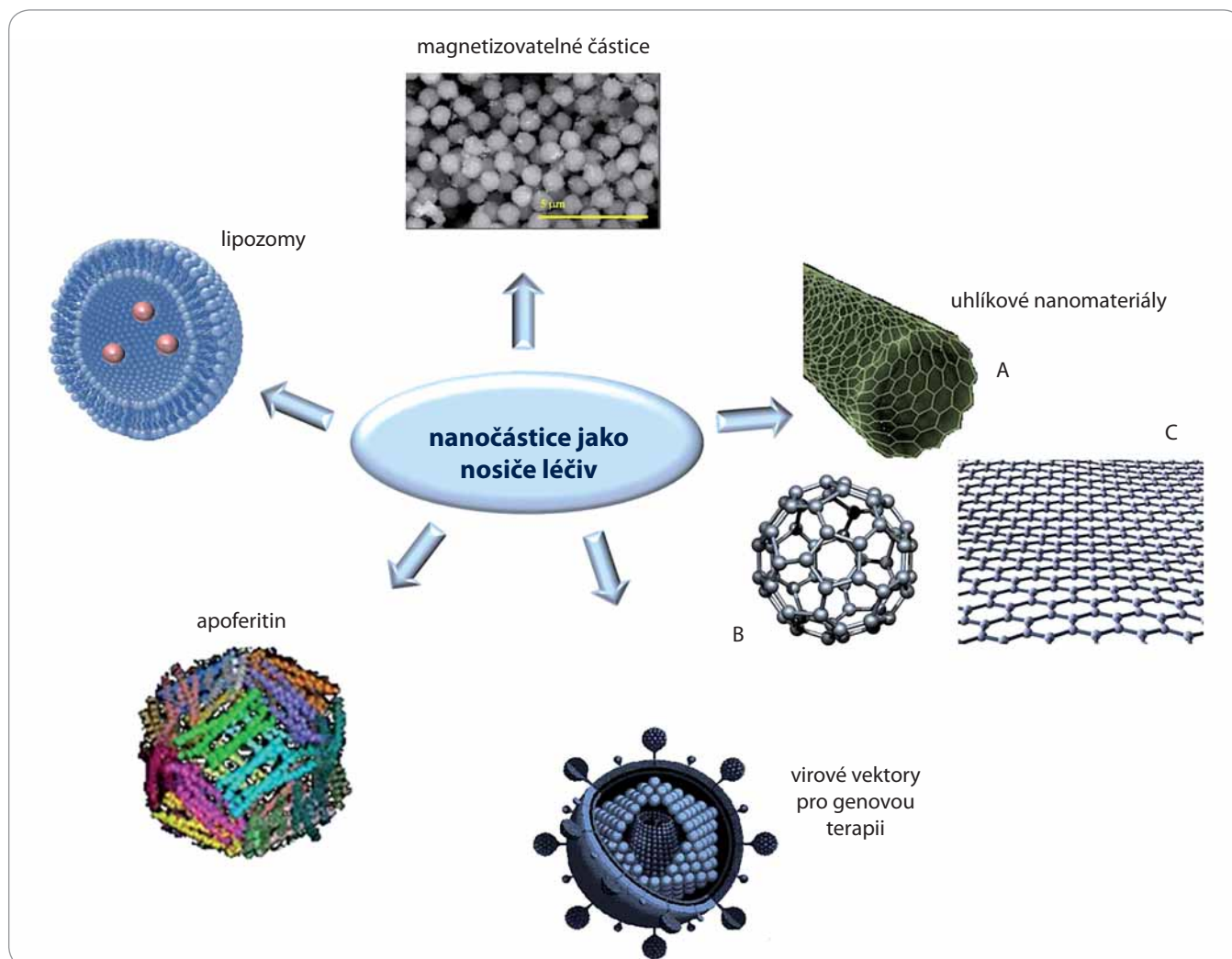
Lipozomální formy doxorubicinu

Mezi perspektivní lékové formy využitelné při řízeném uvolňování a cílené distribuci léčiv patří komplexy léčiv s polymery (obr. 1), jako jsou biologicky rozložitelné mikročástice, dendrimery, lipozomální lékové formy, nosiče na bázi bílkovin a další [9,10]. Lipozomy jsou váčky tvořené z dvojvrstvy složených lipidů (fosfolipidů), přičemž jejich polární část je orientována do vodné fáze.

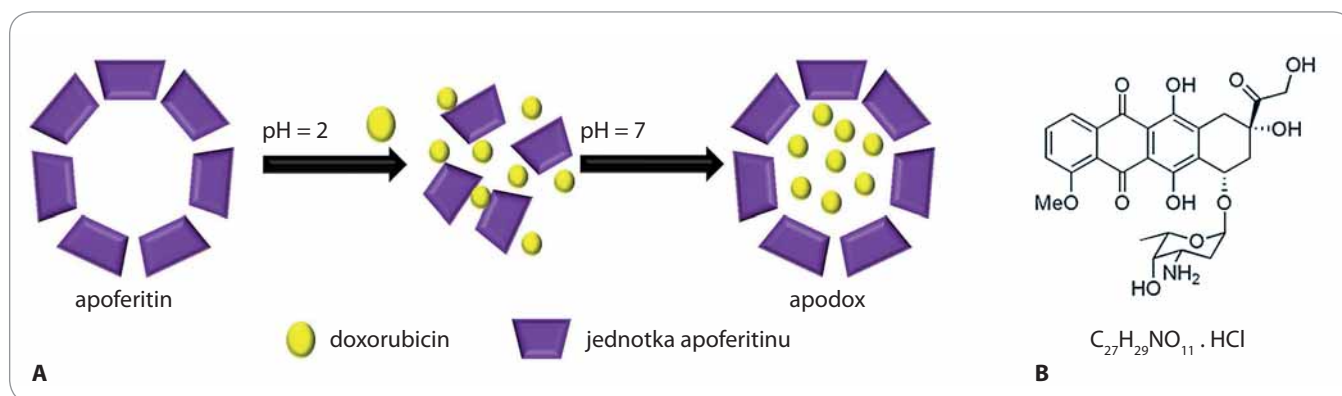
Mohou být jednovrstevné nebo vícevrstevné a jejich velikost se pohybuje od 400 nm do 2,5 μm [11]. Farmakokinetika a biodistribuce lipozomů závisí na jejich velikosti, náboji na povrchu a složení membrány [12]. Selektivitu lze zvýšit navázáním protilátek proti antigenu specifickému pro nádor nebo peptidů vážících se na nádorové endotelie na povrch lipozomů [17]. Lipozomy umožňují delší setrvání doxorubicinu v krevním oběhu, zlepšují jeho stabilitu a dostupnost pro nádorovou tkáň [18]. Lipozomální doxorubiciny dodávané pod firemním názvem Myocet a Doxil byly první nanočástice s cytostatiky schválené pro klinické účely. Tyto preparáty se liší přítomností polyetylen glykolové vrstvy (PEG) u Doxilu a fosfatidylcholinu z vaječného žloutku (EPC/Chol) u Myocetu [3,19,20]. Z klinických studií vyplývá, že obě tato léčiva mají delší poločas cirkulace v krvi v porovnání s volnou látkou, přičemž Doxil jej má delší než Myocet. Srovnání volného doxorubicinu a Myocetu u pacientek s metastazujícím karcinomem prsu neprokázalo rozdíl v léčebných výsledcích. Přežití v prvním roce bylo 64 % ku 69 % a průměrné přežití bez progresu 3,8 ku 4,3 měsíce. Výhodou je nízký výskyt kardiotoxicity u Myocetu oproti volnému doxorubicinu (13 % v porovnání s 29 %) [3]. V současnosti jsou lipozomální cytostatika registrována pro léčbu Kaposiho sarkomu, karcinomu ovarií a prsu [4,21–23].

Apoferitinové formy doxorubicinu

Další, zatím experimentální možnost je enkapsulace doxorubicinu feritinem. Feritin je bílkovina běžně se vyskytující v buňkách a tělních tekutinách, která ve své struktuře váže železo ve formě hydroxid-oxidu železitého [24]. Je tvořen 24 bílkovinnými jednotkami uspořádanými do tvaru koule. Uvnitř této struktury se nachází dutina o velikosti 8 nm, do které se může v organismu uložit až 4 500 atomů železa, které je tak udržováno v rozpustné formě [25,26]. Bez přítomnosti iontů železa se protein nazývá apoferitin (obr. 2) a do jeho dutiny lze uzavřít jinou látku. Strukturu apoferitinu lze jednoduše ovlivňovat změnami pH, a tím řídit enkapsulaci látek do jeho dutiny, stejně jako jejich uvolnění [26], jak je schematicky zobrazeno na obr. 2.



Obr. 1. Schéma vybraných nosičů na bázi nanočástic: lipozomy, magnetizovatelné částice, apoferritin, uhlíkové nanomateriály (A – nanotrubičky, B – fullereny, C – grafen), virové vektory.

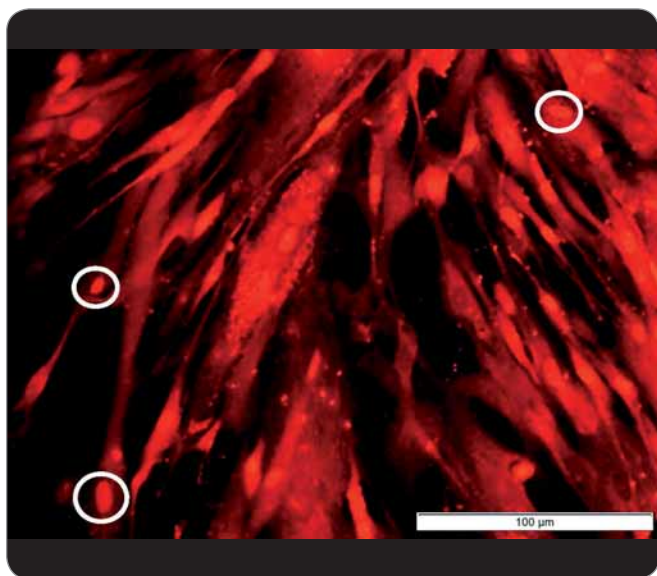


Obr. 2 A. Schéma vlivu pH na strukturu apoferitinu. Obr. 2 B. Chemický vzorec doxorubicinu (7S,9S)-7-[(2R,4S,5S,6S)-4-amino-5-hydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxy-6,9,11-trihydroxy-9-(2-hydroxyacetyl)-4-methoxy-8,10-dihydro-7H-tetracene-5,12-dione.

Uhlíkové nanočástice pro doxorubicin
Uhlíkové nanotrubičky (CNTs) jsou duté grafitové nanomateriály (2–20 nm v průměru), které mohou být tvořeny

jednou nebo více stěnami (SWCNT, MWCNT) [27]. V oblastech biomedicíny jsou CNTs velmi užitečné v diagnostice (Raman, fluorescenční a radiologické

zobrazování) [28,29]. Mají vynikající strukturní, optické a elektrické vlastnosti a díky snadnému pronikání přes buněčnou membránu se zdají být dob-



Obr. 3. Fotografie fibroblastů (HFF) vystavených působení doxorubicinu (inkubace buněk s doxorubicinem o koncentraci 2 mg/ml po dobu 45 minut), pořízena za použití fluorescenčního mikroskopu při excitaci 520–550 nm a emisi 580 nm, 400krát zvětšeno. Jádra fibroblastů jsou vyznačena bílou barvou. Fluorescence byla pozorována pomocí fluorescenčního mikroskopu Olympus IX 71 (Japonsko).



Obr. 4. Myš s injekčně aplikovaným cytostatikem doxorubicinem o koncentraci 2 mg/ml do levého stehenního svalu (2 mm pod povrch). Fotografie byla pořízena při excitaci 480 nm a emisi 600 nm, teplota 37 °C, myš udržována po celou dobu v anestezii. Analýza byla provedena přístrojem In Vivo Xtreme (Carestream, USA).

rým nástrojem pro vývoj pokročilých nosičů léčiv [27,30–32]. Doxorubicin navázaný na povrch či do dutiny uhlíkové nanočástice (π - π interakce) může být s daleko větší účinností selektivně dopraven do nádorových buněk [32,33]. Vazba doxorubicinu na uhlíkové nanotrubic je možná za běžných podmínek, oproti tomu k jejich uvolnění je nutné nízké pH [34]. Nová léčiva na bázi doxorubicinu vázaného na CNTs vykazují zvýšený terapeutický efekt ve srovnání s nemodifikovaným doxorubicinem nebo doxilem, proto mohou uhlíkové nanotrubic konjugované s lipozomálním doxorubicinem sloužit jako další platforma pro cílenou aplikaci léčiva do buněk [27]. Na druhou stranu je třeba počítat s relativně problematickým uvolňováním léčiva z povrchu CNTs [35]. Díky stejnému principu interakce lze stejným způsobem využít i adsorpci léčiva na uhlíkový materiál s obdobnou strukturou – grafen [36].

Z dalších uhlíkových materiálů vhodných pro enkapsulaci je nutné zmínit použití fullerénů [37]. Fullerény jsou „kulovité“ (často mnohostěnné) molekuly tvořené 20 a více atomy uhlíku. Pro své vlastnosti (velmi malá velikost mo-

lekuly, elektrické, antioxidační či antibakteriální vlastnosti) byly fullerény studovány pro potenciální biomedicínské aplikace [38]. Fullerény jsou schopny proniknout neporušenou kůží, a proto jsou vhodné jako nanoaplikace v buněčném a genovém transportu [39]. V současné době byly navrženy a jsou intenzivně zkoumány konjugáty fullerénů s běžně používanými cytostatiky, jako jsou doxorubicin, daunorubicin či paclitaxel [40]. Předběžné studie naznačují, že konjugát fullerénů s paclitaxelem je schopen dodávat větší množství paclitaxelu než běžně používané léčivo Abraxane®. Zvýšené množství paclitaxelu tak sníží infuzní čas a zvýší protinádorovou účinnost [41].

In vivo nanomedicínské zobrazování v onkologii **Fluorescenční mikroskopie a průtoková cytometrie**

Fluorescenční mikroskopie a průtoková cytometrie jsou základními metodami používanými pro zobrazování na úrovni buněk. Doxorubicin v koncentraci 5 μ M můžeme v buněčných strukturách zobrazit díky emisi červeného záření s maximem o vlnové délce okolo 555–600 nm

(emitovaná vlnová délka se liší podle rozpouštědla, obr. 3) po excitaci světlem o vlnové délce mezi 470 a 550 nm [42].

Ve spojení s přenašeči doxorubicinu na bázi nanomateriálů, jako jsou nanočástice s povrchem modifikovaným komplexem polyetylen glykolu a galaktózy [43] nebo folátem modifikované chitosan/doxorubicin poly(butyl)kyanoakrylátové nanočástice [44], byla potvrzena endocytóza nanočástic jak pomocí galaktózového receptoru HepG2 buněk, tak prostřednictvím folátového receptoru buněk MCF-7. Pro duální cílený transport doxorubicinu pomocí magnetických nanočástic a uhlíkových nanotubic s využitím kyseliny folové byla použita jak vlastní fluorescence doxorubicinu, tak fluorescence fluoresceinu jako druhé fluorescenční značky [45]. Měření fluorescence doxorubicinu v buňkách *in vitro* se využívá také k hodnocení chemoresistence vyvolané transportem cytostatika z buňky proteiny ze skupiny ATP-vážících transportérů (ABC proteiny) a k testování inhibitorů těchto transportních mechanismů [46]. Význam tohoto vyšetření i použití inhibitorů transportérů ze skupiny ABC proteinů

pro klinickou praxi je bohužel značně omezený [47,48].

In vivo fluorescenční zobrazování

Cílený transport doxorubicinem modifikovaných přenašečů pomocí různých druhů nanočástic [49–51] může být navíc zefektivněn použitím ultrazvuku [52]. Fluorescenci doxorubicinu lze využít k zobrazení doxorubicinu navázaného na magnetizovatelné částice, v buňkách *in vitro* (obr. 3), ale i v živém laboratorním zvířeti (obr. 4). U bezsrstých myší (nu/nu) lze velice dobře pozorovat distribuci doxorubicinu v těle zvířete. Velikým problémem u fluorescenčního *in vivo* zobrazování je silná autofluorescence tkání [53,54] a velký rozptyl záření při průchodu tkání. Z těchto důvodů fluorescence doxorubicinu není dostatečná pro detekci v hlubších vrstvách tkání. Možností, jak zajistit dostatečnou fluorescenci, a výrazně tak zvýšit citlivost jeho detekce, je konjugace s kvantovými tečkami (quantum dots – QDs), které poskytují vynikající optické vlastnosti [55].

Novým trendem v *in vivo* zobrazování jsou takzvané aktivovatelné sondy [56–58]. Tyto sondy se skládají ze dvou částí: 1. fluorescenční část, 2. odštěpitelná část. Fluorescenční značka nevykazuje fluorescenci až do doby, kdy dojde k odštěpení odštěpitelné části, a tím k aktivaci sondy. Hlavní výhodou tohoto druhu sond je velmi nízké fluorescenční pozadí, a to z toho důvodu, že nevykazují fluorescenci během transportu krevním řečištěm, čímž odpadá časová prodleva nutná k vyloučení nenavázané sondy z organismu. Pouze po interakci v požadovaném místě fungování dojde k aktivaci spojené s emisí záření. Aktivaci sondy lze provést enzymaticky [59] nebo změnou pH [60].

Závěr

Široce používané cytostatikum doxorubicin lze díky jeho fyzikálním vlastnostem velmi dobře pozorovat pomocí fluorescenčních zobrazovacích metod ve tkáních. Tyto metody nám otevírají nové možnosti nejen ve sledování interakce léčiva s nádorovými buňkami, ale také pro cílenou léčbu zhoubných nádorů.

Literatura

1. Cabane E, Zhang X, Langowska K et al. Stimuli-Responsive polymers and their applications in nanomedicine. *Biointerphases* 2012; 7(1–4): 1–27.
2. Samarasinghe RM, Gibbons J, Kanwar RK et al. Nanotechnology based platforms for survivin targeted drug discovery. *Expert Opin Drug Discov* 2012; 7(11): 1083–1092.
3. Chang HI, Yeh MK. Clinical development of liposome-based drugs: formulation, characterization, and therapeutic efficacy. *Int J Nanomed* 2012; 7: 49–60.
4. Keller AM, Mennel RG, Georgoulas VA et al. Randomized phase III trial of pegylated liposomal doxorubicin versus vinorelbine or mitomycin C plus vinblastine in women with taxane-refractory advanced breast cancer. *J Clin Oncol* 2004; 22(19): 3893–3901.
5. Poljakova J, Frei E, Eckschlager T et al. Comparison of the cytotoxicity of and DNA adduct formation by the anticancer drug ellipticine- and doxorubicin-derived adducts in DNA of neuroblastoma cells by the P-32-post-labeling technique. *Biomed Pap Olomouc* 2012; 156(2): 115–121.
6. Hynek D, Krejčova L, Zitka O et al. Electrochemical Study of Doxorubicin Interaction with Different Sequences of Single Stranded Oligonucleotides, Part I. *Int J Electrochem Sci* 2012; 7(1): 13–33.
7. Stiborova M, Poljakova J, Eckschlager T et al. Analysis of covalent ellipticine- and doxorubicin-derived adducts in DNA of neuroblastoma cells by the P-32-post-labeling technique. *Biomed Pap Olomouc* 2012; 156(2): 115–121.
8. Yong KT, Wang Y, Roy I et al. Preparation of quantum dot/drug nanoparticle formulations for traceable targeted delivery and therapy. *Theranostics* 2012; 2(7): 681–694.
9. Chomoucka J, Drbohlavova J, Huska D et al. Magnetic nanoparticles and targeted drug delivering. *Pharmacol Res* 2010; 62(2): 144–149.
10. Kizek R, Adam V, Hrabeta J et al. Anthracyclines and ellipticines as DNA-damaging anticancer drugs: recent advances. *Pharmacol Ther* 2012; 133(1): 26–39.
11. Malam Y, Loizidou M, Seifalian AM. Liposomes and nanoparticles: nanosized vehicles for drug delivery in cancer. *Trends Pharmacol Sci* 2009; 30(11): 592–599.
12. Hofheinz RD, Gnad-Vogt SU, Beyer U et al. Liposomal encapsulated anti-cancer drugs. *Anticancer Drugs* 2005; 16(7): 691–707.
13. Allen TM. Ligand-targeted therapeutics in anticancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2002; 2(10): 750–763.
14. Maeda H. The enhanced permeability and retention (EPR) effect in tumor vasculature: The key role of tumor-selective macromolecular drug targeting. In: Weber G (ed). *Advances in Enzyme Regulation*. Oxford: Pergamon-Elsevier Science Ltd 2001: 189–207.
15. Yu MK, Park J, Jon S. Targeting strategies for multifunctional nanoparticles in cancer imaging and therapy. *Theranostics* 2012; 2(1): 3–44.
16. Grobmyer SR, Zhou G, Gutwein LG et al. Nanoparticle delivery for metastatic breast cancer. *Nanomed Nanotechnol Biol Med* 2012; 8: S21–S30.
17. Pastorino F, Brignole C, Di Paolo D et al. Targeting liposomal chemotherapy via both tumor cell-specific and tumor vasculature-specific ligands potentiates therapeutic efficacy. *Cancer Res* 2006; 66(20): 10073–10082.
18. Drummond DC, Meyer O, Hong K et al. Optimizing liposomes for delivery of chemotherapeutic agents to solid tumors. *Pharmacol Rev* 1999; 51(4): 691–743.
19. Maurer N, Fenske DB, Cullis PR. Developments in liposomal drug delivery systems. *Expert Opin Biol Ther* 2001; 1(6): 923–947.
20. Wang AZ, Langer R, Farokhzad OC. Nanoparticle delivery of cancer drugs. *Annu Rev Med* 2012; 63: 185–198.
21. Alba E, Ruiz-Borrego M, Margeli M et al. Maintenance treatment with Pegylated liposomal doxorubicin versus

observation following induction chemotherapy for metastatic breast cancer: GEICAM 2001-01 study. *Breast Cancer Res Treat* 2010; 122(1): 169–176.

22. Chan S, Davidson N, Juozaityte E et al. Phase III trial of liposomal doxorubicin and cyclophosphamide compared with epirubicin and cyclophosphamide as first-line therapy for metastatic breast cancer. *Ann Oncol* 2004; 15(10): 1522–1534.
23. Sparano JA, Makhson AN, Semiglazov VF et al. Pegylated liposomal doxorubicin plus docetaxel significantly improves time to progression without additive cardiotoxicity compared with docetaxel monotherapy in patients with advanced breast cancer previously treated with neoadjuvant-adjuvant anthracycline therapy: results from a randomized phase III study. *J Clin Oncol* 2009; 27(27): 4522–4529.
24. Friedman A, Arosio P, Finazzi D et al. Ferritin as an important player in neurodegeneration. *Parkinsonism Relat Disord* 2011; 17(6): 423–430.
25. Brissot P, Ropert M, Le Lan C et al. Non-transferrin bound iron: a key role in iron overload and iron toxicity. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1820(3): 403–410.
26. Kilic MA, Ozlu E, Calis S. A novel protein-based anticancer drug encapsulating nanosphere: apoferritin-doxorubicin complex. *J Biomed Nanotechnol* 2012; 8(3): 508–514.
27. Karchemski F, Zucker D, Barenholz Y et al. Carbon nanotubes-liposomes conjugate as a platform for drug delivery into cells. *J Control Release* 2012; 160(2): 339–345.
28. Schnorr JM, Swager TM. Emerging applications of carbon nanotubes. *Chem Mat* 2011; 23(3): 646–657.
29. Vashist SK, Zheng D, Pastorin G et al. Delivery of drugs and biomolecules using carbon nanotubes. *Carbon* 2011; 49(13): 4077–4097.
30. Bianco A, Kostarelos K, Prato M. Applications of carbon nanotubes in drug delivery. *Curr Opin Chem Biol* 2005; 9(6): 674–679.
31. Gu YJ, Cheng J, Jin J et al. Development and evaluation of pH-responsive single-walled carbon nanotube-doxorubicin complexes in cancer cells. *Int J Nanomed* 2011; 6: 2889–2898.
32. Zhang X, Meng L, Lu Q et al. Targeted delivery and controlled release of doxorubicin to cancer cells using modified single wall carbon nanotubes. *Biomaterials* 2009; 30(30): 6041–6047.
33. Ali-Boucetta H, Al-Jamal KT, McCarthy D et al. Multi-walled carbon nanotube-doxorubicin supramolecular complexes for cancer therapeutics. *Chem Commun* 2008; 28(4): 459–461.
34. Zhu J, Liao L, Bian X et al. pH-controlled delivery of doxorubicin to cancer cells, based on small mesoporous carbon nanospheres. *Small* 2012; 8(17): 2715–2720.
35. Wang Y, Yang ST, Wang Y et al. Adsorption and desorption of doxorubicin on oxidized carbon nanotubes. *Colloid Surf B-Biointerf* 2012; 97: 62–69.
36. Yang XY, Zhang XY, Liu ZF et al. High-Efficiency Loading and Controlled Release of Doxorubicin Hydrochloride on Graphene Oxide. *J Phys Chem C* 2008; 112(45): 17554–17558.
37. Lu F, Haque SA, Yang ST et al. Aqueous compatible fullerene-doxorubicin conjugates. *J Phys Chem C* 2009; 113(41): 17768–17773.
38. Cataldo F, Iglesias-Groth S, Garcia-Hernandez DA et al. Determination of the integrated Molar Absorptivity and Molar Extinction Coefficient of Hydrogenated Fullerenes. *Fullerenes Nanotube Carbon Nanostructures* 2013; 21(5): 417–428.
39. Ryman-Rasmussen JP, Riviere JE, Monteiro-Riviere NA. Penetration of intact skin by quantum dots with diverse physicochemical properties. *Toxicol Sci* 2006; 91(1): 159–165.
40. Zakharian TY, Seryshev A, Sitharaman B et al. A fullerene-paclitaxel chemotherapeutic: synthesis, characteri-

zation, and study of biological activity in tissue culture. *J Am Chem Soc* 2005; 127(36): 12508–12509.

41. Partha R, Conyers JL. Biomedical applications of functionalized fullerene-based nanomaterials. *Int J Nanomed* 2009; 4: 261–275.
42. Karukstis KK, Thompson EH, Whiles JA et al. Deciphering the fluorescence signature of daunomycin and doxorubicin. *Biophys Chem* 1998; 73(3): 249–263.
43. Gu JL, Su SS, Zhu MJ et al. Targeted doxorubicin delivery to liver cancer cells by PEGylated mesoporous silica nanoparticles with a pH-dependent release profile. *Microporous Mesoporous Mat* 2012; 161: 160–167.
44. Duan JH, Liu MJ, Zhang YD et al. Folate-decorated chitosan/doxorubicin poly(butyl)cyanoacrylate nanoparticles for tumor-targeted drug delivery. *J Nanopart Res* 2012; 14(4): 1–9.
45. Lu YJ, Wei KC, Ma CC et al. Dual targeted delivery of doxorubicin to cancer cells using folate-conjugated magnetic multi-walled carbon nanotubes. *Colloid Surf B-Biointerfaces* 2012; 89: 1–9.
46. Wang EJ, Casciano CN, Clement RP et al. Active transport of fluorescent P-glycoprotein substrates: Evaluation as markers and interaction with inhibitors. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 289(2): 580–585.
47. Prochazka P, Libra A, Zemanova Z et al. Mechanisms of ellipticine-mediated resistance in UKF-NB-4 neuroblastoma cells. *Cancer Sci* 2012; 103(2): 334–341.
48. Weaver JL, Pine PS, Aszalos A et al. Laser scanning and confocal microscopy of daunorubicin, doxorubicin and rhodamine 123 in multidrug-resistant cells. *Exp Cell Res* 1991; 196(2): 323–329.
49. Cheng Y, Yu SL, Wang JJ et al. In vitro and in vivo Antitumor Activity of Doxorubicin-Loaded Alginate-Acid-Based Nanoparticles. *Macromol Biosci* 2012; 12(10): 1326–1335.
50. Prados J, Melguizo C, Ortiz R et al. Doxorubicin-Loaded Nanoparticles: New Advances in Breast Cancer Therapy. *Anti-Cancer Agents Med Chem* 2012; 12(9): 1058–1070.
51. Wu JL, Liu CG, Wang XL et al. Preparation and characterization of nanoparticles based on histidine-hyaluronic acid conjugates as doxorubicin carriers. *J Mater Sci Mater Med* 2012; 23(8): 1921–1929.
52. Yudina A, Lepetit-Coiffe M, De Smet M et al. In vivo temperature controlled ultrasound-mediated intracellular delivery of cell-impermeable compounds. *J Control Release* 2012; 161(1): 90–97.
53. Ntziachristos V, Bremer C, Weissleder R. Fluorescence imaging with near-infrared light: new technological advances that enable in vivo molecular imaging. *Eur Radiol* 2003; 13(1): 195–208.
54. Rao JH, Dragulescu-Andrasi A, Yao HQ. Fluorescence imaging in vivo: recent advances. *Curr Opin Biotechnol* 2007; 18(1): 17–25.
55. Chakravarthy KV, Davidson BA, Helinski JD et al. Doxorubicin-conjugated quantum dots to target alveolar macrophages and inflammation. *Nanomed Nanotechnol Biol Med* 2011; 7(1): 88–96.
56. Achilefu S. Rapid response activatable molecular probes for intraoperative optical image-guided tumor resection. *Hepatology* 2012; 56(3): 1170–1173.
57. Lacivita E, Leopoldo M, Berardi F et al. Activatable Fluorescent Probes: A New Concept in Optical Molecular Imaging. *Curr Med Chem* 2012; 19(28): 4731–4741.
58. Li JB, Chen K, Liu HG et al. Activatable near-infrared fluorescent probe for in vivo imaging of fibroblast activation protein- α . *Bioconjug Chem* 2012; 23(8): 1704–1711.
59. Thorek DL, Grimm J. Enzymatically activatable diagnostic probes. *Curr Pharm Biotechnol* 2012; 13(4): 523–536.
60. Zhou KJ, Liu HM, Zhang SR et al. Multicolored pH-Tunable and activatable fluorescence nanoplateform responsive to physiologic pH stimuli. *J Am Chem Soc* 2012; 134(18): 7803–7811.

Současné trendy adjuvantní chemoterapie u nemalobuněčného karcinomu plic

Contemporary Trends of the Adjuvant Chemotherapy in Non-small Cell Lung Cancer

Kolek V.

Klinika plicních nemocí a tuberkulózy LF UP a FN Olomouc

Souhrn

Východiska: Adjuvantní chemoterapie se stala standardně používanou metodou u radikálně resekovaného nemalobuněčného karcinomu plic (NSCLC) na základě výsledků metaanalýz velkých studií, které potvrdily její vliv na relativní snížení rizika úmrtí i absolutní zlepšení přežití. Adjuvantní chemoterapie se dosud rutinně podává na základě posouzení stadia nemoci, výkonnostního stavu a věku nemocných. Je indikována u NSCLC stadií II a IIIA – v rámci studií i u stadia IB, u výkonnostního stavu 0–1 a ve věku do 75 let. V léčbě je preferována cisplatina, nejčastěji s vinorelbinem i jinými cytostatiky jako paclitaxel, docetaxel, gemcitabin a pemetrexed. Problémem je poměrně malá aplikovatelná dávková intenzita z důvodů toxických projevů léčby. **Cíl:** Práce hodnotí současný vývoj adjuvantní terapie NSCLC podle posledních klinických studií, které byly dokončeny nebo probíhají. Současné snahy směřují ke zlepšení účinnosti, snížení vedlejších účinků léčby a ke zpřesnění výběru pacientů. Ověřuje se možnost podávání lépe tolerované karboplatiny a čeká se na výsledky studií s biologicky cílenou léčbou. Probíhají rozsáhlé klinické studie s inhibitory tyrosinázových kináz a inhibitory angiogeneze v různých kombinacích s chemoterapií nebo i v monoterapii, zkouší se aplikace vakcín. **Závěr:** Současný vývoj směřuje k selekci vhodných pacientů na základě analýzy více prognostických a prediktivních biomarkerů a očekává se, že budoucí adjuvantní léčba bude mnohem více personalizovaná.

Klíčová slova

nemalobuněčný karcinom plic – časná fáze – adjuvantní chemoterapie – molekulárně cílená léčba

Summary

Background: Adjuvant chemotherapy became a standard of treatment in completely resected non-small cell lung cancer (NSCLC) based on results of big trials meta-analyses, which proved its influence on the decrease of relative mortality risk and absolute improvement of survival. Adjuvant chemotherapy is routinely used according to tumor stage evaluation, performance status (PS) and age of the patients. It is indicated in stage II and IIIA of NSCLC – in frame of clinical studies also in stage IB, in PS 0–1 and in patients under 75 years. Therapy with cisplatin and vinorelbine is a preferred regimen, as well as other drugs, such as paclitaxel, docetaxel, gemcitabine and pemetrexed. The problem is a relatively small dose intensity applied, due to toxic side effects. **Aim:** The present work is evaluating contemporary trends of adjuvant therapy in NSCLC according to latest clinical studies, which are finished or running. Efforts are directed to the improvement of treatment effectiveness, decrease of side effects and refinement of patients selection. Potential treatment benefit of better tolerable carboplatin is verified and results of trials with biologically targeted therapy are expected. Large clinical studies are evaluating the effect of tyrosine kinase inhibitors and angiogenesis inhibitors used either in various combinations with chemotherapy or as monotherapy. Application of vaccines is tested. **Conclusion:** Contemporary trend of adjuvant therapy is leading to the appropriate patient selection with regard to analysis of several prognostic and predictive biomarkers; it is proposed that future adjuvant therapy will be more and more personalized.

Key words

non-small cell lung cancer – early stage – adjuvant chemotherapy – molecular targeted therapy

Práce byla podpořena grantem IGA MZ ČR NT/13569.

This study was supported by grant of Integral Grant Agency of the Czech ministry of Health NT/13569.

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.



prof. MUDr. Vítězslav Kolek, DrSc.

Klinika plicních nemocí

a tuberkulózy

LF UP a FN Olomouc

I. P. Pavlova 6

775 20 Olomouc

e-mail: vitezslav.kolek@fnol.cz

Obdrženo/Submitted: 8. 2. 2013

Přijato/Accepted: 27. 2. 2013

Úvod

Karcinom plic je a dlouho zůstane malignitou s nejvyšší mortalitou. Operace časných fází nemalobuněčného karcinomu plic (non-small cell lung cancer – NSCLC) je optimálním řešením s výhledem na vyléčení, nicméně u více než poloviny nemocných jsou v této době již prokazatelné mikrometastázy v krvi nebo jiných orgánech, které snižují šanci dlouhodobého přežití. Polovina operovaných pacientů s časným stadiem NSCLC na karcinom nakonec zemře [1]. U resektovaných stadií I dle TNM klasifikace se udává 5leté přežití 60–70 %, u stadií II je to 30–50 % a u operabilních stadií IIIA klesá tento parametr na 10–30 % [2]. Cílem adjuvantní léčby je zničení mikrometastáz, prodloužení času bez známek nemoci (disease free survival – DFS) a prodloužení celkového přežití (overall survival – OS) nemocných. Používání chemoterapie po radikální operaci je běžným postupem u řady solidních nádorů, u NSCLC začalo být reálné až po vyhodnocení britské (cambridgské) metaanalýzy NSCLC-CG-MA publikované v roce 1995 skupinou NSCLC Collaborative Group. Bylo posouzeno 52 studií s 9 387 pacienty a bylo vyhodnoceno 7 151 úmrtí. Individuálně byla zpracována data 4 357 pacientů s časnou nemocí a operací, z nichž někteří byli léčeni alkylačními a dalšími tehdy používanými cytostatiky, 1 394 bylo léčeno kombinací s cisplatinou. U posledně jmenované skupiny bylo prokázáno relativní snížení rizika úmrtí o 13 % a absolutní zlepšení 5letého přežívání o 5 % ve srovnání s pacienty léčenými pouze operací s tím, že rozdíl OS byl podstatný, ale ne signifikantní ($HR = 0,87$; $p = 0,08$). Pozitivní výsledek bylo možno přičíst použití cisplatinu ve sledovaných souborech, protože při použití starších cytostatik se význam adjuvantní chemoterapie nepotvrdil [3]. NSCLC-CG-MA byla podnětem pro další studie a v letech 2003–2006 byly publikované tzv. velké adjuvantní studie, které u NSCLC randomizovaně hodnotily použití adjuvantní chemoterapie s platinovým preparátem v kombinaci. Tyto studie již postavily základ současného standardního přístupu k adjuvantní chemoterapii u NSCLC.

Vyhodnocení standardní adjuvantní chemoterapie

Velké adjuvantní studie měly podobný design, použité léky v kombinacích byly různé, odlišně se aplikovala radioterapie a jen některé prokázaly pozitivní efekt použité léčby. Zařazení pacienti byli po radikální operaci ve stadiu I až III. Byla použita cisplatina v jednodenním dávkovém rozmezí od 50 mg/m² do 120 mg/m², v intravenózních kombinacích byl nejčastěji použit vinorelbin (NVB), a to v dávkách od 25 mg/m² do 30 mg/m², většinou ve čtyřtýdenních cyklech. Dále byl použit vinblastin (VBL), vindesin (VDS), vepesid (VP 16), ifosfamid (IFM) nebo mitomycin (MTC). Dlouhodobé výsledky těchto studií byly opět vyhodnoceny v metaanalýzách, které přinesly podobné výsledky jako metaanalýza cambridgská.

Metaanalýza LACE (Lung Adjuvant Cisplatin Evaluation) vyhodnotila individuální data 4 584 pacientů s časnými fázemi NSCLC, když zpracovala randomizované soubory s více než 300 pacienty [4]. Do ní byly zařazené studie Adjuvant Lung Cancer Project Italy (ALPI) s používanými cytostatiky MTC a VDS [5], Big Lung Trial (BLT) s cytostatiky NVB, VDS, MTC a IFM [6], International Adjuvant Lung Trial (IALT) s cytostatiky NVB, VDS, VBL a VP 16 [7], studie Adjuvant Navelbine International Trialist Association (ANITA 01) s NVB [8] a kanadská studie JBR.10 (s NVB) [1]. V těchto studiích nebyla povolena předoperační chemo- a/nebo radioterapie, povolena byla pooperační radioterapie, ale nikoliv ve variantě konkomitantní chemoradioterapie. Při mediánu sledování 5,2 roku ukázala metaanalýza LACE relativní snížení rizika úmrtí o 11 % ($HR = 0,89$; $p = 0,005$), absolutní zlepšení tříletého a pětiletého přežívání bylo 3,9 % a 5,4 % pro OS a 5,8 % pro tří- a pětiletý interval bez nemoci (DFS). Byly hodnoceny také věkové parametry, vliv pohlaví, histologie, typ operace, radioterapeutický plán, stav výkonnosti (PS), stadium, použité léky a plánovaná celková dávka. Adjuvantní chemoterapie zlepšila celkové přežití i přežití bez nemoci u stadií II a IIIA (dle 6. TNM klasifikace). Výsledky u stadia IB nebyly jednoznačné a výsledky u stadia IA ukázaly horší přežívání s chemoterapií než bez ní. Pozitivní

výsledky byly dosaženy u PS 0–1, u PS 2 měla chemoterapie zhoršující efekt. Byl zjištěn lepší efekt při použití vinorelbinu při srovnání s jinými cytostatiky. Výsledek byl signifikantní ($p = 0,04$), pokud byly jiné léky rozděleny na dublety a triplety. Výsledek byl hraničně významný, pokud byly jiné léky hodnoceny jen ve společné skupině ($p = 0,11$) [4].

Větší Briova metaanalýza zahrnuje 13 souborů nemocných ve stadiu I až III léčených platinovým preparátem v kombinaci do roku 2007. OS bylo sledováno u 7 334 pacientů a DFS bylo hodnoceno u 6 396 pacientů. Také v této metaanalýze bylo potvrzeno zlepšení přežívání u nemocných s adjuvantní chemoterapií ($HR = 0,872$; $p = 0,001$) [9]. Velmi podobný výsledek zaznamenala metaanalýza Sedrakyana et al provedená z 19 souborů hodnotících 7 200 pacientů. Relativní snížení mortality u léčby cisplatinou bylo 11 % ($p = 0,004$) [10].

Uvedené studie přinesly velké množství dat a byly analyzovány v delším časovém odstupu jednak ve smyslu hodnocení celkového přežívání, jednak jako analýza podskupin charakterizovaných biologicko-genetickými parametry. Jejich výsledky vedly k přijetí standardní strategie používání adjuvantní chemoterapie u stadia II a IIIA NSCLC. U stadia IB se tato léčba doporučuje jen v klinických studiích [4]. Při hodnocení metaanalýz se také upozorňuje na vliv věku, kouření, typu provedené operace a celé řady dalších faktorů, které mohou modifikovat výsledky léčby. Stále se také diskutuje význam pooperační radioterapie (PORT). V dosud provedených studiích se vliv PORT na přežití neprojevil nebo byl detrimentální s výjimkou tumorů s N2 [11–13]. Je však třeba vzít v úvahu zásadní změnu v současném moderním používání radioterapie ve srovnání s léčbou radioaktivním kobaltem, která byla hodnocena ve většině studií [14,15]. Na základě LACE metaanalýzy je preferována adjuvantní chemoterapie kombinací vinorelbinu s cisplatinou. Přestože s jinými léky je mnohem méně zkušeností, doporučují se i kombinace cisplatinu s paclitaxelem, docetaxelem, gemcitabinem a pemetrexedem [16].

Je třeba také zmínit několik japonských studií, ve kterých byla použita

perorální chemoterapie kombinací uracil-tegafur (UFT) [17,18]. I tyto studie byly zpracovány formou metaanalýzy s individuálními daty 2 003 pacientů a výsledek vyzněl pozitivně pro aktivně léčenou skupinu, a to i při sedmiletém sledování [19].

Problém toxicity, dávkové intenzity a dokončování protokolu při použití cisplatin

U všech studií s cisplatinou se projeví problémy s nižší tolerancí podaného režimu. Ve studii IALT bylo plánováno podání tří nebo čtyř cyklů chemoterapie, ale jen 67 % pacientů dostalo 300 mg/m², 74 % dostalo 240 mg, toxicita stupně IV byla přítomna u 23 % nemocných [7]. V ALPI dokončilo chemoterapii 69 % pacientů, z toho polovina s redukcí nebo odkladem [5]. V BLT byly plánovány tři cykly, které dokončilo 64 % zařazených nemocných [6]. Ve studii ANITA byla cisplatina podávána v dávce 100 mg/m² co 28 dnů a vinorelbin v dávce 30 mg/m² týdně [8]. Jen 50 % nemocných dokončilo plánované čtyři cykly léčby. Medián plánované dávky byl pro vinorelbin 56,3 % a 76,1 % pro cisplatinu [8]. V japonských studiích s UFT dokončilo 64 % pacientů plánovanou roční léčbu [19]. Při zhodnocení metaanalýzou LACE se zjistilo, že v aktivních ramenech 9 % nemocných chemoterapii vůbec nedostalo, jeden cyklus dostalo 14 % a dva cykly 10 % nemocných. Vyskytovaly se toxické reakce stupně 3 (v 66 %) a 4 (32 %), které vedly k odkladu chemoterapie, předčasnému ukončení léčby, jejímu odmítnutí nebo i úmrtím na chemoterapii. Nejčastějším projevem toxicity byla neutropenie, dále leukopenie, slabost, malátnost a neuropatie. Tyto aspekty měly vliv na nedodržení plánované dávkové intenzity, která se ale obtížně posuzuje, protože léčebné plány se dávkově lišily. Dávka cisplatinu aspoň 240 mg/m² byla aplikována jen u 59 % nemocných a je zřejmé, že téměř polovina pacientů dostala menší než plánovanou dávku léčby. Vyšší dávky cisplatinu bylo možno podat u dubletů než u tripletů. Trend k lepšímu přežití byl u nemocných, kteří dostali dávku aspoň 300 mg/m² cisplatinu [4]. Vyšší tolerance adjuvantní chemoterapie s cisplatinou

byla potvrzena jen při použití pemetrexedu ve studii TREAT, ve které dokončilo protokol 77 % nemocných [20].

U starších pacientů nad 65 let se dávková intenzita signifikantně snižuje. Ve studii JBR.10 byla plánovaná dávka cisplatinu 50 mg/m² 1. a 8. den, plánovaná dávka pro vinorelbin byla 25 mg/m² den 1, 8, 15 a 22 [21]. U pacientů nad 65 let došlo k poklesu dávky cisplatinu z 18 na 13,2 mg/m²/týden a u vinorelbinu z 14,1 na 9,9 mg/m²/týden [22]. K úmrtí následkem chemoterapie došlo u 0,9 % nemocných, u nemocných starších 80 let to bylo 3,1 % nemocných [23]. Tento fakt je eticky varovný především proto, že šlo o pacienty potenciálně vyléčené, s dobrou vyhlídkou delšího přežití. Dalším aspektem podávání útočné chemoterapie cisplatinou je relativní snižování efektu na celkové přežití v delším sledování. V největší adjuvantní studii IALT se při mediánu sledování 7,5 roku ukázalo, že vymizel signifikantní rozdíl v přežití neléčené a léčené podskupiny v důsledku úmrtí na jiná než maligní onemocnění u nemocných léčených chemoterapií s cisplatinou [24]. Šlo nejčastěji o kardiovaskulární a plicní příčiny, jako plicní embolii, infarkt myokardu, srdeční selhání nebo plicní infekce. Tento negativní vývoj nebyl pozorován u studie JBR.10, kde zlepšení přežívání přetrvávalo i po devíti letech sledování [25].

V adjuvantním použití byla preferována cisplatina s tendencí zničit co nejvíce přežívajících buněk. V této volbě se vycházelo z prací srovnávajících účinek cisplatinu a karboplatiny u inoperabilních stadií NSCLC. V metaanalýzách byla zjištěna mírně vyšší účinnost cisplatinu než karboplatiny po stránce objektivních odpovědí, zlepšení přežití bylo zjištěno při použití nových chemoterapeutických režimů a u neskvamózního karcinomu plic [26,27]. Žádná studie přímo srovnávající tyto léky v adjuvantní chemoterapii u časných fází NSCLC však neexistuje.

Použití karboplatiny v adjuvantní chemoterapii NSCLC

S karboplatinou (AUC 6) v kombinaci s paclitaxelem (200 mg/m²) byla provedena jedna větší studie fáze III (CALGB9633), do níž bylo zařazeno

344 pacientů [28]. Na rozdíl od ostatních „velkých adjuvantních studií“ byli zařazení pacienti pouze ve stadiu IB. Ve čtyřletém sledování bylo zjištěno zlepšení OS o 12 %, které ale nebylo potvrzeno ve sledování s mediánem 57 a 74 měsíců. Výsledek byl tedy stejný jako u studií s cisplatinou u tohoto stadia. Post hoc analýza ukázala zlepšení jen u nádorů od 4 cm v průměru (HR = 0,69), a to i v dlouhodobém sledování. Ve studii CALGB9633 nikdo nezemřel v souvislosti s chemoterapií a plánované čtyři cykly chemoterapie dokončilo 86 % nemocných, přičemž pouze u 34 % z nich bylo třeba dávky redukovat, a plnou plánovanou dávku ve čtyřech cyklech dostalo 57 % z léčených nemocných [28]. U nemocných ve stadiích II a III obdobně rozsáhlá studie s karboplatinou neexistuje, ale řada menších podobných studií provedena byla. Podání kombinace karboplatiny s paclitaxelem a vinorelbínem bylo vyhodnoceno v asijské populaci ve srovnání s ramenem bez adjuvantní chemoterapie [29]. Tato malá studie byla ukončena předčasně již po mediánu sledování 29 měsíců pro zřejmé zlepšení přežití nemocných léčených chemoterapií. Studie fáze II s pemetrexedem nebo s docetaxelem ukázaly velmi dobrou toleranci léčby. Při podání pemetrexedu se vyskytly nežádoucí účinky pouze stupně I nebo II [30]. Při podání docetaxelu byla dávková intenzita 87,5 % pro docetaxel a 86 % pro karboplatinu, plná plánovaná dávka byla podána 74 % nemocných v čase 12 týdnů [31]. Vyhodnocení podávání adjuvantní chemoterapie v praxi bylo provedeno v Kanadě. Tato léčba byla aplikována u 30 % operovaných nemocných, když se podávala především kombinace karboplatiny s paclitaxelem nebo vinorelbínem [32]. V České republice probíhají multicentrické studie s podáváním karboplatiny nebo cisplatinu v kombinaci s perorálním vinorelbínem. Tolerance léčby je velmi dobrá, dlouhodobé přežívání bude vyhodnoceno v blízké době [33,34].

Není diskuzí o tom, že karboplatinu lze doporučit všude tam, kde nelze podat cisplatinu. Je to u nemocných s kardiálními potížemi, renální insuficiencí nebo ztrátou sluchu. U starších nemocných nad 65 let se ve srovnávací observační

studii ukázala výhoda karboplatiny při orgánových dysfunkcích, neuropatii a jiných komorbiditách. Byl také zjištěn menší výskyt infekcí, dehydratace a zvracení [23,35]. Ve studii JBR.10 profitovali z adjuvantní chemoterapie s cisplatinou i nemocní starší 65 let, ale u pacientů nad 75 let byl již zřejmý detrimetální efekt ($HR = 1,95$; $p = 0,02$) [22]. Je zatím nedorozhodnuto, zda podání karboplatiny s vyšší dodanou dávkovou intenzitou může být v adjuvantní chemoterapii stejně nebo více účinné než režimy s cisplatinou.

Selektivní podávání adjuvantní chemoterapie dle prediktivních biomarkerů

Novým trendem v adjuvantní chemoterapii je snaha o použití molekulárních prediktivních biomarkerů k výběru pacientů, kteří budou z léčby profitovat, a zároveň se tak omezí toxické projevy chemoterapie u nemocných, kde nelze efekt léčby očekávat. Biomarkery byly nejprve ověřovány u inoperabilních fází NSCLC a později byly vyšetřovány retrospektivně v rámci velkých adjuvantních studií [36,37]. Hodnotí se exprese *ERCC1*, *RRM1*, *BRCA1* a dále *TS*, *mRNA*, *p53*, β tubulin třídy III, *KRAS* a mnohé jiné. *ERCC1* se účastní opravy DNA poškození navozeného chemoterapií, a proto se předpokládá, že nádory s *ERCC1* negativitou budou více citlivé k léčbě cisplatinou [37]. Zároveň je ale zajímavé, že nemocní s nádory s *ERCC1* pozitivitou mají lepší prognózu přežití [38]. *RRM1* gen kóduje regulační podjednotku ribonukleotidové reduktázy a je prediktorem účinnosti kombinace gemcitabin/cisplatin [39]. *BRCA1* (breast cancer susceptibility gene 1) má zásadní roli při DNA opravách a ovlivňuje aktivitu mitotického vřeténka. V několika studiích se ukázal jako prediktivní pro účinek cisplatin a taxanů [40]. Ve studii JBR.10 nebyl rozdíl v přítomnosti mutací *KRAS*, nicméně nemocní bez mutací měli ne-signifikantně větší prospěch z chemoterapie [41]. Jiné studie tuto vazbu neprokázaly [42]. V téže studii JBR.10 se ukázal vztah lepšího efektu podání cisplatin s vinorelbinem a β tubulinu třídy III, který ovlivňuje tvorbu mitotického vřeténka [43]. Podobně se zkoumá

ovlivnění prognózy při výskytu mutací genu *p53* u nádorů stadia IB [44]. U jiných potenciálních biomarkerů (MDR) nebylo předpokládáno ovlivnění přežití potvrzeno [45]. Výsledky uvedených studií jsou motivem pro prospektivní randomizované farmakogenomicky řízené studie (ITACA, SWOG 0720, TASTE a SCAT), v nichž se výběr chemoterapie řídí vyšetřením několika biomarkerů současně. Je zcela zřejmé, že pro zásadnější vyhodnocení prognózy a predikce bude potřeba posoudit interakce ještě více genů, jejich individuálních expresí, sledování hladin proteinů, ale i mikroRNA a degračních mechanismů. Počet takto hodnocených kandidátních genů dosahuje až několika desítek [46,47]. Důležité je korelovat jejich aktivitu s klinicko-patologickými prognostickými faktory, jako jsou kuřáctví, pohlaví, věk, ale i viscerální a vaskulární infiltrace, a to především u nádorů stadia IB. Tak lze identifikovat pacienty s vysokým rizikem časného relapsu. Jak je patrné, proměnných je velké množství, což přináší často diskrepantní výsledky i u velkých souborů inoperabilních pacientů a na zásadnější závěry pro adjuvantní léčbu se zatím čeká [48,49].

Je možné také zmínit, že selektivní adjuvantní chemoterapii lze aplikovat na základě vyšetření *in vitro* rezistence nádorových buněk získaných při operaci. Provedená studie s dlouhodobým mediánem sledování ukázala trend k prodloužení přežití u takto podané chemoterapie [50]. Problémem tohoto přístupu je především náročné zpracovávání nádorových buněk a jejich nehomogenita.

Biologická léčba v adjuvantních protokolech u NSCLC

První výsledky podávání biologické léčby byly velmi rozpačité ve vztahu k ovlivnění přežití. Ve studii JBR.19 byl gefitinib randomizovaně podáván po adjuvantní chemoterapii v dávce 250 mg/den u molekulárně neselektované populace po dobu dvou let a ve srovnání s placebem byl výsledek negativní. Studie byla předčasně ukončena a ani po retrospektivním vyhodnocení *KRAS* a *EGFR* mutací nebyl zjištěn signifikantní vliv na přežití v selektované populaci s mutacemi (HR u mutací *KRAS* 1,51; HR u mutací *EGFR* 1,58) [51]. Výsledek nebyl jednoznačně

vysvětlen a diskutovalo se, zda může být biologická léčba primárně kurativní. Je však také možné, že výsledek byl ovlivněn poměrně malým počtem pacientů s mutacemi. První negativní studie však nezastavily výzkum a očekávají se závěry řady dalších prací s biologicky cílenou léčbou. Mimo jiné i proto, že se stav *EGFR* receptoru v jiných studiích jevil jako prognostický, ale i prediktivně významný, což potvrdila retrospektivní analýza studie JBR.10 u NSCLC bez histologické subtypizace [52]. Pozitivnější trend – dvouleté přežívání u nemocných s adenokarcinomem a *EGFR* mutacemi léčených TK inhibitory naznačilo zkoumání databází operovaných pacientů u pacientů léčených inhibitory tyrosinových kináz [53,54]. Již statisticky významný rozdíl byl zjištěn při vyšetření většího vzorku (1 118 operovaných nemocných s adenokarcinomem), z nichž přežilo déle 222 nemocných s *EGFR* mutacemi na exonu 19/21 ($p = 0,001$). Výskyt mutací *KRAS* přežití neovlivnil [55]. V čínské populaci probíhá studie ADJUVANT srovnávající gefitinib podávaný po dobu dvou let po standardní adjuvantní chemoterapii (cisplatin + vinorelbin) [56]. Podobná studie běží i v Japonsku [57]. Jiná prospektivní studie srovnává účinek podání gefitinibu s klasickou chemoterapií u nemocných s *EGFR* mutacemi [58]. Probíhá i několik podobně koncipovaných studií s erlotinibem. Předběžné výsledky studie SELECT (fáze II) u pacientů s mutacemi *EGFR* léčených erlotinibem po adjuvantní chemoterapii ukázaly dvouleté přežití bez nemoci u 94 % nemocných při velmi dobré toleranci léčby [59]. Byl ukončen nábor do robustní studie RADIANT, která hodnotí přežívání téměř tisíce pacientů dle stavu *EGFR* (overexpresie *EGFR* dle imunohistochemie, amplifikace genu dle fluorescenční *in situ* hybridizace) a později i s doplněním vyšetření mutací *EGFR* a *KRAS*. Přežívání pacientů, kteří po čtyřech cyklech adjuvantní chemoterapie byli léčeni dva roky erlotinibem v dávce 150 mg denně bude vyhodnoceno zřejmě v roce 2016 [60]. Dalším středem zájmu je podávání inhibitorů angiogeneze, které by mohlo zabránit vzniku mikrometastáz. Ve studii E 1505 je bevacizumab v dávce 15 mg/kg podáván co tři týdny s adjuvantní che-

moterapii a poté jeden rok [61]. V jiné studii je bevacizumab podáván v kombinaci s erlotinibem [62]. Perspektivní se jeví adjuvantní podávání vakcín po provedení resekce, např. ve studii MAGRIT u pacientů s *MAGE-A3* genovou expresí. Tento gen je nacházen u 30–50 % resekovanych nádorů a do studie má být zařazeno kolem 2 000 pacientů. Zatím se vyhodnocuje tolerance vakcíny, která se jeví jako velmi dobrá [63]. Biologicky cílená adjuvantní léčba u NSCLC doposud hledá své vyhraněné postavení. Probíhající studie by měly odpovědět na otázku, zda jde o cestu k větší efektivitě a lepší tolerabilitě v rámci personalizace tohoto léčebného postupu.

Závěr

Adjuvantní chemoterapie u NSCLC se stala rutinní metodou léčby časných fází tohoto nádoru, ale je doposud omezena poměrně úzkým indexem terapeutické účinnosti a toxicity. Výsledky velkých studií ze začátku tohoto tisíciletí je třeba podrobit konfrontaci se současným vývojem léčebných modalit s přihlédnutím k zlepšení snášenlivosti a dosažení plánované dávkové intenzity podávaných chemoterapeutických režimů. Stále probíhá výzkum vhodných molekulárních biomarkerů umožňujících posouzení, pro které pacienty je tato léčba přínosem a jakou konkrétní chemoterapii vybrat. Zatím chybí jednoznačné posouzení efektu biologické léčby a její kombinace s chemoterapií, čeká se také na výsledky aplikace vakcín. Cíl všech uvedených snah je zřejmý: je to racionální personalizace adjuvantní léčby. Vzhledem k delšímu přežívání radikálně operovaných nemocných a potřebnému zpracování velkého množství klinických dat je třeba počítat s delší dobou vyhodnocení výsledků všech probíhajících projektů.

Literatura

- Coello MC, Luketich JD, Litle VR et al. Prognostic significance of micrometastasis in non-small-cell lung cancer. *Clin Lung Cancer* 2004; 5(4): 214–225.
- Siegel R, Ward E, Brawley O et al. Cancer Statistics, 2011: the impact on eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths. *CA Cancer J Clin* 2011; 61(4): 212–236.
- Non-small Cell Lung Cancer Collaborative Group. Chemotherapy in non-small cell lung cancer: A meta-analysis using updated data on individual patients from 52 randomised clinical trials. *BMJ* 1995; 311(7010): 899–909.
- Pignon JP, Tribodet H, Scagliotti GV et al. Lung adjuvant cisplatin evaluation: A pooled analysis by the LACE Collaborative Group. *J Clin Oncol* 2008; 26(21): 3552–3559.
- Scagliotti GV, Fossati R, Torri V et al. Randomized study of adjuvant chemotherapy for completely resected stage I, II, or IIIA non-small cell lung cancer. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95(19): 1453–1461.
- Waller D, Peake MD, Stephens RJ et al. Chemotherapy for patients with non-small cell lung cancer: the surgical setting of the Big Lung Trial. *Eur J Cardiothorac Surg* 2004; 26(1): 173–182.
- Arriagada R, Bergman B, Dunant A et al. Cisplatin-based adjuvant chemotherapy in patients with completely resected non-small cell lung cancer. *N Engl J Med* 2004; 350(4): 351–360.
- Douillard JY, Rosell R, De Lena M et al. Adjuvant vinorelbine plus cisplatin versus observation in patients with completely resected stage IB–IIIA non-small-cell lung cancer (Adjuvant Navelbine International Trialist Association [ANITA]): a randomised controlled trial. *Lancet Oncol* 2006; 7(9): 719–727.
- Bria E, Gralla RJ, Raftopoulos H et al. Magnitude of benefit of adjuvant chemotherapy for non-small cell lung cancer: meta-analysis of randomized clinical trials. *Lung Cancer* 2009; 63(1): 50–57.
- Sedrakyan A, Van Der Meulen J, O'Byrne K et al. Postoperative chemotherapy for non-small cell lung cancer: A systematic review and meta-analysis. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2004; 128(3): 414–419.
- PORT meta-analysis trialists group. Postoperative radiotherapy in non-small-cell lung cancer: systematic review and meta-analysis of individual patient data from nine randomised controlled trials. *Lancet* 1998; 352(9124): 257–263.
- Keller SM, Adak S, Wagner H et al. A randomized trial of postoperative adjuvant therapy in patients with completely resected stage II or IIIA non-small-cell lung cancer. Eastern Cooperative Oncology Group. *N Engl J Med* 2000; 343(17): 1217–1222.
- Sawyer TE, Bonner JA, Gould PM et al. The impact of surgical adjuvant thoracic radiation therapy for patients with non-small cell lung carcinoma with ipsilateral mediastinal lymph node involvement. *Cancer* 1997; 80(8): 1399–1408.
- Lally BE, Zelterman D, Colasanto JM et al. Postoperative radiotherapy for stage II or III non-small-cell lung cancer using the surveillance, epidemiology, and end results database. *J Clin Oncol* 2006; 24(19): 2998–3006.
- Machray M, Lee JH, Shrager JB et al. Risk of death from intercurrent disease is not excessively increased by modern postoperative radiotherapy for high-risk resected non-small-cell lung carcinoma. *J Clin Oncol* 2001; 19(19): 3912–3917.
- Ettinger DS, Akerley W, Bepler G et al. NCCN Non-Small Cell Lung Cancer Panel Members. Non Small Cell Lung Cancer. *J Natl Compr Canc Netw* 2010; 8(7): 740–801.
- Imaizumi M, Study Group of Adjuvant Chemotherapy for Lung Cancer. Postoperative adjuvant cisplatin, vindesine, plus uracil-tegafur chemotherapy increased survival of patients with completely resected p-stage I non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2005; 49(1): 85–94.
- Kato H, Ichinose Y, Ohta M et al. A randomized trial of adjuvant chemotherapy with uracil-tegafur for adenocarcinoma of the lung. *N Engl J Med* 2004; 350(17): 1713–1721.
- Hamada C, Tanaka F, Ohta M et al. Meta-analysis of postoperative adjuvant chemotherapy with tegafur-uracil in non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2005; 23(22): 4999–5006.
- Kreuter M, Vansteenkiste J, Fischer JR et al. Randomized phase II trial on refinement of early-stage NSCLC adjuvant chemotherapy with cisplatin and pemetrexed vs cisplatin and vinorelbine: the TREAT study. *Ann Oncol* 2013; 24(4): 986–992.
- Winton T, Livingston R, Johnson D et al. Vinorelbine plus cisplatin vs observation in resected non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2005; 352(25): 2589–2597.
- Pepe C, Hasan B, Winton TL et al. Adjuvant vinorelbine and cisplatin in elderly patients: National Cancer Institute of Canada and Intergroup Study JBR.10. *J Clin Oncol* 2007; 25(12): 1553–1561.
- Wisnivesky JP, Smith CB, Packer S et al. Survival and risk of adverse events in older patients receiving postoperative adjuvant chemotherapy for resected stages II–IIIA lung cancer: observational cohort study. *BMJ* 2011; 343: d4013.
- Arriagada R, Dunant A, Pignon JP et al. Long-term results of the international adjuvant lung cancer trial evaluating adjuvant Cisplatin-based chemotherapy in resected lung cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28(1): 35–42.
- Butts CA, Ding K, Seymour L et al. Randomized phase III trial of vinorelbine plus cisplatin compared with observation in completely resected stage IB and II non-small-cell lung cancer: updated survival analysis of JBR-10. *J Clin Oncol* 2010; 28(1): 29–34.
- Ardizzone A, Boni L, Tiseo M et al. Cisplatin-versus carboplatin-based chemotherapy in first-line treatment of advanced non-small-cell lung cancer: an individual patient data meta-analysis. *J Natl Cancer Inst* 2007; 99(11): 847–857.
- Hotta K, Matsuo K, Ueoka H et al. Meta-analysis of randomized clinical trials comparing cisplatin to carboplatin in patients with advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2004; 22(19): 3852–3859.
- Strauss GM, Herndon JE 2nd, Maddaus MA et al. Adjuvant paclitaxel plus carboplatin compared with observation in stage IB non-small-cell lung cancer: CALGB 9633 with the Cancer and Leukemia Group B, Radiation Therapy Oncology Group, and North Central Cancer Treatment Group Study Groups. *J Clin Oncol* 2008; 26(31): 5043–5051.
- Sun H, Wang S, Ou W et al. A prospective randomized study of adjuvant chemotherapy in resected stage IIIA–N2 non-small cell lung cancer. *Zhongguo Fei Ai Za Zhi* 2009; 12(9): 975–982.
- Karapanagiotou EM, Boura PG, Papamichalis G et al. Carboplatin-pemetrexed adjuvant chemotherapy in resected non-small cell lung cancer (NSCLC): a phase II study. *Anticancer Res* 2009; 29(10): 4297–4301.
- Stinchcombe TE, Harper HD, Hensing TA et al. The feasibility of adjuvant carboplatin and docetaxel in patients with curatively resected non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol* 2008; 3(2): 145–151.
- Younis T, Al-Fayea T, Virik K et al. Adjuvant chemotherapy uptake in non-small cell Lung cancer. *J Thorac Oncol* 2008; 3(11): 1272–1278.
- Kolek V, Grygárková I, Chalupa J et al. Možnosti podání perorálního vinorelbínu v adjuvantní chemoterapii u nemalobuněčného karcinomu plic. Multicentrická studie proveditelnosti a snášenlivosti. *Stud Pneumol Phthisiol* 2010; 70(3): 102–105.
- Kolek V, Chalupa J, Grygárková I et al. Oral vinorelbine in combination with carboplatin in adjuvant chemotherapy of non-small cell lung cancer: A prospective multicentre study of feasibility and tolerability. *J Thorac Oncol* 2011; 6(6): S1330.
- Gu F, Strauss GM, Wisnivesky JP. Platinum-based adjuvant chemotherapy (ACT) in elderly patients with non-small cell lung cancer (NSCLC) in the SEER-Medicare database: Comparison between carboplatin- and cisplatin-based regimens. *J Clin Oncol* 2011; 29 (Suppl 15): 7014.
- Olaussen KA, Dunant A, Foubert P et al. DNA repair by ERCC1 in non-small-cell lung cancer and cisplatin-based adjuvant chemotherapy. *N Engl J Med* 2006; 355(10): 983–991.
- Simon GR, Sharma S, Cantor A et al. ERCC1 expression is a predictor of survival in resected patients with non-small cell lung cancer. *Chest* 2005; 127(3): 978–983.

38. Zheng Z, Chen T, Li X et al. DNA synthesis and repair genes RRM1 and ERCC1 in lung cancer. *N Engl J Med* 2007; 356(8): 800–808.
39. Bepler G, Kusmartseva I, Sharma S et al. RRM1 modulated in vitro and in vivo efficacy of gemcitabine and platinum in non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2006; 24(29): 4731–4737.
40. Rosell R, Perez-Roca L, Sanchez JJ et al. Customized treatment in non-small-cell lung cancer based on EGFR mutations and BRCA1 mRNA expression. *Plos One* 2009; 4(5): e5133–e5133.
41. Tsao MS, Aviell-Ronen S, Ding K et al. Prognostic and predictive importance of p53 and RAS for adjuvant chemotherapy in non small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2007; 25(33): 5240–5247.
42. Eberhard DA, Johnson BE, Amler LC et al. Mutations in the epidermal growth factor receptor and in KRAS are predictive and prognostic indicators in patients with non-small-cell lung cancer treated with chemotherapy alone and in combination with erlotinib. *J Clin Oncol* 2005; 23(25): 5900–5909.
43. Sève P, Lai R, Ding K et al. Class III beta-tubulin expression and benefit from adjuvant cisplatin/vinorelbine chemotherapy in operable non-small cell lung cancer: analysis of NCIC JBR.10. *Clin Cancer Res* 2007; 13(3): 994–999.
44. Graziano SL, Gu L, Wang X et al. Prognostic significance of mucin and p53 expression in stage IB non-small cell lung cancer: A laboratory companion study to CALGB 9633. *J Thorac Oncol* 2010; 5(6): 810–817.
45. Filipits M, Haddad V, Schmid K et al. Multidrug resistance proteins do not predict benefit of adjuvant chemotherapy in patients with completely resected non-small cell lung cancer: International Adjuvant Lung Cancer Trial Biologic Program. *Clin Cancer Res* 2007; 13(13): 3892–3898.
46. Skrzypski M, Jassem E, Taron M et al. Three-gene expression signature predicts survival in early-stage squamous cell carcinoma of the lung. *Clin Cancer Res* 2008; 14(15): 4794–4799.
47. Yanagisawa K, Tomida S, Shimada Y et al. A 25-signal proteomic signature and outcome for patients with resected non-small-cell lung cancer. *J Natl Cancer Inst* 2007; 99(11): 858–867.
48. Potti A, Mukherjee S, Petersen R et al. A genomic strategy to refine prognosis in early-stage non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2006; 355(6): 570–580.
49. Zhu CQ, Ding K, Strumpf D et al. Prognostic and predictive gene signature for adjuvant chemotherapy in resected non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28(29): 4417–4424.
50. Kolec V, Grygarková I, Hajdúch M et al. Long term follow-up of neoadjuvant-adjuvant combination treatment of IIIA stage non-small-cell-lung cancer: Results of neoadjuvants of carboplatin/vinorelbine and carboplatin/paclitaxel regiment combined with selective adjuvant chemotherapy according to in vitro chemoresistance test. *Olomouc: Biomed Pap UP* 2008; 152(2): 259–266.
51. Goss GD, Lorimer I, Tsao MS et al. A phase III randomized, double-blind, placebo-controlled trial of the epidermal growth factor receptor inhibitor gefitinib in completely resected stage IB-IIIa non-small cell lung cancer (NSCLC): NCIC CTG BR.19. *J Clin Oncol* 2010; 28 (Suppl 18): abstr. LBA7005.
52. Tsao MS, Sakurada A, Ding K et al. Prognostic and predictive value of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase domain mutation status and gene copy number for adjuvant chemotherapy in non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol* 2011; 6(1): 139–147.
53. Janjigian YY, Park BJ, Zakowski MF et al. Impact on disease-free survival of adjuvant erlotinib or gefitinib in patients with resected lung adenocarcinomas that harbor EGFR mutations. *J Thorac Oncol* 2011; 6(3): 569–575.
54. Varella-Garcia M, Mitsudomi T, Yatabe Y et al. EGFR and HER2 genomic gain in recurrent non-small cell lung cancer after surgery impact on outcome to treatment with gefitinib and association with EGFR and KRAS mutations in a Japanese Cohort. *J Thorac Oncol* 2009; 4(3): 318–325.
55. D'Angelo SP, Janjigian YY, Ahye N et al. Distinct clinical course of EGFR-mutant resected lung cancers: results of testing of 1118 surgical specimens and effects of adjuvant gefitinib and erlotinib. *J Thorac Oncol* 2012; 7(12): 1815–1822.
56. Wu YL (ed). Gefitinib Versus Vinorelbine/Platinum as Adjuvant Treatment in Stage II–IIIa(N1–N2) NSCLC With EGFR Mutation (ADJUVANT) [monograph on the Internet]. Available from: <http://clinicaltrials.gov>.
57. Wang SY, Sun H, Ou W et al. Epidermal growth factor receptor mutation status and adjuvant chemotherapy in resected advanced non-small cell lung cancer. *Clin Lung Cancer* 2013; 30 (Suppl): abstr. 7034.
58. Tada H, Takeda K, Nakagawa K et al. Vinorelbine plus cisplatin versus gefitinib in resected non-small cell lung cancer harboring activating EGFR mutation (WJOG6410L). *J Clin Oncol* 2012; 30 (Suppl): abstr. TPS7110.
59. Neal JW, Pennell NA, Goodgame BW et al. A multicenter phase II trial of adjuvant erlotinib in patients with resected non-small cell lung cancer (NSCLC) and mutations in the epidermal growth factor receptor (EGFR): Toxicity evaluation. *J Clin Oncol* 2010; 28 (Suppl 15): abstr. 7078.
60. Richardson F, Richardson K, Sennello G et al. Biomarker analysis from completely resected NSCLC patients enrolled in an adjuvant erlotinib clinical trial (RADIANT). *J Clin Oncol* 2009; 27 (Suppl 15): 387.
61. Wakelee H, Dahlberg SE, Keller SM et al. Interim report of on-study demographics and toxicity from E1505, a phase III randomized trial of adjuvant chemotherapy with or without bevacizumab for completely resected early-stage non-small cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2011; 29 (Suppl): abstr. 7013.
62. Waterhouse DM, Hainsworth JD, Greco FA et al. Adjuvant carboplatin, docetaxel, bevacizumab, and erlotinib versus chemotherapy alone in patients with resected non-small cell lung cancer: A randomized phase II study of the Sarah Cannon Research Institute (SCRI). *J Clin Oncol* 2012; 30 (Suppl): abstr. 7035.
63. Pujol JL, Vansteenkiste JF, De Pas TM et al. MAGE-A3 cancer immunotherapeutic in resected stage IB-III NSCLC patients with or without sequential or concurrent chemotherapy. *J Clin Oncol* 2012; 30 (Suppl): abstr. 7013.

Degradace proteinů ubiquitin-proteazomovou dráhou

Degradation of Proteins by Ubiquitin-Proteasome Pathway

Matějíková J.¹, Kubiczková L.^{1,2}, Sedlaříková L.¹, Potáčová A.¹, Hájek R.^{1,2}, Ševčíková S.^{1,2}

¹ Babákova myelomová skupina, Ústav patologické fyziologie, LF MU, Brno

² Oddělení klinické hematologie, FN Brno

Souhrn

Všechny intracelulární a některé extracelulární proteiny jsou kontinuálně degradovány a nahražovány syntézou nových proteinů. Oba tyto děje musejí zůstat ve vzájemné rovnováze, neboť její narušení by mohlo vést ke vzniku závažných onemocnění. Buňky obsahují mnoho proteolytických systémů, které zajišťují vysoce specifickou a kontrolovanou degradaci proteinů. Jedním z nich je proteazom, složitý molekulární stroj sloužící k degradaci proteinů konjugovaných s ubiquitinem. Od první izolace proteazomu v roce 1968 bylo objeveno mnoho detailů o fungování tohoto systému. V roce 2004 byla za tyto objevy dokonce udělena Nobelova cena za chemii. V naší přehledové práci jsme se zaměřili na shrnutí dosavadních poznatků o mechanismech vysoce selektivní degradace proteinů ubiquitin-proteazomovou dráhou. Jednotlivé kapitoly tohoto článku pojednávají o struktuře a funkci systému ubiquitin-proteazom, mechanismech regulace degradace proteinů a biologických účincích inhibitorů proteazomu.

Klíčová slova

proteazom – ubiquitin – NF-kappa B – proteazomové inhibitory – degradace proteinů

Summary

All intracellular and some extracellular proteins are continually degraded and replaced by synthesis of new proteins. Both these processes need to stay in equilibrium since their balance may lead to emergence of diseases. Cells contain many proteolytic systems that ensure highly specific and controlled degradation of proteins. One of these systems is the proteasome, a very complex molecular engine allowing degradation of proteins conjugated to ubiquitin. Since the first isolation of proteasome in 1968, many details about its function have been uncovered. In 2004, Nobel Prize for chemistry was awarded for these discoveries. In our review article, we aimed to summarize information about the mechanism of highly selective degradation of proteins by the ubiquitin-proteasome pathway. Individual parts of the paper summarize current knowledge about highly selective degradation of proteins by the ubiquitin-proteasome system, mechanisms of protein degradation regulation and biological effects of proteasome inhibitors.

Key words

proteasome – ubiquitin – NF-kappa B – proteasome inhibitors – protein degradation

Tato práce byla podpořena výzkumnými projekty Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy MSM0021622434, Grantové agentury ČR GAP304/10/1395 a Interní grantové agentury Ministerstva zdravotnictví NT12130, NT11154, NT13190 a NT14575.

This study was supported by scientific programs of the Ministry of Education, Youth and Sports MSM0021622434, Grant Agency CR GAP304/10/1395 and Internal Grant Agency of the Czech Ministry of Health NT12130, NT11154, NT13190 and NT14575.

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.



RNDr. Sabina Ševčíková, Ph.D.
Babákova myelomová skupina
Ústav patologické fyziologie
LF MU, Brno
Kamenice 5, A3
625 00 Brno
e-mail: sevcik@med.muni.cz

Obdrženo/Submitted: 16. 1. 2013

Přijato/Accepted: 31. 3. 2013

Úvod

Všechny intracelulární a některé extracelulární proteiny jsou kontinuálně degradovány a nahrazovány syntézou nových proteinů. Jednotlivé proteiny v jádře a cytosolu, ale i v endoplazmatickém retikulu a mitochondriích jsou degradovány různě rychle – od několika minut pro některé regulační proteiny až do dnů a týdnů pro proteiny, jako jsou aktin a myosin [1,2]. Buňky obsahují mnoho proteolytických systémů, které provádějí degradaci tak, aby byla vysoce specifická a kontrolovaná. Ve zdravé buňce musí existovat rovnováha mezi degradací a syntézou proteinů. Poruchy v těchto systémech mohou vést ke hromadění nefunkčních nebo poškozených proteinů, což ve svém důsledku vede ke vzniku mnoha onemocnění. Většina intracelulárních proteinů je degradována ubiquitin-proteazomovou dráhou [3]. A právě tímto systémem se práce zabývá.

Systém ubiquitin-proteazom

Proteazom je složitý molekulární stroj sloužící k degradaci proteinů konjugovaných s ubiquitinem. Skládá se ze základny a na ni navázaných regulačních jednotek, které dále upravují proteazomovou aktivitu a specifitu [4]. Proteazom byl objeven a poprvé izolován roku 1968 a pro svůj tvar dutého válce byl původně nazván cylindrin [5]. Vyskytuje se ve velkém množství v cytosolu a v jádře s odlišnou distribucí u různých typů buněk a v různých fázích buněčného cyklu [6]. Zaujímá 0,5 % až 1 % všech buněčných proteinů [7]. Vysoce proliferující a transformované buněčné linie vykazují vyšší hladiny proteazomu a jeho aktivity než klidové a netransformované buňky [8].

Z evolučního hlediska se jedná o vysoce konzervativní strukturu. Existují dva základní evoluční typy proteazomových jednotek. Ancestrální forma popsána u archeí obsahuje stejné uspořádání podjednotek jako ta savčí, ale sestává pouze z jednoho typu α podjednotek a jednoho typu β podjednotek [4].

V roce 2004 byla udělena Nobelova cena za objev ubiquitinem zprostředkované degradace proteinů. V historickém kontextu se jednalo o zcela „nezajíma-

vou“ oblast výzkumu. Po odhalení trojrozměrné struktury DNA se zájem soustředil spíše na syntézu proteinů než na jejich degradaci. Ačkoliv se již na konci 60. let vědělo, že proteiny jsou odbourávány vysoce selektivním nonlysozomálním způsobem, kovalentní vazba ubiquitinu na proteinové substráty byla rozpoznána až na přelomu let 80. Hlavním předpokladem pro objev byla skutečnost, že k dosažení selektivity byla zapotřebí energie v podobě ATP [9].

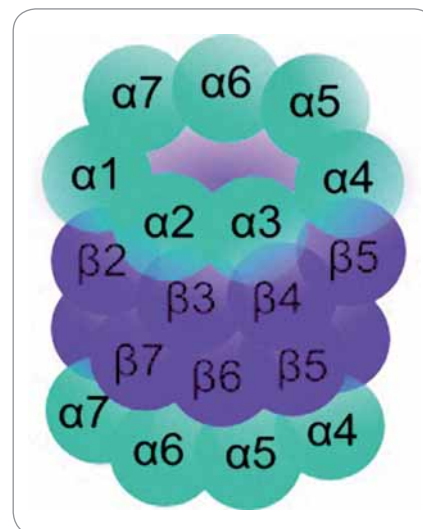
V rámci zachování homeostázy buněčného metabolismu využívá buňka dvou hlavních cest recyklace proteinů. Každou cestu doprovází specifické proteázy. Kromě selektivní ATP-dependentní degradace zprostředkované ubiquitin-proteazomovým systémem (UPS) jsou proteiny odbourávány prostřednictvím membránového kompartmentu lysozomu. Lysozomální degradace probíhá mechanismem autofagie za účasti hydrolytických enzymů katepsinů v prostředí s nízkým pH. Jejím substrátem jsou extracelulární proteiny s dlouhým biologickým poločasem či struktury větších rozměrů, jakými jsou buněčné organely [10]. Substrátem pro proteazomovou degradaci jsou oproti tomu intracelulární proteiny s krátkou životností, což jsou i špatně sbalené, poškozené či dále nepotřebné proteiny [11].

UPS je svou činností zapojen do regulace buněčného cyklu, kontroly nově syntetizovaných proteinů, regulace transkripčních faktorů, genové exprese, imunitní odpovědi i patologických procesů, jakými jsou nádorová a neurodegenerativní onemocnění, zánětlivé procesy, a v neposlední řadě hraje roli v procesu stárnutí [12].

Struktura proteazomu

Má-li protein podstoupit degradaci, je ve většině případů označen vazbou několika ubiquitinových molekul. Polyubikvitinovaný protein je následně transportován k multikatalytickému enzymovému komplexu – proteazomu, kde dochází k vlastnímu štěpení na krátké peptidové sekvence.

Běžným proteazomovým systémem savčích buněk je 26S proteazom o molekulové hmotnosti 2,5 MDa a s 31 typy



Obr. 1. Struktura proteazomu. Čtyři prstence po 7 podjednotkách v pořadí $\alpha\beta\beta\alpha$.

podjednotek [13]. Skládá se z hlavní části 20S proteazomu, dutého útvaru tvaru válce poskytujícího uzavřený prostor pro vlastní proteolýzu a na něj navázaných jedné či dvou 19S regulačních jednotek (PA700), které obsahují několik aktivních a ubiquitin-vazebných míst [14].

20S proteazom se skládá ze čtyř homologních prstencových struktur. Každý prsteneček je tvořen buď sedmi podjednotkami α , nebo sedmi podjednotkami β . Prstence jsou uspořádány v pořadí $\alpha\beta\beta\alpha$ nad sebou (obr. 1) [15].

Vnější α prstence regulují přístup substrátu do vnitřního proteolytického centra. Jestliže α podjednotky rozpoznají substrát, dojde ke konformační změně, při které dochází k odstranění blokády vstupní brány N-konci aminokyselinových zbytků podjednotek α -2, α -3 a α -4 [16]. Vnitřní β prstence jsou zodpovědné za proteolytickou degradaci substrátu. Konkrétně proteolytickou aktivitu vykazují podjednotky β 1, β 2 a β 5. Tyto podjednotky se nacházejí v proteolytickém centru, ve středu dutiny proteazomu. Každá z nich obsahuje aktivní místo na svém N-konci, ve kterém se nachází zbytek aminokyseliny threoninu (Thr1). Podjednotka β 1 vykazuje proteolytickou aktivitu podobnou kaspázám, které štěpí polypeptidový řetězec v místě za kyselou aminokyselinou v sekvenci. Podjednotka β 2 vykazuje aktivitu podobnou trypsinu, který štěpí po přítomnosti bazických aminokyselin, a pod-

jednotka $\beta 5$ má aktivitu podobnou chymotrypsinu, který štěpí po hydrofobních aminokyselinách [17]. Oligopeptidovým produktem proteazomové degradace je minimálně 2 a maximálně 35 aminokyselin dlouhý řetězec s průměrnou délkou 8 až 12 aminokyselin [18].

Pro stabilizaci trojrozměrné struktury aktivního místa jsou důležité serinové zbytky v lokusech Ser129/166/169 a pro funkčnost proteolýzy zbytky aminokyselin Asp17 a Lys33, které obklopují Thr1. Z hlediska proteolýzy nejsou všechny aktivní β podjednotky stejně důležité, ale platí hierarchie v pořadí $\beta_5 > \beta_2 > \beta_1$ [17].

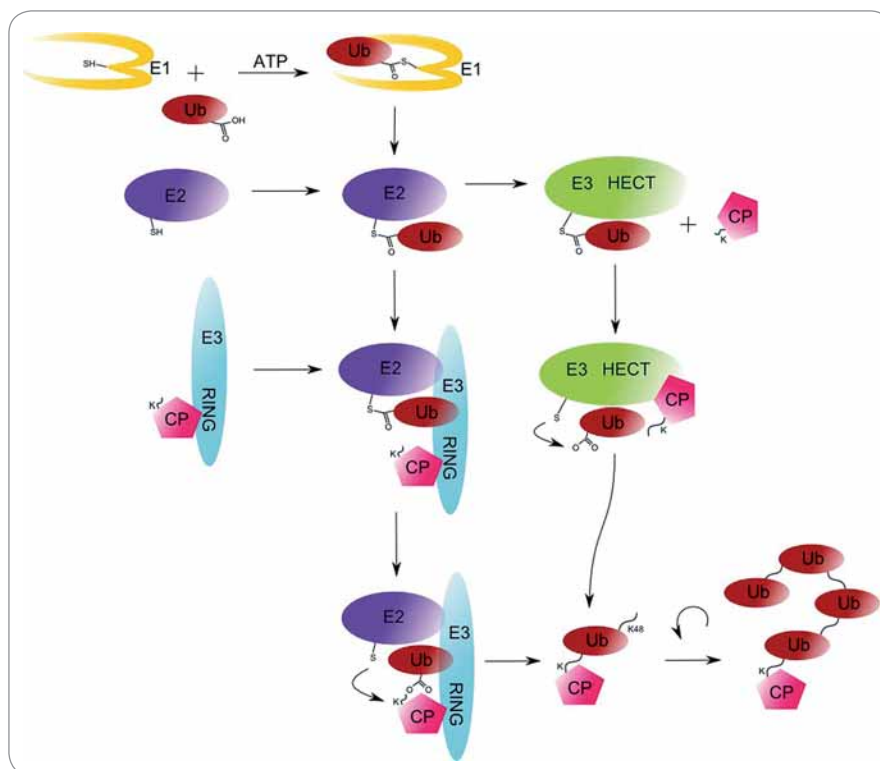
Aby se předešlo nekontrolované degradaci buněčného materiálu, existuje v UPS několik na sobě nezávislých regulačních mechanismů. Jedním z vysoce efektivních je přítomnost regulačních molekul. 19S regulátor je proteazomovým aktivátorem o molekulové hmotnosti 700 kDa (PA700) [19]. Je složen z 19 samostatných proteinů, přičemž 10 proteinů tvoří základnu, která se váže k α prstencům 20S proteazomu, a 9 proteinů vytváří strukturu podobnou víku, kam se váže polyubikvitinový řetězec. PA700 umožňuje přístup vyšší koncentrace označeného substrátu do proteolytického prostoru [20].

Podjednotky Rpn10 a Rpn13 19S regulátoru slouží jako ubikvitinové receptory. Rpt2, Rpt3 a Rpt5 podjednotky jsou zapojeny do otevírání přístupu k 20S proteazomu. Podjednotka Rpn11 obsahuje Zn^{2+} -dependentní proteolytické centrum, které odbourává polyubikvitinový řetězec a uvolňuje jej do svého okolí [20].

Mechanizmus degradace ubikvitinem

Ubikvitin (Ub) je malý protein složený ze 76 aminokyselin s celkovou molekulovou hmotností 8,5 kDa. Ubikvitinem označený protein je degradován v proteazomu a jeho aminokyseliny jsou využity k seskládání nových proteinů [9].

Proces ubiquitinace sestává ze tří kroků a vyžaduje přítomnost tří různých tříd enzymů (E1 až E3). Počátečním krokem je dvoustupňová ATP-dependentní aktivace ubiquitinu enzymem E1. Nejdříve je vytvořen adenylovaný meziprodukt,



Obr. 2. Mechanismus ubikvitinace cílového proteinu (CP) enzymy E1 (ubikvitin-aktivující enzym), E2 (ubikvitin-konjugující enzym) a E3 (ubikvitin-ligáza).

který je atakován cysteinovým zbytkem aktivního centra E1 enzymu, na který se ubiquitin naváže thioesterovou vazbou. Ubikvitin-aktivující enzym E1 následně ubiquitin přenáší k ubiquitin-konjugujícímu enzymu E2, na jehož cysteinový zbytek se ubiquitin naváže svým C-koncovým glycinem 76 transthioesterifikační reakcí. Posledním krokem je navázání ubiquitinu na substrát pomocí enzymu ubiquitin-ligázy E3. Vzniká izopeptidová vazba mezi lyzinem cíleného proteinu a C-koncovým glycinem ubiquitinu [...-CO-NH ϵ -...]. Substrátová ubiquitinace může probíhat dvěma různými způsoby. Za první způsob nese zodpovědnost RING doména E3 enzymů a dochází k přímému přenosu ubiquitinu na substrát. V druhém případě dochází k vytvoření E3-ubikvitin intermediátu, jehož vznik je katalyzován HECT doménou E3 enzymů (obr. 2) [21].

Předpokládá se, že existuje několik málo E1 enzymů, několik desítek E2 enzymů a zhruba 600 různých E3 enzymů zakódovaných v lidském genomu [22]. Substrátová specifita je dána právě velkým počtem ubikvitinových ligáz (E3),

přičemž každá z nich je specifická pro limitní počet substrátových proteinů [23].

Abys mohly být substráty pro degradaci rozpoznány proteazomem, musejí být v řetězci navázány alespoň čtyři molekuly ubiquitinu [24]. Způsob vazby ubiquitinů není jednotný a určuje, zda daný protein bude opravdu degradován, nebo dojde k alternativním buněčným procesům, jakými mohou být aktivace enzymů, transkripce genů či transport membránových proteinů [25]. V ubiquitinové sekvenci aminokyselin se nachází sedm lyzinových zbytků, mezi kterými může docházet k vazbě [26]. Nejčastější spojení ubiquitinů se uskutečňuje přes lyzin 48 (K48 řetězce) a vede k destrukci označeného proteinu [27]. Nekanonické spojení řetězců vedoucí ke stejnému cíli byly *in vitro* prokázány také mezi lyziny 63 [28]. Katalýzy polyubikvitinace se kromě E4 enzymů účastní i poslední rodina E3 U-box proteinů [29].

Polyubikvitinovaný protein je rozpoznávan ubikvitinovými receptory proteazomu jako substrát proteolýzy. Rpt2 podjednotka 19S regulátoru requ-

Tab. 1. Substráty proteazomu důležité pro nádorové buňky.

Proteiny s krátkým biologickým poločasem rozpadu	Substrát	Funkce v organismu	Ubikvitin ligáza
regulátory BC	cyklin A	řízení průchodu jednotlivými fázemi BC	
	cyklin B		APC/Cdc20; C6orf157
	cyklin D		
	cyklin E		SCF/FWB7
	Cdc25A/B/C	regulace Cdk	SCF/β-TrCP
	p27Kip1	inhibice Cdk	SCF/Skp2
	p21Cip1		DTL
inhibitory apoptózy	XIAP	inhibice efektorových kaspáz	
	cIAP		
transkripční faktory	I-κB/NFκB	transkripce genů ovlivňujících metastázování, angiogenezi a buněčné adheze	SCF/β-TrCP
	β-katenin	řízení kontrolních bodů BC	SIAH1; SCF/β-TrCP
	HIF1	přizpůsobení nádorových buněk hypoxii	VHL
	ATF2	transkripce genů pro proteinkinázy	
	STATs	regulace onkogenních drah	
onkogeny	c-fos, c-myc, c-jun	regulace onkogenní aktivity	SCF/FWB7; MEKK1
tumor supresory	p53	regulace exprese genů pro růst buněk, apoptózu, opravu DNA a angiogenezi	MDM2; E6-AP; HUFE; RFWD2; TOPORS; RFFL; HECW1
tumor-specifické antigeny	survivin	interakce s prostředím	
	Muc-1		
enzymy	DNA topoizomeráza	změna terciární struktury DNA	

luje vstup substrátu i uvolňování produktu do/ze základny proteazomu. Ubikvitinové molekuly jsou uvolněny do cytozolu deubikvitinázou Rpn11 ve formě polyubikvitinového řetězce [30]. Zde jsou řetězce degradovány na jednotlivé molekuly dalšími deubikvitinázami enzymy (DUBs) [31].

Regulační mechanismus UPS v sobě zahrnuje přítomnost antagonisticky působících, ubikvitinu podobných proteinů (UBLs), mezi které patří SUMO modifikující protein p53 a substrát specifických DUBs, mezi které patří CYLD odstraňující ubikvitin ze signálních molekul NFκB dráhy a USP9X regulující ubikvitinaci Mcl-1 [32–34].

Vlastní degradaci proteinu předcházejí procesy jako rozbalení do primární struktury a přemístění do proteolytického centra, které jsou zprostředkované proteázami podobnými chaperonům

za spotřeby energie získané hydrolýzou ATP. Tyto ATPázy (podjednotky Rpt 1–6) jsou součástí 19S regulační partikule [35]. Štěpení proteinu probíhá tak dlouho, dokud nejsou vytvořeny všechny oligopeptidové produkty schopné difundovat ven z proteazomu.

V buňkách hematopoetické řady je hlavním typem proteazomu jeho inducibilní izoforma – imunoproteazom, jehož výskyt koreluje s hladinou cytokinů. Je charakterizován nahrazením proteolyticky aktivních podjednotek β1, β2 a β5 jejich ekvivalenty β1i (LMP2), β2i (MELC1) a β5i (LMP7). Zároveň je 20S základna spojena s odlišnou regulační jednotkou – 11S regulátorem. Imunoproteazom štěpí proteiny na 8–10 aminokyselin dlouhé oligopeptidy, které jsou optimální pro prezentaci hlavním histokompatibilním komplexem I na povrchu buňky [36].

Karcinogenní substráty proteazomové degradace a jejich funkce

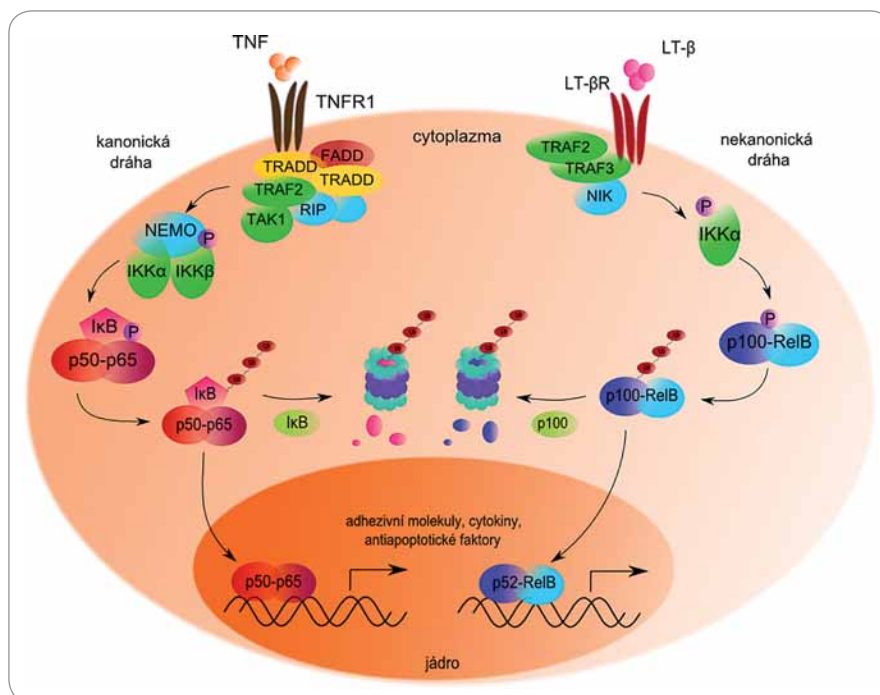
Roli proteazomu a jeho inhibitorů v procesu karcinogeneze lze nejlépe demonstrovat identifikací reprezentativních substrátů proteolýzy. Substráty související s karcinogenezi lze obecně rozdělit na strukturně nefunkční proteiny a proteiny s krátkým biologickým poločasem.

Ačkoliv primární sekvence aminokyselin každého nově syntetizovaného proteinu obsahuje veškerou informaci potřebnou pro zformování jeho terciární struktury, je ve skutečnosti 30 % proteinů sbaleno chybně, bez možnosti správného znovusbalení [37]. Aby buňka předešla akumulaci nefunkčních proteinů uvězněných v nízkoenergetickém stavu a jejich aminokyseliny mohly být dále recyklovány, využívá systém chaperonů, který tyto struktury rozpoznává,

a systém transmembránových proteinů, který je dále transportuje z endoplazmatického retikula, kde probíhá jejich sbalování, do cytozolu, kde se nachází proteazom. Tento proces se nazývá degradace asociovaná s endoplazmatickým retikulem (ERAD) [38]. Také cytozolové proteiny s narušenou strukturou nebo náchylné k agregaci jsou vychytávány k proteazomové degradaci pomocí dvou vysoce konzervovaných kompartmentů JUNQ a IPOD [39]. Kromě *a principio* špatně sbalených proteinů vstupuje do proteazomové degradace převážná většina proteinů s dlouhým biologickým poločasem poškozených reaktivními radikály kyslíku, intracelulární denaturací či jinak strukturně modifikovanými a neschopnými plnit svou funkci. Hlavním substrátem UPS však zůstávají proteiny s krátkým biologickým poločasem. Zpravidla na svém N-konci obsahují hydrofobní zbytky aminokyselin. Mezi takové substráty řízené proteolýzy patří regulační molekuly buněčného cyklu, transkripční faktory, onkogenní produkty, nádorové supresory, apoptotické faktory a antigeny (tab. 1) [40].

Mezi nejvýznamnější molekuly regulované proteazomem patří členové signální dráhy NFκB (obr. 3). Jaderný faktor NFκB je souhrnný název pro skupinu rychle působících primárních transkripčních faktorů patřících do rodiny Rel (reticuloendotheliosis), které ovlivňují transkripci genů pro růstové faktory, cytokiny, chemokiny, modulatory angiogeneze, adhezivní molekuly a antiapoptotické faktory [41]. Poprvé byl NFκB popsán roku 1986 jako B-lymfocytární jaderný faktor potřebný pro transkripci κ lehkých řetězců Ig [42]. Od té doby mu byly připsány desítky dalších funkcí v rámci většiny typů buněk lidského organismu.

NFκB existuje v cytoplasmě v podobě inaktivních dimerických komplexů navázaných na inhibitor κB (IκB). Tento inhibitor maskuje jaderný lokalizační signál, a tím brání translokaci NFκB do jádra [43]. Aktivaci dimeru předchází fosforylace inhibitoru specifickou IκB kinázou (IKK), která se nachází v cytoplasmě a vykazuje serin-proteinkinázovou aktivitu. IKK se skládá ze tří podjednotek – heterodimeru IKKα/IKKβ s katalytickou aktivitou a regulační podjednotky IKKγ (NEMO) [44].



Obr. 3. Role proteazomu v kanonické a nekanonické cestě aktivace transkripčního faktoru NFκB.

Inaktivní komplex NFκB-IκB je stimulován celou řadou podnětů, jakými jsou prozánětlivé cytokiny TNFα a IL-1, mitogeny, růstové faktory, stresory, lipopolysacharidy či volné radikály. Různé stimuly mohou vyvolat aktivaci NFκB dvěma odlišnými způsoby.

Klasickou signální cestou je IκBα fosforylován na serinu 32 a 36 podjednotkou βIKK. Fosforylovaný IκBα je rozpoznán ubiquitin-ligázovým komplexem SCF/β-TrCP, polyubikvitinován a degradován proteazomem [45]. Odstraněním inhibitoru je NFκB schopen přenosu do jádra a následné indukce exprese více než 50 různých genů, mimo jiné pro IL-6, IL-1, IL-2, TNFα, COX-2, ICAM-1, VCAM-1, XIAP, cIAP a dalších molekul významných pro onkogenezi [41]. Nejznámějším zástupcem aktivovaným kanonickou dráhou je heterodimer proteinů p50/p65, známý jako specifický NFκB.

Nekanonická alternativní dráha je založena na odlišném inhibitoru, kterým je prekurzorový protein p100. Aktivace je zahájena fosforylací NFκB-inducibilní kinázy (NIK) podjednotkou α IKK homodimeru. Aktivovaná NIK dále fosforyluje protein p100 (100 kDa) na C-konci, což vede k jeho zkrácení proteolytickým štěpením v proteazomu na p52 (52 kDa). Výsledkem

je transkripčně aktivní dimer p52/RelB [46,47]. Deregulace NFκB nastává při závažných, autoimunitních, virových a především nádorových onemocněních [48].

Biologické účinky inhibitorů proteazomu

Vzhledem k důležitosti proteazomu v mnoha aspektech buněčného metabolismu jsou účinky jeho inhibitorů na živé buňky komplexními procesy založenými na akumulaci, inhibici, inaktivaci, snížení anebo zvýšení hladiny jednotlivých proteinů, které spolu vzájemně interagují v rámci signálních drah.

Primárním důsledkem inhibice proteazomu je úplný pokles odbourávání proteinů, čímž nastává jejich hromadění. Velká množství proteinů konjugovaných s ubiquitinem 40 se akumulují v podobě agresomů v perinukleární oblasti buňky, kde jsou lokalizovány nefunkční proteazomy. Formování agresomů vyžaduje histonovou deacetylázu 6 (HDAC6) k vytvoření pevného spojení mezi mikrotubuly a ubiquitinovanými proteiny. Formace proteinů v agresomy nakonec vyvolá autofagické odbavení v podobě lyzozomální degradace [49]. Nahromadění nesbalených proteinů také vyvolává zvýšení hladiny chaperonů a stresových proteinů

ER, které buňce zprostředkují ochranu před toxickými podmínkami [50].

I přes prvotní obrannou linii dochází po dlouhodobém vystavení působení inhibitoru k programované smrti téměř všech typů buněk. Existuje několik možných vysvětlení závislosti selektivity na stupni proliferace buňky. V prvé řadě jsou vysoce proliferující nádorové buňky odlišné od ostatních buněk organismu tím, že mají narušené kontrolní body, a tedy jsou mnohem více závislé na proteazomem mediované degradaci pozitivních i negativních regulátorů buněčného cyklu. Za druhé, je pravděpodobné, že dysregulace buněčného cyklu tyto buňky činí citlivější k proapoptickým faktorům. A konečně, je možné, že transkripční faktory, které regulují progresi buněčného cyklu, jsou také svým dílem zodpovědné za inhibitor vyvolanou buněčnou smrt [51].

Inhibitory proteazomu se v současnosti používají i v klinické praxi. V léčbě mnohočetného myelomu, krevního nádorového onemocnění, došlo k výraznému pokroku v přežívání pacientů právě díky používání těchto inhibitorů [52].

Závěr

Regulované odbourávání proteinů u eukaryot pomocí 26S proteazomu má zásadní význam pro degradaci regulátorů buněčného cyklu, transkripčních faktorů, onkogenních produktů a nádorových supresorů, což je nezbytně nutné pro řádnou kontrolu a řízení buněčných procesů. Zároveň slouží k odbourání poškozených bílkovin z cytozolu a endoplazmatického retikula. Protože aktivita proteazomu v nádorových buňkách je obecně zvýšena, je také klíčovým cílem pro vývoj protinádorových léčiv. Některá jsou již užívána v klinické praxi při léčbě mnohočetného myelomu.

Literatura

1. Lecker SH, Goldberg AL, Mitch WE. Protein degradation by the ubiquitin-proteasome pathway in normal and disease states. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17(7): 1807–1819.
2. Mitch WE, Goldberg AL. Mechanisms of muscle wasting. The role of the ubiquitin-proteasome pathway. *N Engl J Med* 1996; 335(25): 1897–1905.
3. Rock KL, Gramm C, Rothstein L et al. Inhibitors of the proteasome block the degradation of most cell proteins and the generation of peptides presented on MHC class I molecules. *Cell* 1994; 78(5): 761–771.
4. Löwe J, Stock D, Jap B et al. Crystal structure of the 20S proteasome from the archaeon *T. acidophilum* at 3.4 Å resolution. *Science* 1995; 268(5210): 533–539.
5. Harris JR. The isolation and purification of a macromolecular protein component from the human erythrocyte ghost. *Biochim Biophys Acta* 1969; 188(1): 31–42.
6. Wójcik C, DeMartino GN. Intracellular localization of proteasomes. *Int J Biochem Cell Biol* 2003; 35(5): 579–589.
7. Peters JM. Proteasomes: protein degradation machines of the cell. *Trends Biochem Sci* 1994; 19(9): 377–382.
8. Kumatori A, Tanaka K, Inamura N et al. Abnormally high expression of proteasomes in human leukemic cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990; 87(18): 7071–7075.
9. Herskko A. The ubiquitin system for protein degradation and some of its roles in the control of the cell-division cycle (Nobel lecture). *Angew Chem Int Ed Engl* 2005; 44(37): 5932–5943.
10. Todde V, Veenhuis M, van der Klei IJ. Autophagy: principles and significance in health and disease. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1792(1): 3–13.
11. Lee DH, Goldberg AL. Proteasome inhibitors: valuable new tools for cell biologists. *Trends Cell Biol* 1998; 8(10): 397–403.
12. Jung T, Catalgol B, Grune T. The proteasomal system. *Mol Aspects Med* 2009; 30(4): 191–296.
13. Voges D, Zwickl P, Baumeister W. The 26S proteasome: a molecular machine designed for controlled proteolysis. *Annu Rev Biochem* 1999; 68: 1015–1068.
14. Bedford L, Paine S, Sheppard PW et al. Assembly, structure, and function of the 26S proteasome. *Trends Cell Biol* 2010; 20(7): 391–401.
15. Unno M, Mizushima T, Morimoto Y et al. The structure of the mammalian 20S proteasome at 2.75 Å resolution. *Structure* 2002; 10(5): 609–618.
16. Groll M, Bajorek M, Köhler A et al. A gated channel into the proteasome core particle. *Nat Struct Biol* 2000; 7(11): 1062–1067.
17. Jäger S, Groll M, Huber R et al. Proteasome beta-type subunits: unequal roles of propeptides in core particle maturation and a hierarchy of active site function. *J Mol Biol* 1999; 291(4): 997–1013.
18. Luciani F, Keşmir C, Mishto M et al. A mathematical model of protein degradation by the proteasome. *Biophys J* 2005; 88(4): 2422–2432.
19. DeMartino GN, Moormaw CR, Zagnitko OP et al. PA700, an ATP-dependent activator of the 20 S proteasome, is an ATPase containing multiple members of a nucleotide-binding protein family. *J Biol Chem* 1994; 269(33): 20878–20884.
20. Sharon M, Taverner T, Ambroggio XI et al. Structural organization of the 19S proteasome lid: insights from MS of intact complexes. *PLoS Biol* 2006; 4(8): e267.
21. Hochstrasser M. Lingering mysteries of ubiquitin-chain assembly. *Cell* 2006; 124(1): 27–34.
22. Li W, Bengtson MH, Ulbrich A et al. Genome-wide and functional annotation of human E3 ubiquitin ligases identifies MULAN, a mitochondrial E3 that regulates the organelle's dynamics and signaling. *PLoS One* 2008; 3(1): e1487.
23. Metzger MB, Hristova VA, Weissman AM. HECT and RING finger families of E3 ubiquitin ligases at a glance. *J Cell Sci* 2012; 125(Pt 3): 531–537.
24. Thrower JS, Hoffman L, Rechsteiner M et al. Recognition of the polyubiquitin proteolytic signal. *EMBO J* 2000; 19(1): 94–102.
25. Pickart CM, Fushman D. Polyubiquitin chains: polymeric protein signals. *Curr Opin Chem Biol* 2004; 8(6): 610–616.
26. Peng J, Schwartz D, Elias JE et al. A proteomics approach to understanding protein ubiquitination. *Nat Biotechnol* 2003; 21(8): 921–926.
27. Petroski MD, Deshaies RJ. Mechanism of lysine 48-linked ubiquitin-chain synthesis by the cullin-RING ubiquitin-ligase complex SCF-Cdc34. *Cell* 2005; 123(6): 1107–1120.
28. Saeki Y, Kudo T, Sone T et al. Lysine 63-linked polyubiquitin chain may serve as a targeting signal for the 26S proteasome. *EMBO J* 2009; 28(4): 359–371.
29. Hatakeyama S, Yada M, Matsumoto M et al. U box proteins as a new family of ubiquitin-protein ligases. *J Biol Chem* 2001; 276(35): 33111–33120.
30. Verma R, Aravind L, Oania R et al. Role of Rpn11 metalloprotease in deubiquitination and degradation by the 26S proteasome. *Science* 2002; 298(5593): 611–615.
31. Reyes-Turcu FE, Ventii KH, Wilkinson KD. Regulation and cellular roles of ubiquitin-specific deubiquitinating enzymes. *Annu Rev Biochem* 2009; 78: 363–397.
32. Rodriguez M, Desterro J, Lain S et al. SUMO-1 modification activates the transcriptional response of p53. *EMBO J* 1999; 18(22): 6455–6461.
33. Sowa ME, Bennett EJ, Gygi SP et al. Defining the human deubiquitinating enzyme interaction landscape. *Cell* 2009; 138(2): 389–403.
34. Schwickart M, Juany X, Lill JR et al. Deubiquitinase USP9X stabilizes MCL1 and promotes tumour cell survival. *Nature* 2010; 463(7277): 103–107.
35. Striebel F, Kress W, Weber-Ban E. Controlled destruction: AAA+ ATPases in protein degradation from bacteria to eukaryotes. *Curr Opin Struct Biol* 2009; 19(2): 209–217.
36. Klotzel PM. The proteasome and MHC class I antigen processing. *Biochim Biophys Acta* 2004; 1695(1–3): 225–233.
37. Kaufman RJ. Orchestrating the unfolded protein response in health and disease. *J Clin Invest* 2002; 110(10): 1389–1398.
38. Brodsky JL. The protective and destructive roles played by molecular chaperones during ERAD (endoplasmic-reticulum-associated degradation). *Biochem J* 2007; 404(3): 353–363.
39. Bagola K, Sommer T. Protein quality control: on IPODs and other JUNQ. *Curr Biol* 2008; 18(21): R1019–R1021.
40. Kropff M, Bisping G, Wenning D et al. Proteasome inhibition in multiple myeloma. *Eur J Cancer* 2006; 42(11): 1623–1639.
41. Pahl HL. Activators and target genes of Rel/NF-kappaB transcription factors. *Oncogene* 1999; 18(49): 6853–6866.
42. Sen R, Baltimore D. Inducibility of kappa immunoglobulin enhancer-binding protein NF-kappa B by a post-translational mechanism. *Cell* 1986; 47(6): 921–928.
43. Régnier CH, Song HY, Gao X et al. Identification and characterization of an IkappaB kinase. *Cell* 1997; 90(2): 373–383.
44. Makris C, Roberts JL, Karin M. The carboxyl-terminal region of IkappaB kinase gamma (IKKgamma) is required for full IKK activation. *Mol Cell Biol* 2002; 22(18): 6573–6581.
45. Kanarek N, Ben-Neriah Y. Regulation of NF-kB by ubiquitination and degradation of the IKBs. *Immunol Rev* 2012; 246(1): 77–94.
46. Dejardin E. The alternative NF-kappaB pathway from biochemistry to biology: pitfalls and promises for future drug development. *Biochem Pharmacol* 2006; 72(9): 1161–1179.
47. Annunziata CM, Davis RE, Demchenko Y et al. Frequent engagement of the classical and alternative NF-kappaB pathways by diverse genetic abnormalities in multiple myeloma. *Cancer Cell* 2007; 12(2): 115–130.
48. Luqman S, Pezzuto JM. NFkB: a promising target for natural products in cancer chemoprevention. *Phytother Res* 2010; 24(7): 949–963.
49. Hideshima T, Bradner JE, Wong J et al. Small-molecule inhibition of proteasome and aggresome function induces synergistic antitumor activity in multiple myeloma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102(24): 8567–8572.
50. Kaufman RJ. Orchestrating the unfolded protein response in health and disease. *J Clin Invest* 2002; 110(10): 1389–1398.
51. McConkey DJ, Zhu K. Mechanisms of proteasome inhibitor action and resistance in cancer. *Drug Resist Updat* 2008; 11(4–5): 164–179.
52. Kubiczková L, Matějčková J, Sedlářková L et al. Inhibitory proteazomu v léčbě mnohočetného myelomu. *Klin Onkol* 2013; 26(1): 11–18.

Karcinom pankreatu a faktory životního stylu

Pancreatic Cancer and Lifestyle Factors

Azeem K.¹, Ševčíková J.¹, Tomášková H.², Horáková D.¹, Procházka V.³, Martínek A.^{4,5}, Shonová O.⁶, Janout V.¹, Kollárová H.¹

¹ Ústav preventivního lékařství, LF UP v Olomouci

² Ústav epidemiologie a ochrany veřejného zdraví, LF OU v Ostravě

³ II. interní klinika – gastro-enterologická a hepatologická LF UP a FN Olomouc

⁴ Interní klinika, FN Ostrava

⁵ Katedra interních oborů, LF OU v Ostravě

⁶ Gastroenterologické oddělení, Nemocnice České Budějovice, a.s.

Souhrn

Východiska: Karcinom pankreatu patří k závažným nádorovým onemocněním s nepříznivým vývojem. Vzhledem k odlišnostem ve výskytu tohoto nádorového onemocnění v jednotlivých regionech je zřejmé, že významnou úlohu v etiologii budou hrát faktory spojené s životním stylem. Cílem předkládané práce bylo vyhodnocení vlivu vybraných faktorů životního stylu ve vztahu ke karcinomu pankreatu. **Materiál a metody:** Do studie bylo zařazeno celkem 529 osob, z toho 309 s karcinomem pankreatu a 220 osob v kontrolním souboru. Případy byly vybírány v nemocnicích v jednotlivých centrech (Fakultní nemocnice Olomouc, Fakultní nemocnice Ostrava a Nemocnice České Budějovice, a.s.) z osob, u kterých byl nově diagnostikován karcinom pankreatu a které žily v příslušném regionu. Kontrolní skupina byla získána ve spolupráci s vybranými praktickými lékaři pro dospělé a jedná se o populační kontrolní skupinu. Informace byly získávány od zúčastněných osob přímo, formou rozhovoru s vyškoleným tazatelem a byly zaznamenávány do standardizovaného dotazníku. **Výsledky:** Analýzy při srovnání osob, které uvedly, že konzumují alkohol, s osobami, které alkohol nekonzumují, ukázaly statisticky významnou inverzní asociaci, a to i po adjustaci dalším sledovaným faktorům (OR = 0,57, 95% IS 0,36–0,89). Při hodnocení fyzické aktivity ve volném čase byla zjištěna statisticky významná inverzní asociace a snížení rizika o 35 % (hrubé OR = 0,65, 95% IS 0,45–0,93) a tato inverzní asociace se potvrdila i po přizpůsobení ostatním hodnoceným faktorům, i když výsledek je na hranici statistické významnosti (adjustované OR = 0,68, 95% IS 0,44–1,04). Pití kávy a čaje má pouze marginální vliv na vznik karcinomu pankreatu, i když u střední a vysoké konzumace černého čaje bylo nalezeno zvýšení rizika o 90, resp. 44 %. Kouření je považováno za kauzální rizikový faktor pro vznik karcinomu pankreatu, nicméně v předkládané studii nebyla nalezena pozitivní asociace. Studie nenalezla statisticky významný vztah ani u vztahu mezi nadávahou a obezitou. **Závěr:** Tělesná aktivita, dietní opatření, které povedou ke snížení hmotnosti, a výchova k nekuřáctví mohou mít významný primárně preventivní vliv u tohoto nádorového onemocnění.

Klíčová slova

nádory slinivky břišní – životní styl – rizikové faktory

Práce byla podpořena grantem IGA MZ ČR č. NR 9029-4/2006.

This study was supported by grant of Internal Grant Agency of the Czech Ministry of Health No. NR 9029-4/2006.

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

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

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

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



doc. MUDr. Helena Kollárová, Ph.D.
Ústav preventivního lékařství
LF UP v Olomouci
Hněvotínská 3
775 15 Olomouc
e-mail: helena.kollarova@upol.cz

Obdrženo/Submitted: 28. 2. 2013

Přijato/Accepted: 20. 3. 2013

Summary

Background: Pancreatic cancer is a serious cancer with unfavorable prognosis. Due to differences in the incidence of pancreatic cancer in different regions, it is clear that factors associated with lifestyle play an important role in the etiology. The aim of this study was to evaluate the impact of selected lifestyle factors in relation to pancreatic cancer. **Materials and Methods:** The study included a total of 529 subjects, including 309 cases and 220 control subjects. Cases of newly diagnosed patients with pancreatic cancer who lived in the region were selected in hospitals in three centers (University Hospital Olomouc, University Hospital Ostrava, Hospital Ceske Budejovice). The control group was obtained in cooperation with selected general practitioners for adults, and it is a population control group. **Results:** Analyses compared persons who reported consuming alcohol with those who do not consume alcohol. Results showed a statistically significant inverse association, even after adjustment for the other studied factors (OR = 0.57, 95% CI 0.36 to 0.89). When assessing leisure time physical activity, results showed statistically significant inverse association and 35% decrease in the risk (crude OR = 0.65, 95% CI 0.45 to 0.93), and this inverse association was confirmed after adjustment for other studied factors although the result is on the border of statistical significance (adjusted OR = 0.68, 95% CI 0.44 to 1.04). Drinking coffee and tea has only a marginal impact on the occurrence of pancreatic cancer, although the medium and high consumption of black tea was found increased risk by 90 or 44%, respectively. Smoking is considered a causal risk factor for pancreatic cancer, but in this study, a positive association was not found. The study found no statistically significant association between overweight and obesity. **Conclusion:** Physical activity, dietary measures that will lead to weight loss and education to non-smoking can have a significant impact on the primary prevention of cancer.

Key words

pancreatic neoplasms – life style – risk

Východiska

Karcinom pankreatu patří k závažným nádorovým onemocněním s nepříznivým vývojem. V roce 2008 bylo ve světě registrováno více než 270 000 nových případů a na toto onemocnění ve světě zemře více než 260 000 osob za rok, přičemž není významný rozdíl ve výskytu mezi muži a ženami (1,05 : 1) [1]. Mezi státy s vysokým výskytem i úmrtností patří i Česká republika. V roce 2010 byl v České republice absolutní počet nových případů bez ohledu na pohlaví 2 034 (1 074 mužů a 960 žen) a na toto onemocnění zemřelo v roce 2010 1 724 osob (896 mužů a 828 žen) [2]. Ani v České republice není ve výskytu mezi muži a ženami rozdíl. Při srovnání incidence v ČR s ostatními zeměmi světa v přepočtu na světový standard je Česká republika na 2. místě na světě za Arménií s hodnotou 9,7/100 000 a v mortalitě na 3. místě za Maďarskem a Izraelem s hodnotou 8,5/100 000 (světový standard) [2,3]. O závažnosti karcinomu pankreatu vypovídají i hodnoty o přežívání, které u tohoto onemocnění patří k nejkratším, a také stoupající trend, kdy od roku 1977 do současnosti došlo k dvojnásobnému nárůstu incidence [2]. Incidence karcinomu pankreatu má vzrůstající trend o 2,7 % ročně a také prevalence prudce stoupla, ročně o 5,2 % [4]. Medián přežívání u karcinomu pankreatu je

pouze okolo 3–6 měsíců [5]. Kolem 95 % pacientů umírá do jednoho roku, většinou během 4–8 měsíců od stanovení diagnózy, pětileté přežití je do 1 %. Pouze u malého počtu pacientů, kde je možné radikální chirurgické řešení, což je kolem 10–20 % případů, je pětileté přežívání od 3,4 % do 10 % s průměrnou hodnotou 17–20 měsíců [1,6,7,8]. Problém je i ve včasném zachytu tohoto závažného nádorového onemocnění, kdy se v 1. stadiu zachytí kolem 5 % onemocnění a převážná většina tohoto nádorového onemocnění (více než 50 %) se zachytí až ve 4. stadiu onemocnění [2].

Důvodem pozdní diagnostiky u převážné většiny karcinomů pankreatu jsou i většinou nespecifické první projevy onemocnění. Významným problémem u tohoto nádorového onemocnění, které souvisí s omezenými možnostmi prevence, je absence screeningového programu, který by umožnil včasný zachyt onemocnění, a také neúplná znalost etiologie. Vzhledem k odlišnostem ve výskytu tohoto nádorového onemocnění v jednotlivých regionech je zřejmé, že významnou úlohu v etiologii budou hrát faktory spojené s životním stylem. K rizikovým faktorům dávaným do souvislosti s karcinodem pankreatu patří jednak faktory ovlivnitelné, jako kouření, výživové faktory, zejména nadměrný energetický

přísuv a s tím související obezita, konzumace alkoholu, faktory pracovního prostředí (azbest, pesticidy aj.) a zdravotní stav, zejména chronická pankreatitida, cholelitiáza a diabetes mellitus, a jednak faktory neovlivnitelné, jako věk, pohlaví, hereditární faktory a urbanizace. Přičemž k faktorům s velmi silnou asociací patří kouření, které je zodpovědné za 20–25 % všech nádorů pankreatu [9], některé faktory pracovního prostředí, zejména práce s herbicidy, kdy se nalezené riziko pohybuje kolem 11 %, chronická pankreatitida, kdy se riziko pohybuje až kolem 24 %, a diabetes mellitus s relativním rizikem až kolem 6 % [10].

Cílem předkládané práce bylo vyhodnocení vlivu vybraných faktorů životního stylu ve vztahu ke karcinomu pankreatu. Faktory životního stylu mají obecně nejsilnější vztah k nádorovým onemocněním a ke karcinomu pankreatu také. Znalost etiologie umožní v rámci primární prevence ovlivnit incidenci tohoto závažného nádorového onemocnění.

Materiál a metody

Studie probíhala jako studie případů a kontrol v letech 2006–2009 v rámci projektu IGA (NR 9029–4/2006) ve třech centrech, a to v Olomouci, Ostravě a v Českých Budějovicích. Do studie bylo zařazeno celkem 529 osob, z toho 309 s karcinomem pankreatu a 220 osob

v kontrolním souboru. Zastoupení počtu osob s karcinomem pankreatu a kontrolního souboru v jednotlivých centrech ukazuje tab. 1.

Z celkového počtu osob bylo 303 mužů a 226 žen. Případy byly vybírány v nemocnicích v jednotlivých centrech (Fakultní nemocnice Olomouc, Fakultní nemocnice Ostrava a Nemocnice České Budějovice, a.s.) z osob, u kterých byl nově diagnostikován karcinom pankreatu a které žily v příslušném regionu. Kontrolní skupina byla získána ve spolupráci s vybranými praktickými lékaři pro dospělé a jedná se o populační kontrolní skupinu. Kontrolní skupina pocházela ze stejných regionů jako skupina případů, aby se předešlo možným zkreslujícím vlivům. Při analýze byl zohledněn věk, pohlaví a zdravotní stav. Vzhledem ke složitosti získávání populačních kontrol byl jejich počet celkově nižší (71 %) než osob s karcinomem pankreatu. Tento rozdíl byl významný zejména v Jihočeském kraji, kde se podařilo zajistit pouze 58 % osob do kontrolní skupiny ve srovnání s počtem případů (tab. 1). Informace byly získávány od zúčastněných osob přímo, formou rozhovoru s vyškoleným tazatelem a byly zaznamenávány do standardizovaného dotazníku. Dotazník obsahoval otázky vztahující se k životnímu stylu (antropometrické hodnoty pro výpočet BMI, konzumace alkoholu, kávy a čaje, kouření, pohybová aktivita), k výši vzdělání a otázky související se zdravotním stavem. Hodnoty pro výpočet BMI se zjišťovaly pro věk 20 a 40 let a dále dva roky před vznikem onemocnění, event. dva roky před pohovorem u kontrolní skupiny, a aktuální hodnoty BMI se zjišťovaly v době pohovoru. Pro vlastní analýzu byly použity hodnoty aktuálního BMI, kde byl zřejmý statisticky významný rozdíl. Rozdělení sledovaných charakteristik ukazuje tab. 2.

Studie byla schválena etickou komisí Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci a Fakultní nemocnice v Olomouci. Informovaný souhlas byl získán od všech zúčastněných osob před jejich zařazením do studie.

Vyhodnocení výsledků bylo provedeno multivariabilní analýzou jednak pomocí hrubého odds ratio (OR), jednak logistickou regresí pomocí adjustovaného

Tab. 1. Počty případů a kontrol podle jednotlivých center.

Centrum	Kontroly	Případy	Celkem
Olomouc	60	72	132
Ostrava	60	64	124
České Budějovice	100	173	273
Celkem	220	309	529

Tab. 2. Vývoj BMI v jednotlivých věkových obdobích ve studii s karcinomem pankreatu.

BMI (kg/m ²) období	Muži – aritmetický průměr			Ženy – aritmetický průměr		
	případy (n = 180)	kontroly (n = 123)	p-hodnota	případy (n = 129)	kontroly (n = 97)	p-hodnota
současné	24,68	27,89	0,000	25,91	27,25	0,048
před 2 roky	27,05	27,96	0,071	28,08	27,32	0,240
ve 20 letech	24,09	23,57	0,107	22,47	21,77	0,073
ve 40 letech	26,51	26,00	0,216	25,48	24,49	0,044

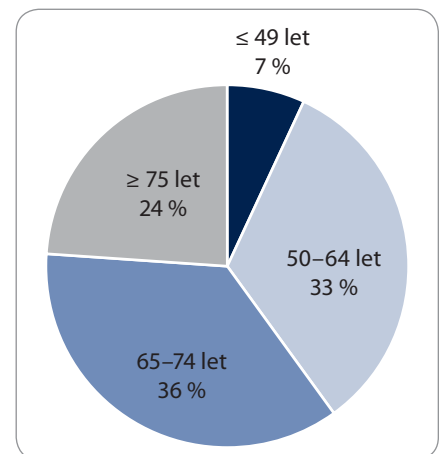
OR s 95% intervalem spolehlivosti (IS). Modely logistické regrese byly přizpůsobeny sledovaným faktorům vzhledem k možným zkreslujícím vlivům. Jako hladina významnosti byla zvolena hodnota $p < 0,05$.

Statistické hodnocení bylo provedeno pomocí programu STATA v. 10.

Výsledky

Průměrný věk případů a kontrol nevykazoval rozdíly, což bylo dáno metodikou výběru. Při testu věku podle pohlaví u případů byl zjištěn statisticky významný rozdíl a průměrný věk při vzniku onemocnění u žen byl statisticky významně vyšší. Zatímco u mužů byl průměrný věk 65,4 roku, u žen byl 68,9 roku ($p = 0,005$). Věkovou strukturu osob s karcinomem pankreatu ukazuje graf 1.

Poměr mezi muži a ženami byl 1,4 : 1, ale tento rozdíl nebyl statisticky významný. Hodnoty pro výpočet BMI byly získávány pro věk 20 a 40 let, dále 2 roky před vznikem onemocnění a aktuální hodnoty. Statisticky významný rozdíl byl zjištěn u žen ve 40 letech, kdy ženy v kontrolní skupině měly hodnoty BMI nižší než ve skupině s karcinomem pankreatu. Aktuální hodnoty pro BMI uka-



Graf 1. Věková struktura osob s karcinomem pankreatu.

zovaly statisticky významný rozdíl mezi muži, kdy muži s karcinomem pankreatu měli nižší hodnoty BMI než muži z kontrolní skupiny ($p < 0,001$) a také u žen byly aktuální hodnoty BMI u případů nižší než u kontrol ($p < 0,048$).

Z tab. 2 vyplývá, že hodnoty BMI byly u mužů i u žen s karcinomem pankreatu v průběhu sledovaného období vyšší než v kontrolní skupině, s výjimkou u mužů dva roky před diagnostikovaním onemocnění karcinomem pankreatu, kdy hodnota BMI byla nepatrně vyšší v kontrolní skupině, ale

Tab. 3. Vztah mezi faktory životního stylu a rizikem vzniku karcinomu pankreatu pomocí hrubého (model 1) i adjustovaného OR (model 2).

Rizikový faktor	Kategorie	Počet celkem	Karcinom pankreatu		Hrubé OR	95% IS	Adjustované OR	95% IS
			případy	kontroly				
věk	≤ 49	37	20	17	1*		1*	
	50–64,9	177	102	75	1,16	0,57–2,36	1,03	0,39–2,72
	65–74,9	182	111	71	1,33	0,65–2,71	1,11	0,41–2,95
	≥ 75	133	76	57	1,13	0,55–2,36	0,84	0,31–2,26
pohlaví	muž	303	180	123	1*		1*	
	žena	226	129	97	0,95	0,65–1,30	0,76	0,48–1,21
kouření	ne	241	137	104	1*		1*	
	ano	280	166	114	1,11	0,78–1,57	1,12	0,71–1,74
BMI	≥ 18,5 < < 25 kg/m ²	160	98	62	1*		1*	
	≥ 25 < < 30 kg/m ²	212	121	91	0,84	0,55–1,28	0,98	0,59–1,63
	≥ 30 kg/m ²	144	80	64	0,79	0,50–1,25	0,83	0,47–1,48
vzdělání	základní	96	65	31	1*		1*	
	vyučen	185	122	63	0,92	0,55–1,56	0,74	0,37–1,45
	středo- školské	163	81	82	0,47	0,28–0,80	0,42	0,21–0,82
	vysoko- školské	82	38	44	0,41	0,22–0,76	0,37	0,17–0,81
alkohol	ne	343	212	131	1*		1*	
	ano	177	89	88	0,63	0,43–0,90	0,57	0,36–0,89
fyzická aktivita ve volném čase	ne	279	173	106	1*		1*	
	ano	210	108	102	0,65	0,45–0,93	0,68	0,44–1,04
konzumace kávy ¹	nízká	93	53	40	1*		1*	
	střední	342	202	140	1,09	0,68–1,73	1,02	0,60–1,75
	vysoká	65	38	27	1,06	0,56–2,02	0,78	0,36–1,66
konzumace čaje ²	nízká	160	79	81	1*		1*	
	střední	248	161	87	1,90	1,27–2,85	1,79	1,14–2,81
	vysoká	36	21	15	1,44	0,69–2,98	1,38	0,59–3,19

1* základní kategorie

konzumace kávy, čaje^{1,2}: nízká = 0, méně než 1krát za týden; střední = 1krát za týden–2krát denně; vysoká = 3krát a vícekrát denně

tento rozdíl nebyl statisticky významný. Hodnoty aktuálního BMI ukazují na statisticky významné rozdíly u obou pohlaví mezi případy a kontrolní skupinou, kdy osoby s karcinomem pankreatu mají hodnoty BMI nižší, což pravděpodobně souvisí se sledovaným nádorovým onemocněním. Vztah mezi nadváhou a obezitou byl analyzován pomocí hrubého

i adjustovaného OR (OR = 0,84 a 0,79, resp. po adjustaci 0,98 a 0,83), nebyla ale nalezena žádná statisticky významná asociace (tab. 3).

Kouření je považováno za kauzální rizikový faktor pro vznik karcinomu pankreatu, nicméně v předkládané studii nebyla nalezena pozitivní asociace, kdy hrubé OR bylo 1,11 a po adjustaci

1,12, ale výsledky nebyly statisticky významné (tab. 3).

Při srovnání osob, které uvedly, že konzumují alkohol, s osobami, které alkohol nekonzumují, byla nalezena statisticky významná inverzní asociace, kdy nalezené OR bylo 0,63 (95% IS 0,43–0,90). Při vyhodnocení frekvence konzumace alkoholických nápojů bylo zjištěno, že

pouze devět osob (dvě kontroly a sedm případů) konzumovalo alkohol ve více dávkách, než je případně doporučená konzumace, tedy více než jednu dávku za den, kdy za jednu dávku je považována konzumace 20 g čistého alkoholu. Statisticky významná inverzní asociace byla nalezena i po adjustaci dalším sledovaným faktorům (OR = 0,57, 95% IS 0,36–0,89) (tab. 3).

Při analýze, zda vzdělání má vztah ke vzniku karcinomu pankreatu, byla zjištěna inverzní asociace u osob s vyšším vzděláním, kdy u osob se středoškolským vzděláním bylo zjištěno hrubé OR 0,47 (95% IS 0,28–0,80) a s vysokoškolským vzděláním 0,41 (95% IS 0,22–0,76) a vyšší vzdělání se ve srovnání se vzděláním základním ukázalo jako ochranný faktor a tento výsledek byl potvrzen i po přizpůsobení dalším sledovaným faktorům, kdy nalezené hodnoty byly 0,42, resp. 0,37.

Při hodnocení fyzické aktivity ve volném čase byla zjištěna statisticky významná inverzní asociace a snížení rizika o 35 % (hrubé OR = 0,65, 95% IS 0,45–0,93) a tento inverzní vztah se potvrdil i po přizpůsobení ostatním hodnoceným faktorům, i když výsledek je na hranici statistické významnosti (adjustované OR = 0,68, 95% IS 0,44–1,04). Současně bylo zjištěno, že osoby s karcinomem pankreatu ve volném čase méně sportují a tento rozdíl je statisticky významný ($p = 0,019$).

Pití kávy a čaje má pouze marginální vliv na vznik karcinomu pankreatu, i když u střední a vysoké konzumace černého čaje bylo nalezeno zvýšení rizika o 90, resp. 44 %. U středně vysoké konzumace čaje byl výsledek statisticky významný a tato statistická významnost se potvrdila i po přizpůsobení ostatním sledovaným faktorům. Výsledky shrnuje tab. 3.

Diskuze

Karcinom pankreatu patří k nejzávažnějším nádorovým onemocněním s nepříznivým trendem, vysokou úmrtností a krátkou dobou přežívání. Naprostou většinu nádorů představuje duktální adenokarcinom, který má nepříznivou prognózu a bývá často diagnostikován v pokročilém stadiu, kdy již není operabilní.

Karcinom pankreatu je onemocnění, které se nejčastěji vyskytuje ve věku 45–80 let, přičemž nejvyšší výskyt u mužů v České republice je ve věku 65–74 let a u žen 75–79 let [2]. Ve studovaném souboru byl nejvyšší výskyt bez ohledu na pohlaví ve věku 65–74 let. Ve studovaném souboru byl průměrný věk u mužů 65,4 a u žen 68,9 roku a tento rozdíl mezi pohlavím byl statisticky významný. Ačkoliv byl průměrný věk u mužů i u žen nižší, než je celorepublikově zjištěný nejvyšší výskyt karcinomu pankreatu, je zřejmý rozdíl ve věku při výskytu tohoto karcinomu u mužů a u žen, kdy ženy při stanovení diagnózy bývají starší než muži [2]. Výskyt karcinomu pankreatu byl v předkládané studii u mužů nepatrně vyšší než u žen a podle Olsona et al to může souviset i s kuřáckými zvyklostmi [10]. Obezita je považována za jeden z mála kauzálních rizikových faktorů, které jsou dávány do souvislosti s tímto nádorovým onemocněním, i když výsledky nejsou jednoznačné a mechanismus účinku není zcela jasný. Řada epidemiologických studií i metaanalýz potvrzuje, že nalezené riziko se většinou pohybuje v kategorii slabé až středně silné asociace od 1,1 do 2,8 [10–12]. K potvrzeným mechanismům účinku obezity patří zánětlivé a hormonální vlivy tukové tkáně, energetická dysbalance a zvýšená expozice karcinogenním látkám kvůli zvýšené spotřebě potravin a také snížená fyzická aktivita [11]. Obezita sama je spojena s celou řadou zdravotních důsledků, včetně kardiovaskulárních onemocnění, hypertenze i diabetu mellitu, proto by redukce obezity mohla ovlivnit i úmrtnost na karcinom pankreatu. Nicméně v předkládané studii se nepotvrdil pozitivní vztah mezi nadváhou a obezitou a vyšším rizikem vzniku karcinomu pankreatu. Nepotvrzení asociace může souviset s vysokou prevalencí nadváhy a obezity v celé populaci i ve sledovaném souboru, kde normální hodnoty BMI mělo 33 % případů a 29 % kontrol a v kategorii nadváhy a obezity bylo 67 % případů a 71 % kontrol. Přitom uvedené hodnoty BMI se vztahují na aktuální hodnoty. Hodnoty BMI ve 20 a 40 letech a dva roky před stanovením diagnózy neukazovaly žádné stati-

stický významné rozdíly, i když u obou skupin (případy i kontroly) docházelo od 20. roku věku postupně k vzestupu hodnot BMI z kategorie normální hodnoty BMI do kategorie nadváhy. Zvýšení hmotnosti od rané dospělosti do vyššího věku je spojováno s vyšším rizikem vzniku karcinomu pankreatu [10,13], a ačkoliv v předkládané studii byl tento nárůst také pozorován, nebyly zjištěny žádné rozdíly mezi skupinou případů a kontrol. Vztah mezi nadváhou a obezitou a vyšším rizikem vzniku karcinomu pankreatu se nepotvrdil při výpočtu hrubého ani adjustovaného OR. Také kouření patří k nejsilnějším rizikovým faktorům při vzniku karcinomu pankreatu. Výsledky metaanalýzy 82 studií ukazují až dvojnásobné zvýšení rizika pro kuřáky [10]. I přesto, že kontrolní skupina byla vybrána z běžné populace a prevalence kuřáctví u běžné populace bývá obecně nižší než u nemocničních kontrolních skupin, nebyla v předkládané studii nalezena pozitivní statisticky významná asociace. Paradoxem je, že více než polovina respondentů jak ve skupině s karcinomem pankreatu (54 %), tak v kontrolní skupině (52 %) patřila do kategorie kuřáků. Střední konzumace alkoholu neovlivňuje vyšší riziko vzniku karcinomu pankreatu. Provedené metaanalýzy zjišťují pozitivní asociaci až při vyšší konzumaci alkoholu, kdy při konzumaci více než 84 g čistého alkoholu za den bylo riziko vyšší až o 50 % [10,14]. V předkládaném souboru byla nalezena inverzní asociace a tento výsledek je v souladu s publikovanými údaji, protože pouze devět osob konzumovalo alkohol ve zvýšené dávce, než je 20 g čistého alkoholu za den.

Vzdělání a bydlení jsou považovány za faktory umožňující hodnocení socioekonomického postavení. Úroveň vzdělání významně ovlivňuje životní styl jednotlivců i celých rodin. Úroveň vzdělání se po ukončení studií nemění, a není tak ovlivněna případným zhoršením zdravotního stavu v dospělosti, umožňuje lepší pozici při hledání zaměstnání, ovlivňuje přístup k informacím a k jejich využití [15]. Výsledky studie ukazují protektivní účinek pro osoby se středoškolským a vysokoškolským vzděláním, kdy riziko bylo nižší o více než 50 % u osob

se středoškolským a o 59 % u osob s vysokoškolským vzděláním a po přizpůsobení se ochranný účinek ještě zvýšil.

Epidemiologické studie, které sledovaly vztah mezi pohybovou aktivitou a rizikem vzniku karcinomu pankreatu, našly většinou inverzní asociaci a riziko nižší o 12–37 % [16]. Fyzická aktivita má prokázaný příznivý účinek na metabolické procesy, neboť snižuje glykemii, zvyšuje utilizaci glukózy v organizmu, upravuje lipidové spektrum, příznivě ovlivňuje krevní tlak a snižuje podíl tělesného tuku v organizmu. Pravidelná pohybová aktivita je nejsilnějším preventivním faktorem vzniku obezity a diabetu u osob s porušenou glukózovou tolerancí. Také v předkládané studii se potvrdil ochranný vliv pohybové aktivity ve volném čase, kdy riziko bylo nižší až o 35 %, a tento protektivní účinek ještě potvrdilo zjištění, že osoby s karcinomem pankreatu méně sportovaly.

Konzumace kávy a čaje má většinou pouze marginální vliv na vznik nádorových onemocnění, i když některé studie ukazují i na inverzní vztah. Yu et al ve své metaanalýze poukazují na protektivní účinek konzumace kávy i u karcinomu pankreatu [17]. Káva obsahuje mimo jiné i silné antioxidační látky a inhibitory glukózo-6-fosfát translokázy, tím dochází ke zlepšení inzulinové rezistence a případnému ovlivnění karcinogeneze [18,19]. Výsledky předložené studie nenalezly žádný vztah s konzumací kávy a jsou konzistentní s publikovanými údaji. U konzumace čaje byla nalezena pozitivní asociace s konzumací čaje 1krát za týden až 2krát denně, kdy je třeba zvažovat i vliv jiných ovlivňujících faktorů, jako jsou kouření, přítomnost pesticidů, produkty plísní a zejména konzumace cukru [19]. Některé

studie upozorňují na možné inverzní asociace s konzumací zeleného čaje [20], ale Lin et al [21] nenalezli žádný vztah. Respondenti předkládané studie většinou konzumovali čaj černý, méně často pak ovocný a pouze zřídka čaj zelený.

Závěr

Karcinom pankreatu je onemocnění s omezenými možnostmi prevence, zejména sekundární, kdy není k dispozici efektivní screeningový program, který by umožnil včasný záchyt onemocnění. Rozdíly ve výskytu v jednotlivých regionech ukazují na existující souvislost s faktory životního stylu a právě znalost těchto faktorů a možnost jejich ovlivnění umožní snížit incidenci karcinomu pankreatu. I když se nepodařilo najít pozitivní vztah mezi předpokládanými nejsilnějšími rizikovými faktory životního stylu, ke kterým řadíme kouření a obezitu, což bylo pravděpodobně ovlivněno vysokou prevalencí těchto sledovaných charakteristik i v kontrolní skupině, je významným zjištěním nalezený inverzní vztah u vyššího vzdělání a zejména u pohybové aktivity ve volném čase. Tělesná aktivita, dietní opatření, které povedou ke snížení hmotnosti, a výchova k nekuřáctví mohou mít významný primární preventivní vliv u tohoto nádorového onemocnění.

Literatura

1. Ferlay J, Shin HR, Bray F et al (eds). GLOBOCAN 2008 v2.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 10 [monograph on the Internet]. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2010 [cited 2013 Feb 14]. Available from: <http://globocan.iarc.fr>.
2. Dušek L, Mužík J, Kubásek M et al (eds). Epidemiologie zhoubných nádorů v České republice [monograph on the Internet]. Brno: Masarykova univerzita; 2005 [cited 2013 Feb 14]. Dostupné z: <http://www.svod.cz>. Verze 7.0 [2007].

3. Bosetti C, Bertuccio P, Negri E et al. Pancreatic cancer: overview of descriptive epidemiology. *Mol Carcinog* 2012; 51(1): 3–13.
4. Dušek L. Czech cancer care in numbers 2008–2009. 1st vyd. Praha: Grada Publishing 2009.
5. Kollárová H, Janoutová G, Foretová L et al. Rizikové faktory karcinomu pankreatu. *Klin Onkol* 2006; 19(6): 287–289.
6. Hucl T. Karcinom pankreatu. *Gastroent Hepatol* 2012; 66(5): 350–356.
7. Han SS, Jang JY, Kim SW et al. Analysis of long-term survivors after surgical resection for pancreatic cancer. *Pancreas* 2006; 32(3): 271–275.
8. Leffler J. Karcinom pankreatu 2005 současný stav problematiky diagnostiky a léčby. *Inter Med pro Prax* 2005; 7(7–8): 360–363.
9. Raimondi S, Maisonneuve P, Lowenfels AB. Epidemiology of pancreatic cancer: an overview. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2009; 6(12): 699–708.
10. Olson SH, Kurtz RC. Epidemiology of pancreatic cancer and the role of family history. *J Surg Oncol* 2013; 107(1): 1–7.
11. Bracci PM. Obesity and pancreatic cancer: overview of epidemiologic evidence and biologic mechanisms. *Mol Carcinog* 2012; 51(1): 53–63.
12. Urayama KY, Holcatova I, Janout V et al. Body mass index and body size in early adulthood and risk of pancreatic cancer in a central European multicenter case-control study. *Int J Cancer* 2011; 129(12): 2875–2884.
13. Li D, Morris JS, Liu J et al. Body mass index and risk, age of onset, and survival in patients with pancreatic cancer. *JAMA* 2009; 301(24): 2553–2562.
14. Lucenteforte E, La Vecchia C, Silverman D et al. Alcohol consumption and pancreatic cancer: a pooled analysis in the International Pancreatic Cancer Case-Control Consortium (PanC4). *Ann Oncol* 2012; 23(2): 374–382.
15. Špíchalová A, Šlachetková H, Fejtková P et al. Vliv socioekonomických faktorů na zdraví v epidemiologických studiích. *Hygiena* 2007; 52(2): 51–58.
16. Bao Y, Michaud DS. Physical activity and pancreatic cancer risk: a systematic review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008; 17(10): 2671–2682.
17. Yu X, Bao Z, Zou J et al. Coffee consumption and risk of cancers: a meta-analysis of cohort studies. *BMC Cancer* 2011; 11: 96.
18. Inoue M, Tsugane S. Insulin resistance and cancer: epidemiological evidence. *Endocr Relat Cancer* 2012; 19(5): F1–F8.
19. Genkinger JM, Spiegelman D, Anderson KE et al. A pooled analysis of 14 cohort studies of anthropometric factors and pancreatic cancer risk. *Int J Cancer* 2011; 129(7): 1708–1717.
20. Zhang L, Pang E, Loo RR et al. Concomitant inhibition of HSP90, its mitochondrial localized homologue TRAP1 and HSP27 by green tea in pancreatic cancer HPAF-II cells. *Proteomics* 2011; 11(24): 4638–4647.
21. Lin Y, Kikuchi S, Tamakoshi A et al. Green tea consumption and the risk of pancreatic cancer in Japanese adults. *Pancreas* 2008; 37(1): 25–30.

Cytogenetické vyšetření lymfocytů periferní krve po stimulaci IL-2 a CpG oligonukleotidem DSP30 u pacientů s chronickou lymfocytární leukemií

Chromosome Banding Analysis of Peripheral Blood Lymphocytes Stimulated with IL-2 and CpG Oligonucleotide DSP30 in Patients with Chronic Lymphocytic Leukemia

Štěpanovská K.¹, Vaňková G.¹, Némethová V.¹, Tomášiková L.¹, Šmuhařová P.¹, Divišková E.¹, Vallová V.², Kuglík P.², Plevová K.¹, Oltová A.¹, Doubek M.^{1,3}, Pospíšilová Š.^{1,3}, Mayer J.^{1,3}

¹ Interní hematologická a onkologická klinika, Centrum molekulární biologie a genové terapie, LF MU a FN Brno

² Oddělení lékařské genetiky, laboratoř molekulární cytogenetiky, LF MU a FN Brno

³ CEITEC – Středoevropský technologický institut, MU, Brno

Souhrn

Východiska: Chromozomové změny patří u chronické lymfocytární leukemie (CLL) mezi významné prognostické faktory. Hlavní metodou využívanou k detekci těchto chromozomových změn je fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH), klasické cytogenetické vyšetření vyžadující buňky v metafázi je u CLL problematické kvůli nízké proliferační schopnosti maligních B-lymfocytů *in vitro*. V roce 2006 byla publikována metoda umožňující získat metafázni B-lymfocyty u CLL s využitím stimulace pomocí IL-2 a CpG oligonukleotidem DSP30. Cílem naší studie bylo ověřit účinnost stimulace a zhodnotit využitelnost této metody v rutinní praxi. **Soubor pacientů a metody:** Celkem u 369 pacientů s diagnózou CLL byla vyšetřována periferní krev klasickou cytogenetickou metodou a současně metodou FISH pro oblasti 13q14, 11q22–23, CEP12 a 17p13. **Výsledky:** Pro klasické cytogenetické vyšetření se stimulací podařilo získat metafázni buňky u 307 (83 %) z 369 pacientů. Chromozomové změny byly nalezeny u 243 (79 %) ze 307 hodnocených pacientů. Kromě aberací vyšetřovaných metodou FISH byly nalezeny další specifické změny v karyotypu např. del(6q), del(14q), t(14;18)(q32;q21), t(11;14)(q13;q32) a t(18;22)(q21;q11). U 103 (42 %) pacientů byly cytogenetickým vyšetřením nalezeny komplexní změny karyotypu, které metodou FISH detekovány nebyly. **Závěr:** Stimulace pomocí IL-2 a oligonukleotidu DSP30 účinně navozuje dělení maligních B-lymfocytů a umožňuje zachytit velké množství chromozomových změn u CLL, které by při vyšetřování metodou FISH pro základní čtyři aberace zůstaly skryty. Používání této metody v rutinní praxi se osvědčilo hlavně při identifikaci pacientů s komplexními změnami karyotypu.

Klíčová slova

cytogenetika – chronická lymfocytární leukemie – interleukin-2 – CpG-ODN DSP30 – fluorescenční *in situ* hybridizace – kultivace – chromozomální aberace

Práce byla podpořena grantovými projekty IGA MZ ČR NT11218-6/2010 a NT13493-4/2012, projekty MŠMT OPVK SuPRe-MMe CZ.1.07/2.3.00/20.0045 a VaVPI CEITEC CZ.1.05/1.1.00/02.0068, Českou leukemickou skupinou pro život „CELL“ a projektem (Ministerstva zdravotnictví) koncepčního rozvoje výzkumné organizace 65269705 (FN Brno).

This study was supported by grants of Internal Grant agency of the Czech Ministry of Health No. NT11218-6/2010 and NT13493-4/2012, projects of Czech Ministry of Education OPVK SuPRe-MMe CZ.1.07/2.3.00/20.0045 and by VaVPI CEITEC CZ.1.05/1.1.00/02.0068, Czech leucemic group for life „CELL“ and by project of the Czech Ministry of Health No. 65269705 (FN Brno).

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.



Mgr. Kristina Štěpanovská
Interní hematologická
a onkologická klinika
Centrum molekulární biologie
a genové terapie
LF MU a FN Brno
Černopolská 9
625 00 Brno
e-mail: kristina.stepanovska@fnbrno.cz

Obdrženo/Submitted: 11. 10. 2012

Přijato/Accepted: 10. 6. 2013

Summary

Background: Chromosomal aberrations play an important role as prognostic factors in chronic lymphocytic leukemia (CLL). These aberrations are mostly detected by fluorescent *in situ* hybridization (FISH), as chromosomal banding analysis has been scarce due to low proliferative activity of malignant B-lymphocytes *in vitro*. In 2006, a new method using stimulation with IL-2 and CpG oligonucleotide DSP30 for metaphase generation in CLL was published [1]. The objective of our study was to verify the efficacy of stimulation and to evaluate if the method is suitable for routine diagnostics. **Patients and Methods:** In total, peripheral blood samples of 369 CLL patients were analyzed in parallel by chromosomal banding analysis and by FISH probes for 13q14, 11q22–23, CEP12 and 17p13. **Results:** Out of 369 patients, 307 (83%) were successfully stimulated for metaphase generation. Chromosomal aberrations were detected in 243 (79%) out of 307 patients evaluated by chromosomal banding analysis. Other aberrations that are not included into standard FISH panel were detected in patients' karyotypes, e.g. del(6q), del(14q), t(14;18)(q32;q21), t(11;14)(q13;q32) and t(18;22)(q21;q11). One hundred and three (42%) patients showed complex aberrant karyotype not detected by FISH analysis. **Conclusion:** Stimulation with IL-2 and oligonucleotide DSP30 is an efficient method how to induce proliferation of malignant B-lymphocytes and allows detection of a substantial number of chromosomal aberrations in addition to those detected by standard FISH panel. Using this method in routine diagnostics is helpful particularly in identification of patients with complex aberrant karyotype.

Key words

cytogenetics – chronic lymphocytic leukemia – interleukin-2 – CpG-ODN DSP30 – fluorescent *in situ* hybridization – cultivation – chromosome aberration

Východiska

Chronická lymfocytární leukemie (chronic lymphocytic leukemia – CLL) je nejčastější typ leukemie u dospělých v Evropě a Severní Americe [2]. Tvůří 25–30 % všech leukemií a vyskytuje se zejména u starší populace (medián věku pacienta při stanovení diagnózy je 65 let). Jedná se o onemocnění s variabilním klinickým průběhem i dobou přežití pacientů, proto je při posuzování vývoje nemoci a rozhodování, zda nasadit léčbu, nutné řídit se spolehlivými prognostickými faktory [3]. V současné době se k těmto prognostickým faktorům řadí také chromozomové změny v genomu B-lymfocyty, které je možné identifikovat pomocí cytogenetických a molekulárně cytogenetických metod.

Standardně se k detekci chromozomových změn u CLL používá metoda fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH), která poskytuje výhodu v tom, že ji lze provádět na buňkách v interfázi. Rutinně jsou touto metodou vyšetřovány lokusy pro čtyři nejčastější chromozomové změny u CLL: del(13q14), del(11q22–23), trizomie 12 a del(17p13), z nichž zejména nález del(17p13), která postihuje gen *TP53*, je spojen s velmi špatnou prognózou [4]. Klasická cytogenetická metoda vyžadující kultivaci kostní dřeně pro získání buněk v metafázi byla v minulých letech využívána jen omezeně, z důvodu nízké proliferační schopnosti maligních B-lymfocytů *in vitro*, dokonce i v přítomnosti různých mitogenů [5]. Navíc v pří-

padech, kdy se podařilo získat buňky v metafázi a sestavit karyotyp buňky, byla kvalita chromozomů velmi špatná nebo se podařilo vykultivovat pouze B-lymfocyty bez chromozomových změn. Překonat tento problém se podařilo až v roce 2006, kdy Dicker et al publikovali studii zabývající se kultivací B-lymfocytů periferní krve v médiu s CpG oligonukleotidem DSP30 a interleukinem 2 [1,6]. Kultivace buněk s těmito stimulanty umožnila získat metafázní buňky ke zhodnocení až v 99 % případů a chromozomové změny byly nalezeny u více než 80 % z nich. Cílem naší studie bylo zavést tuto metodu do naší laboratoře a zhodnotit její využitelnost a přínos pro rutinní praxi.

Soubor pacientů a metody

Pacienti

Do studie bylo zařazeno celkem 369 pacientů s diagnózou CLL, jejichž vzorky byly analyzovány v naší laboratoři v období listopad 2009 až červenec 2012. Soubor pacientů byl tvořen 236 muži a 133 ženami, medián jejich věku byl 65 let (rozmezí 30–86 let). U všech pacientů byl získán písemný informovaný souhlas. U 65 pacientů byly získány 2–4 vzorky periferní krve v rámci kontrolních vyšetření v průběhu času, u zbylých pacientů jsme měli 1 vzorek (1 odběr).

Příprava preparátů pro cytogenetické vyšetření a FISH

Pacientům byla odebrána periferní krev do zkumavek s heparinem. Periferní

krev byla následně kultivována v kultivačním médiu RPMI-1640 (Sigma) s přidavkem IL-2 (200 U/ml, Peprotech) a DSP30 (2 μmol/l, TIB MolBio). Množství krve přenesené do kultivačního média (0,2–1,5 ml) bylo určeno počtem leukocytů ve vzorku, který byl stanoven z posledního krevního obrazu pacienta před odběrem periferní krve pro cytogenetické vyšetření. Kultivace probíhala 72 hod při 37 °C v termostatu s 5% CO₂. Kolchicin byl přidán 5–6 hod před zpracováním. Zpracování vzorku a barvení chromozomů bylo následně prováděno podle standardního protokolu [7]. Nalezené metafázní buňky byly hodnoceny pomocí softwaru LUCIA KARYO (Laboratory Imaging) a chromozomové změny byly zapsány podle pravidel ISCN 2009 (International system for human cytogenetic nomenclature) [8]. Za úspěšnou kultivaci byly považovány případy, kdy se podařilo získat nejméně pět metafázních buněk.

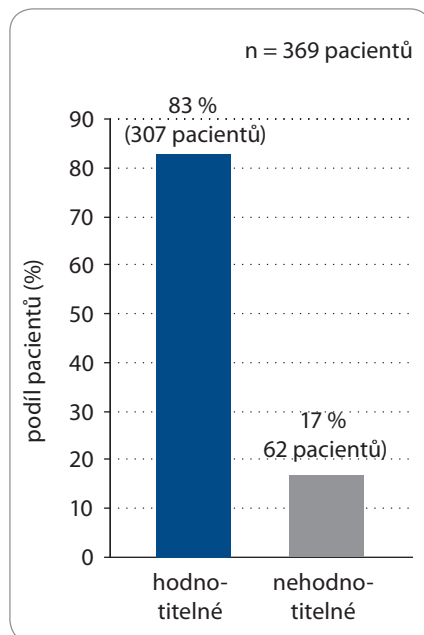
Preparáty pro metodu FISH byly připraveny ze stejné buněčné suspenze jako pro cytogenetické vyšetření. Metoda FISH byla prováděna podle standardního protokolu [9]. U všech pacientů byly použity sondy LSI p53/LSI ATM a LSI D13S319/LSI 13q34/CEP12 Multi-Color Probe Sets (Abott Molecular-Vysis) nebo sondy XL ATM/p53 a XL DLEU/LAMP/12cen (MetaSystems). Na základě cytogenetického vyšetření byly došetřovány některé nálezy: del(6q) byla ověřována sondou ON 6q21/MYC (8q24)

(Kreatech), del(14q) byla ověřována sondou XL IGH plus pro oblast 14q32 (MetaSystems), t(14;18)(q32;q21) byla ověřována sondou LSI IGH/BCL2 Dual Color Dual Vision Translocation Probe (Abbott Molecular-Vysis) nebo sondou XL IGH/BCL2 (MetaSystems). Translokace t(11;14)(q13;q32) byla ověřována sondou LSI IGH/CCND1 Dual Color Dual Vision Translocation Probe (Abbott Molecular-Vysis) a t(18;22)(q21;q11) byla ověřována sondou LSI MALT1 (18q21) Dual Color BreakApart Rearrangement Probe (Abbott Molecular-Vysis). Nalezené změny byly zapsány podle pravidel ISCN 2009 [8].

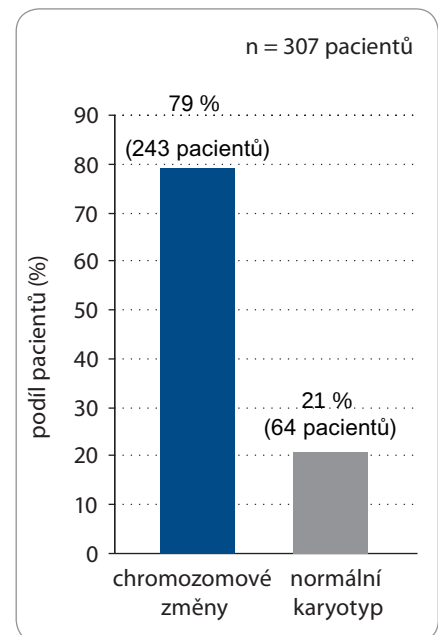
Výsledky

V naší laboratoři jsme vyšetřili pomocí klasického cytogenetického vyšetření (G-pruhování) s využitím stimulace oligonukleotidem DSP30 a IL-2 a pomocí metody FISH vzorky periferní krve celkem od 369 pacientů s CLL. U 304 pacientů jsme vyšetřovali periferní krev pouze z jednoho odběru, u 65 pacientů jsme měli k dispozici další odběry z následujících kontrolních vyšetření v průběhu času. U 16 z nich se nepodařilo podruhé získat hodnotitelné preparáty, u zbylých 49 pacientů jsme pak měli možnost ověřit, zda se nálezy z jednotlivých odběrů shodují, a sledovat případné další změny v karyotypu. U 37 pacientů byly v následujících odběrech nalezeny stejné aberace, u 11 pacientů byly kromě dříve nalezených aberací přítomny další změny, u jednoho pacienta po léčbě byl v následujícím odběru nalezen normální karyotyp. Metodou FISH byly u všech pacientů vyšetřovány čtyři lokusy (tzv. CLL čtyřpanel): 13q14, 11q23, cep12 a 17p13. Úspěšně se podařilo zhodnotit všechny čtyři lokusy u 362 pacientů (98 %) z 369, u tří pacientů byl celý čtyřpanel nehodnotitelný, u dvou pacientů byly nehodnotitelné lokusy pro 13q14 a 11q23 a u dvou pacientů pouze lokus pro 13q14.

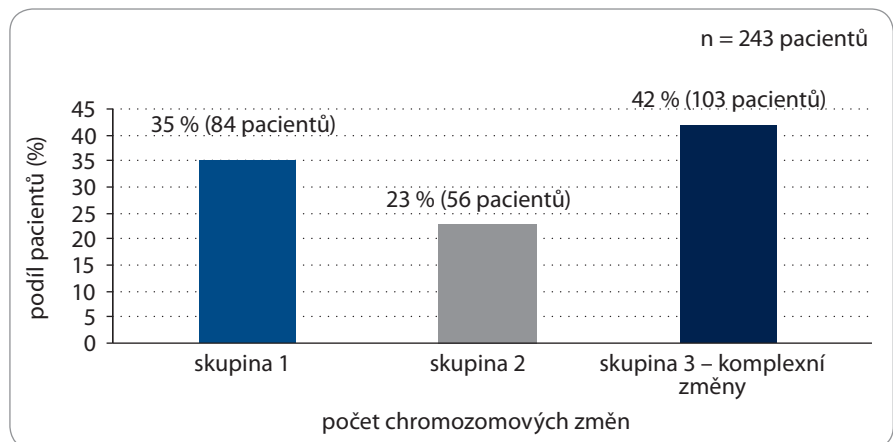
Kultivací krve se stimulanty se podařilo získat metafázní buňky ke zhodnocení karyotypu u 298 pacientů (81 %) z 369, u zbylých 71 pacientů (19 %) byly preparáty nehodnotitelné nebo se nepodařilo získat dostatečný počet metafázních buněk. Ovšem u devíti pacientů, jejichž vzorky krve byly při prvním vy-



Graf 1. Grafické znázornění podílu pacientů, u nichž byly pomocí klasické cytogenetické metody získány hodnotitelné preparáty.



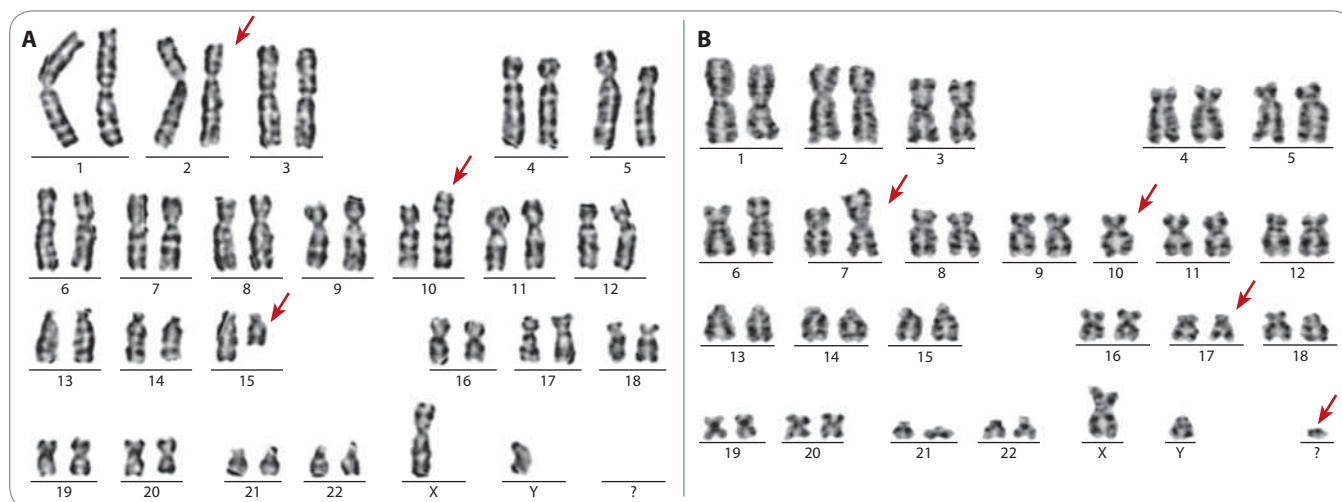
Graf 2. Grafické znázornění podílu pacientů s hodnotitelnými preparáty, u nichž byly nalezeny chromozomové změny.



Graf 3. Počet chromozomových změn nalezených u pacientů s CLL klasickou cytogenetickou metodou. Skupina 1 – jeden chromozomový zlom nebo jedna numerická změna; skupina 2 – strukturní a/nebo numerické změny zahrnující dva chromozomy; skupina 3 – komplexní změny karyotypu.

šetření nehodnotitelné, jsme z dalšího odběru získali metafázní buňky, takže celková kultivační úspěšnost v celém souboru pacientů byla 83 % (307 pacientů) (graf 1). Nejnižší počet metafázních buněk, při němž jsme vzorek považovali za hodnotitelný, byl stanoven na pět. Pouze u 16 % pacientů se podařilo získat méně než deset metafázních buněk, naopak u 30 % pacientů jsme zhodnotili 20 a více metafázních buněk.

Z 307 pacientů s hodnotitelnými preparáty byly pomocí klasické cytogenetické metody nalezeny chromozomové změny u 243 (79 %), 64 pacientů (21 %) mělo normální karyotyp (graf 2). Pacienty jsme rozdělili do tří skupin podle počtu chromozomových změn v karyotypu (*skupina 1*: jeden chromozomový zlom nebo jedna numerická změna; *skupina 2*: strukturní a/nebo numerické změny zahrnující dva chromozomy; *skupina 3*: komplexní změny ka-



Obr. 1. Ukázka karyotypu dvou pacientů s komplexními změnami. Červenými šipkami jsou označeny aberantní chromozomy.

Tab. 1. Charakteristika pacientů s komplexními změnami karyotypu detekovanými klasickým cytogenetickým vyšetřením (n = 103).

Rai stadium*	Počet pacientů
RAI 0	17
RAI I	16
RAI II	10
RAI III	20
RAI IV	24
Vyšetření provedeno	
v době stanovení diagnózy	22
v průběhu nemoci po léčbě	55
v průběhu nemoci bez léčby	26

* u 16 pacientů nebyly v době odběru materiálu pro vyšetření k dispozici údaje o Rai stadiu.

ryotypu). Výsledky ukázaly, že 42 % pacientů (103) mělo komplexní změny karyotypu. Podrobněji jsou počty nalezených chromozomových změn popsány v grafu 3.

Nález při cytogenetickém vyšetření byly následně srovnávány s nálezem metodou FISH. Bylo zjištěno, že z 307 pacientů byly ve 149 případech (49 %) cytogenetickým vyšetřením nalezeny další chromozomové změny kromě aberací vyšetřovaných ve čtyřpanelu. U 158 pa-

cientů (51 %) se výsledky obou metod shodovaly, přičemž u 40 z nich byly navíc metodou FISH detekovány změny, které cytogenetické vyšetření neodhalilo. Jednalo se zejména o monoalelickou nebo bialelickou delecii v oblasti 13q14, která je vzhledem k rozlišovací schopnosti cytogenetického vyšetření obtížně detekovatelná, případně byla aberace přítomna pouze v malém procentu interfázních jader.

Do skupiny 149 pacientů, u kterých byly cytogenetickým vyšetřením nalezeny další chromozomové změny, patřilo všech 103 pacientů s komplexními změnami karyotypu. Vzhledem k tomu, že všichni pacienti byli vyšetřováni pouze na CLL čtyřpanel, byla metoda FISH úspěšná v odhalení komplexních změn pouze u čtyř pacientů. Navíc u 14 pacientů s komplexními změnami byla metoda FISH negativní pro celý čtyřpanel. Na obr. 1 jsou ukázky karyotypu vybraných pacientů s komplexními změnami karyotypu.

Podrobnější informace o pacientech s komplexními změnami karyotypu jsou uvedeny v tab. 1. U těchto pacientů jsme nezjistili žádnou závislost na Rai stadiu, ve kterém se v době odběru materiálu pro cytogenetické vyšetření nacházeli. Jednalo se však o heterogenní skupinu pacientů, protože pouze u části pacientů bylo cytogenetické vyšetření provedeno při stanovení diagnózy. Zbývající část pacientů byla vyšetřována již v průběhu nemoci, zatím

bez léčby, nebo již po léčbě. Podobně nebyly nalezeny žádné chromozomové změny, které by byly u pacientů s komplexními změnami častější než u celého souboru pacientů, kromě del(17p13) zahrnující gen *TP53*. Nejčastější změnou byla del(13q14) u 40 pacientů z celkových 103 pacientů, del(11q22–23) u 28 pacientů. Del(17p) byla nalezena u 24 pacientů.

Dále jsme analyzovali, jaké chromozomové změny se v celém našem souboru pacientů vyskytovaly nejčastěji (tab. 2). V případě početních změn jsme nejčastěji nacházeli trizomii 12, a to u 34 z 307 pacientů (11 %). U dvou pacientů jsme dále našli trizomii 8, u dvou pacientů trizomii 18, u šesti pacientů nulizomii Y a u tří pacientů monosomie 22. Nejčastější strukturní změnou byla del(13q14), kterou jsme detekovali u 129 pacientů (42 %). Druhou nejčastější strukturní změnou byla del(11q22–23) nalezená u 68 pacientů (22 %). U 34 pacientů (11 %) jsme pak našli del(17p13) nebo ztrátu chromozomu 17; u 27 z nich se jednalo o klasickou del(17p13), u tří pacientů došlo ke ztrátě p ramena v důsledku vzniku i(17q), u tří pacientů došlo ke ztrátě p ramena v důsledku translokace s chromozomy 13, 15 nebo 18.

Kromě čtyř nejčastějších aberací, které jsou u CLL známy a standardně se vyšetřují metodou FISH ve čtyřpanelu, jsme našli i další změny, např. u 22 pacientů (7 %) byla přítomna del(6q) a u šesti pa-

Tab. 2. Nejčastější chromozomové změny nalezené klasickou cytogenetickou metodou (n = 307).

Typ chrom. změny	Samo- statně	Počet pacientů						celkem	součást KZK
		del(13q14)	del(11q22–23)	del(17p13)	trisomie 12	panel + jiné změny	jiné změny		
del(13q14)	49	0	23	1	2	27	27	129 (42 %)	40
del(11q23)	9	23	0	1	1	18	16	68 (22 %)	28
del(17p13)	3	1	1	0	1	12	16	34 (11 %)	24
trisomie 12	17	2	1	1	0	3	10	34 (11 %)	6
del(6q)	8	0	1	1	0	9	3	22 (7 %)	10
nulisomie Y	1	0	0	0	0	3	2	6 (2 %)	4
del(14q)	0	0	0	0	3	1	2	6 (2 %)	2
t(14;18)(q32;q21)	0	3	0	0	0	1	1	5 (2 %)	1
t(11;14)(q13;q32)	1	1	0	0	0	1	1	4 (1 %)	2
monosomie 22	0	0	0	0	0	2	1	3 (1 %)	2
t(18;22)(q21;q11)	1	0	0	0	1	1	0	3 (1 %)	2
trisomie 8	0	0	0	0	0	2	0	2 (1 %)	2
trisomie 18	0	0	0	0	0	1	1	2 (1 %)	2

KZK – komplexní změny karyotypu, panel – změny zahrnující del(13q14), del(11q22–23), trisomii 12, del(17p13), případně jejich kombinace

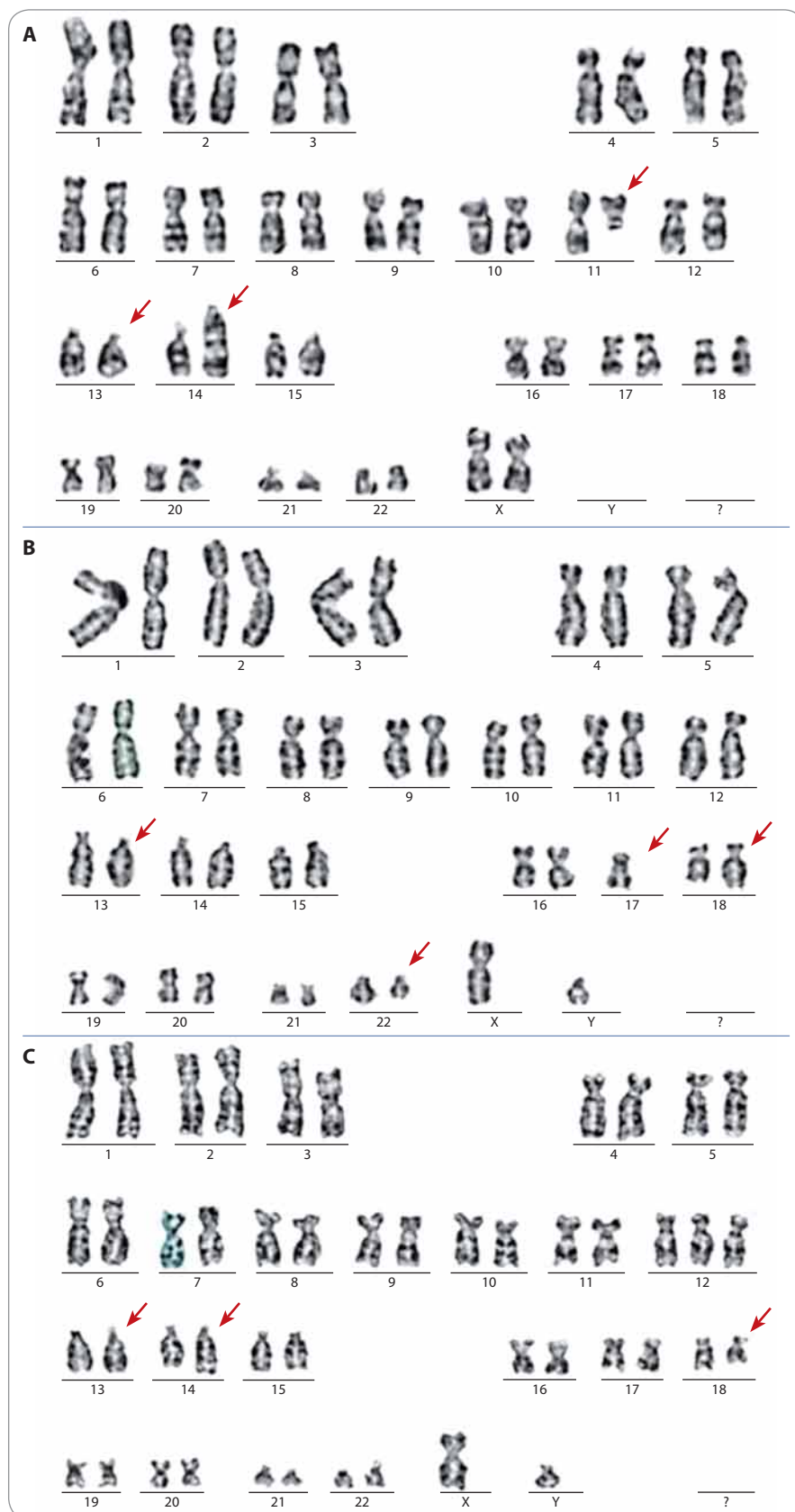
cientů (2 %) del(14q). Del(6q) byla ověřována metodou FISH použitím sondy pro oblast 6q21. U osmi pacientů to byla jediná změna v karyotypu, u zbylých 14 pacientů byly v karyotypu přítomny další chromozomové změny (u 10 z nich se jednalo o komplexní změny karyotypu). Del(14q) byla ověřována sondou pro oblast 14q32. U všech šesti pacientů byla přítomna spolu s dalšími změnami, z toho ve třech případech v klonu s trizomií 12.

Dále jsme u pacientů v našem souboru odhalili tři typy translokací typických pro lymfomy (obr. 2). U pěti pacientů to byla t(14;18)(q32;q21), která se u čtyř z těchto pacientů vyskytovala v klonu s del(13q14). U čtyř pacientů jsme našli t(11;14)(q13;q32), která byla u dvou pacientů opět v klonu s del(13q14). U tří pacientů byla přítomna t(18;22)(q21;q11), z toho dvakrát s trizomií 12. U žádného z těchto pacientů s translokacemi typickými pro lymfomy nedošlo na základě nalezené translokace k přehodnocení diagnózy, skutečně se jednalo o CLL. Kromě těchto translokací jsme u pacientů našli i další typy translokací, které se však vyskytovaly pouze u jednoho nebo dvou pacientů.

Diskuze

Chromozomové změny, které jsou pravidelně nacházeny u pacientů s CLL, patří mezi prognostické faktory napomáhající odhadnout, jak se bude nemoc u konkrétního pacienta dále vyvíjet [3]. Hlavní metodou pro vyšetření chromozomových změn u těchto pacientů je fluorescenční *in situ* hybridizace, která je dostatečně citlivá a má velkou výhodu v tom, že ji lze provádět i na interfázních buňkách. Právě nízká schopnost dělení maligních B-lymfocytů *in vitro* neumožňovala samostatně používat klasickou cytogenetickou metodu jako rutinní metodu pro vyšetřování pacientů. Často se nedařilo získat hodnotitelné preparáty a pokud ano, chromozomové změny byly zaznamenávány pouze ve 40–50 % případů, protože pro sestavení karyotypu byly většinou získány normální lymfocyty v metafázi místo těch maligních, které se velmi špatně dělají [5]. I přes tyto limitace je ale klasické cytogenetické vyšetření velmi přínosné v tom, že poskytuje možnost zhodnotit celou chromozomovou výstavu B-lymfocytu, což metodou FISH nelze.

K navození dělení B-lymfocytů byla v minulosti použita řada mitogenů, ale žádný z nich nepřinesl uspokojivé výsledky. K významnému posunu došlo až ve studii Dickera et al z roku 2006 o využití kombinace interleukinu 2 a oligonukleotidu DSP30 jako stimulantů při kultivaci periferní krve pacientů s CLL [1]. Této skupině se podařilo získat hodnotitelné preparáty u 95 % pacientů, z nichž 81 % mělo chromozomové změny. Stejná skupina o rok později publikovala rozsáhlou studii na 506 pacientech s CLL, kde stimulací lymfocytů IL-2 a DSP30 dosáhli dokonce ještě lepších výsledků, hodnotitelné preparáty získali v 98,8 % případů, z nichž 83 % vykazovalo chromozomové změny [6]. Jejich výsledky však doposud nebyly ověřeny na větším souboru pacientů, jediná studie, ve které byl přesně zopakován navržený postup, zahrnovala pouze 24 pacientů s CLL [10]. Aby bylo možné zhodnotit, jestli je metoda navržená Dickerem et al [1] přínosná a použitelná pro rutinní vyšetření, provedli jsme v naší laboratoři cytogenetické vyšetření periferní krve pomocí stimulace IL-2 a DSP30 podle navrženého postupu celkově u 369 pacientů s CLL.



Obr. 2. Translokace nalezené při cytogenetickém vyšetření.

Obr. 2 A. 46,XX,del(13q14),t(11;14)(q13;q32), Obr. 2 B. 45,XY,-17,t(18;22)(q21;q11),
Obr. 2 C. 47,XY,+12,del(13q14),t(14;18)(q32;q21).

Kultivací periferní krve pacientů s CLL v kultivačním médiu se stimulanty se podařilo získat hodnotitelné preparáty u 83 % pacientů ze souboru. Podíl nehodnotitelných případů byl tedy větší než ve svých studiích uváděli Dicker et al [1] a Haferlach et al [6] (17 % vs 5 %, resp. 1 %), ačkoliv množství přidávaných stimulantů byla stejná. Stejně tak dosáhla nižší úspěšnosti skupina, která tímto postupem vyšetřila 24 pacientů s CLL [10]. Hodnotitelné preparáty byly získány pouze v 75 % případů, je ale třeba vzít do úvahy, že u tak malého počtu pacientů nelze objektivně zhodnotit úspěšnost metody. Srovnatelnou úspěšnost jako v našem případě vzhledem k zisku hodnotitelných preparátů zaznamenaly dvě skupiny, které také testovaly vhodnost IL-2 a DSP30 jako stimulantů pro CLL, ale kultivaci prováděly s odlišným množstvím IL-2. Struski et al [11] úspěšně získali mitózy v 82 % případů z celkových 80, Put et al [12] v 83 % případů z 217.

Chromozomové změny jsme našli u 79 % hodnotitelných pacientů. Nález chromozomových změn u tak vysokého počtu pacientů je v souladu s výsledky Dickera et al [1] a Haferlacha et al [6], kteří zaznamenali abnormality konkrétně v 81 % a 83 % případů. Použití žádného jiného stimulantu dělení lymfocytů dosud neumožnilo odhalit chromozomové změny u tak vysokého počtu pacientů, srovnatelné výsledky přineslo pouze použití CD40L, kdy byly abnormality objeveny u 89 % pacientů [13]. Z důvodu technicky náročného postupu ale CD40L nelze rutinně využívat ke stimulaci buněk, na rozdíl od kultivace s IL-2 a DSP30, která kromě samotných stimulantů vyžaduje pouze média a chemikálie standardně používané ke kultivaci a zpracování vzorků.

Kvůli vyloučení možnosti, že samotná kultivace s IL-2 a DSP30 vytváří v lymfocytech chromozomové změny, provedli Dicker et al kontrolní vyšetření na pěti zdravých osobách. Ani u jedné z nich se po kultivaci nenašly chromozomové změny. Nedávno se otázkou vzniku chromozomových změn při kultivaci vzorku s CpG oligonukleotidy zabývalo CLL Research Consortium (CRC) [14]. Ve své studii nechali vyšetřit vzorky od 12 pacientů s CLL v pěti různých laboratořích,

ve čtyřech z těchto laboratoří byl použit ke stimulaci přímo CpG oligonukleotid DSP30 v kombinaci s IL-2 a IL-15. Z výsledků vyplývá, že kultivační podmínky samy o sobě nevyvolávají chromozomové změny, protože u všech 12 pacientů se klonální nálezy z pěti různých laboratoří shodovaly a je velmi nepravděpodobné, že by se jednalo o stejných náhodných změn vzniklých na pěti různých pracovištích.

Nejčastější klonální chromozomové změny, které jsme našli u pacientů v našem souboru, byly delecce standardně vyšetřované metodou FISH jako součást tzv. CLL čtyřpanelu. Převažovala $\text{del}(13q14)$, která byla nalezena u 42 % hodnotitelných pacientů. Druhou nejčastější delecí byla $\text{del}(11q22-23)$ zaznamenaná u 22 % hodnotitelných pacientů. Třetí delecce vyšetřovaná ve čtyřpanelu, $\text{del}(17p13)$, která je považovaná za výrazně negativní prognostický faktor, byla nalezena u 11 % pacientů. Nejčastější početní změnou nalezenou v našem souboru pacientů byla trizomie 12, zaznamenaná u 11 % pacientů.

Další aberací, kterou se podařilo zachytit v našem souboru pacientů, byla $\text{del}(6q)$, která se vyskytovala u 7 % pacientů. $\text{Del}(6q)$ není zahrnutá do čtyřpanelu pro CLL, takže se u pacientů standardně nevyšetřuje a ani její prognostický význam není tak dobře prozkoumán jako např. u $\text{del}(13q14)$ nebo $\text{del}(17p13)$. Nicméně se u pacientů s CLL objevuje pravidelně, její výskyt při detekci metodou FISH se v literatuře odhaduje na 7 % [15].

Další delecí, která se v našem souboru vyskytovala opakovaně, byla $\text{del}(14q)$ u 2 % pacientů, což se shoduje s údaji od Haferlacha et al, kteří našli tuto delecí ve 3 % případů. $\text{Del}(14q)$ nebyla u těchto pacientů ani v jednom případě jedinou změnou v karyotypu B-lymfocyty, v polovině případů byla v klonu s trizomií 12. Na $\text{del}(14q)$ se mnoho studií nezaměřuje a prognostický význam pro pacienty s CLL je velmi málo prozkoumán. V literatuře bylo zaznamenáno přibližně 60 až 70 případů CLL s $\text{del}(14q)$, ale většinou byl pouze zmíněn nálezy této změny v karyotypu lymfocyty a bližší informace o vývoji nemoci a délce doby přežití pacienta poskytnuty nebyly [16]. Je

zmíněno, že se objevovala buď samostatně, nebo i s jinými změnami, často s trizomií 12, a byla popsána i jako součást komplexních změn karyotypu [17]. Delecce byly ve většině případů terminální, stejně jako u všech šesti pacientů z našeho souboru. V literatuře jsou ale popisovány také intersticiální delecce, nejčastěji v oblasti 14q24–q32. Kromě CLL byly delecce na chromozomu 14 nalezeny i u dalších B buněčných malignit, např. difuzního velkobuněčného lymfomu nebo akutní lymfoblastické leukemie.

Zajímavým nálezem byly reciproké translokace typické pro některé typy lymfomů. Jednalo se konkrétně o $t(11;14)(q13;q32)$, $t(18;22)(q21;q11)$ a $t(14;18)(q32;q21)$. Tyto translokace byly ověřovány metodou FISH, takže díky znalosti sekvence použitých sond je možné určit, že zlomy na chromozomech nastaly v oblastech 14q32, 18q21, 11q13 a 22q11, kde jsou lokalizovány významné geny. V oblasti 14q32 leží lokus pro gen *IgH*, v oblasti 18q21 potom gen *Bcl-2*, významný člen rodiny antiapoptotických genů. V oblasti 11q13 se nachází gen *Bcl-1*, který kóduje cyklin D, a v oblasti 22q11 gen *IgL*. Translokace zahrnující imunoglobulinové geny se celkově u B buněčných malignit vyskytují poměrně často, názory na výskyt u CLL se však liší [18,19].

Translokace $t(14;18)(q32;q21)$ je charakteristická pro folikulární lymfom, kde bývá přítomna u 85 % případů [20]. Kromě folikulárního lymfomu byla nalezena také u 15–20 % případů difuzního velkobuněčného lymfomu. Případů, kdy byla zaznamenána u pacientů s CLL, je v literatuře popsáno přibližně 20, Haferlach et al [6] ve své studii uvádějí sedm případů. Tato translokace se objevuje jako jediná abnormalita v karyotypu lymfocyty nebo spolu s dalšími abnormalitami, např. s trizomií 12. Prognostický význam $t(14;18)(q32;q21)$ u CLL není dobře prozkoumán, názory na spojitost s průběhem nemoci se liší [18,19].

Translokace $t(11;14)(q13;q32)$ se objevuje zejména u lymfomů z pláštěvých buněk (65 % případů), ale nalezena byla také u B prolymfocytární leukemie, plazmacelulární leukemie, splenického lymfomu s vilózními lymfocyty a také

u CLL [16]. Dvě větší studie o $t(11;14)(q13;q32)$ u pacientů s CLL publikovali Cuneo et al [21] a De Angeli et al [22]. Zjistili, že $t(11;14)(q13;q32)$ se vyskytuje hlavně u případů s atypickou CLL a že je často přítomná spolu s $\text{del}(13q14)$. V našem souboru se spolu vyskytovaly u dvou pacientů ze čtyř. Prognostický význam $t(11;14)(q13;q32)$ je u CLL zatím nejasný.

Podobně o $t(18;22)(q21;q11)$ a jejím prognostickém významu není mnoho známo. V literatuře bylo popsáno přibližně 10 případů, kdy se vyskytovala samostatně nebo s dalšími změnami, což souhlasí s nálezem u pacientů z našeho souboru [16].

Vzhledem k tomu, že všichni pacienti v našem souboru byli současně vyšetřováni metodou FISH na CLL čtyřpanel, měli jsme možnost srovnat, jaké jsou rozdíly ve schopnosti těchto dvou metod zachycovat chromozomové změny. Prokázalo se, že každá metoda měla své limity. Cytogenetickým vyšetřením byly u téměř poloviny všech pacientů s hodnotitelnými preparáty (149 pacientů) nalezeny chromozomové změny, které nemohla metoda FISH zachytit, protože pro ně nebyly použity sondy. Nejvíce byl rozdíl v zachytu patrný u pacientů s komplexními změnami karyotypu, kterých bylo pomocí klasického cytogenetického vyšetření odhaleno celkem 103 (tato skupina tvořila 42 % ze všech pacientů, u kterých se podařilo najít nějakou chromozomovou změnu). Pouze metoda FISH by tyto komplexní změny odhalila jen u čtyřech z nich, a 14 z těchto pacientů mělo dokonce negativní celý čtyřpanel. Z výsledků proto vyplývá, že metoda FISH nemá schopnost zachytit značnou část chromozomových změn u pacientů s CLL. Zatím není jasné, jaký význam tyto komplexní změny v karyotypu mají a jakým způsobem ovlivňují prognózu pacienta. Vzhledem k tomu, že do našeho souboru pacientů byli kromě nově diagnostikovaných a dosud neléčených pacientů zařazeni i pacienti, kteří už léčbu dostávali, nebylo možné tuto skupinu podrobněji analyzovat. Nicméně detailnější studie na jednotném souboru pacientů by mohly např. ukázat, jestli se u těchto pacientů vyskytují spe-

cifické chromozomové změny už v době diagnózy nemoci a jestli nějakým způsobem ovlivňují průběh nemoci.

Na druhou stranu určité limitace se prokázaly také u cytogenetického vyšetření, protože metodou FISH byly detekovány abnormality, které cytogenetické vyšetření nezachytilo. Cytogenetické vyšetření selhalo převážně v zachytu del(13q14), monoalelické nebo bialelické. Ovšem ve všech případech se jednalo o intersticiální delecii, která je cytogeneticky velmi těžce rozeznatelná, protože klasické cytogenetické vyšetření nemá tak vysokou rozlišovací schopnost jako metoda FISH a delecce malé oblasti na chromozomu je poměrně obtížné zachytit. V ostatních případech se buď podařilo stimulací získat jen malý počet metafázních buněk, nebo se při vyšetření FISH prokázalo, že tyto chromozomové změny byly přítomny pouze v malém počtu buněk. Je proto možné, že pokud by byl získán větší počet metafázních buněk a sestaven u nich karyotyp, cytogenetické vyšetření by úspěšné bylo.

Závěr

Závěrem lze tedy shrnout, že cytogenetické vyšetření stimulované periferní krve výrazně napomáhá zvýšit zachyt chromozomových změn u pacientů s CLL a umožňuje odhalit i jiné, méně časté změny, které nejsou rutinně vyšetřovány metodou FISH. Na rozdíl od metody FISH také umožňuje odhalit komplexní změny karyotypu. Jedná se

o technicky nenáročnou metodu prováděnou na periferní krvi, proto zavedení této metody do běžné praxe nepřináší žádnou další zátěž pro pacienta ani pro laboratoř.

Literatura

1. Dicker F, Schnittger S, Haferlach T et al. Immunostimulatory oligonucleotide-induced metaphase cytogenetics detect chromosomal aberrations in 80% of CLL patients: a study of 132 CLL cases with correlation to FISH, IgVH status, and CD38 expression. *Blood* 2006; 108(9): 3152–3160.
2. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL et al. WHO Classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. 4th ed. Lyon: IARC 2008.
3. Adam Z, Šmardová J, Krejčí M et al. Chronická B-lymfatická leukémie. In: Adam Z, Krejčí M, Vorlíček J et al (eds). *Hematologie – přehled maligních hematologických nemocí*. 2. vyd. Praha: Grada 2008: 177–196.
4. Malcuková J, Šmardová J, Rocnová L et al. Monoallelic and biallelic inactivation of TP53 gene in chronic lymphocytic leukemia: selection, impact on survival, and response to DNA damage. *Blood* 2009; 114(26): 5307–5314.
5. Juliusson G, Oscier D, Gahrton G et al. Cytogenetic findings and survival in B-cell chronic lymphocytic leukemia – 2nd IWCLL compilation of data on 662 patients. *Leuk Lymphoma* 1991; 5(1): 21–25.
6. Haferlach C, Dicker F, Schnittger S et al. Comprehensive genetic characterization of CLL: a study on 506 cases analysed with chromosome banding analysis, interphase FISH, IgVH status and immunophenotyping. *Leukemia* 2007; 21(12): 2442–2451.
7. Haferlach C, Bacher U. Cytogenetic methods in chronic lymphocytic leukemia. In: Campbell LJ (ed). *Cancer cytogenetics: Methods and protocols*. 2nd ed. New York: Humana Press 2011: 119–130.
8. Shaffer L, Slovak ML, Campbell L. ISCN 2009: An International System for Human Cytogenetic Nomenclature (2009). 1st ed. Basel: Karger 2009.
9. Swansbury J, Min T, Aruliah S. Fluorescence in situ hybridization methods and troubleshooting applied to fixed cell suspensions. In: Campbell LJ (ed). *Cancer cytogenetics: Methods and protocols*. 2nd ed. New York: Humana Press 2011: 13–32.
10. Wren C, Moriarty H, Marsden K et al. Cytogenetic investigation of chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 2010; 198(2): 155–161.
11. Struski S, Gervais C, Helias C et al. Stimulation of B-cell lymphoproliferations with CpG-oligonucleotide DSP30 plus IL-2 is more effective than with TPA to detect clonal abnormalities. *Leukemia* 2009; 23(3): 617–619.
12. Put N, Konings P, Rack K et al. Improved detection of chromosomal abnormalities in chronic lymphocytic leukemia by conventional cytogenetics using CpG oligonucleotide and interleukin-2 stimulation: A Belgian multicentric study. *Gene Chromosomes Cancer* 2009; 48(10): 843–853.
13. Buhmann R, Kurzeder CH, Rehklau J et al. CD40L stimulation enhances the ability of conventional metaphase cytogenetics to detect chromosome aberrations in B-cell chronic lymphocytic leukaemia cells. *Br J Haematol* 2002; 118(4): 968–975.
14. Heerema NA, Byrd JC, Dal Cin PS et al. Stimulation of chronic lymphocytic leukemia cells with CpG oligodeoxynucleotide gives consistent karyotypic results among laboratories: A CLL Research Consortium (CRC) Study. *Cancer Genet Cytogenet* 2010; 203(2): 134–140.
15. Stilgenbauer S, Bullinger L, Benner A et al. Incidence and clinical significance of 6q deletions in B cell chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 1999; 13(9): 1331–1334.
16. Mitelman Database of Chromosome Aberrations and Gene Fusions in Cancer (2012) [homepage on the Internet]. Mitelman F, Johansson B and Mertens F (eds). [updated 2012 Aug; cited 2012 Aug 20]. Available from: <http://cgap.nci.nih.gov/Chromosomes/Mitelman>.
17. Pospisilova H, Baens M, Michaux L et al. Interstitial del(14q) involving IGH: a novel recurrent aberration in B-NHL. *Leukemia* 2007; 21(9): 2079–2083.
18. Sen F, Lai R, Albitar M. Chronic lymphocytic leukemia with t(14;18) and trisomy 12. *Arch Pathol Lab Med* 2002; 126(12): 1543–1546.
19. Lu G, Kong Y, Yue C. Genetic and immunophenotypic profile of IGH@ rearrangement detected by fluorescence in situ hybridization in 149 cases of B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 2010; 196(1): 56–63.
20. Winter JN, Gascoyne RD, Van Besien K. Low-grade lymphoma. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2004: 203–220.
21. Cuneo A, Bigoni R, Negrini M et al. Cytogenetic and interphase cytogenetic characterization of atypical chronic lymphocytic leukemia carrying BCL1 translocation. *Cancer Res* 1997; 57(6): 1144–1150.
22. De Angeli C, Gandini D, Cuneo A et al. BCL-1 rearrangements and p53 mutations in atypical chronic lymphocytic leukemia with t(11;14)(q13;q32). *Haematologica* 2000; 85(9): 913–921.

Registr neuroendokrinních nádorů (NET) v ČR po třech letech sběru dat

Registry of Neuroendocrine Tumors (NET) in Czech Republic After Three Years of Data Collection

Vítek P.¹, Strenková J.², Sedláčková E.¹, Barkmanová J.¹, Mužík J.², Louthan O.¹

¹ Kooperativní skupina pro neuroendokrinní nádory o. s., Praha

² Institut biostatistiky a analýz, MU, Brno

Souhrn

Východiska: Neuroendokrinní nádory se tradičně řadí ke „vzácným“ nádorovým onemocněním. Naproti tomu otázky diagnostiky, léčby a sledování nemocných s neuroendokrinními nádory jsou předmětem rostoucího zájmu, protože prevalence neuroendokrinních nádorů je vysoká. Neuroendokrinní nádory mají mnoho specifík vyžadujících důkladnou zpětnou vazbu na každou intervenci, tzn. sběr a centrální vyhodnocení dat. Kooperativní skupina pro neuroendokrinní nádory o. s. (KSPNN) realizuje od června 2009 registr neuroendokrinních nádorů. Po třech letech je cílem prvního shrnutí zjistit, zda je registr neuroendokrinních nádorů v současné podobě pro další období životaschopný a zda poskytuje účelné výstupy. **Materiál a metody:** Registr neuroendokrinních nádorů shromažďuje anonymizované údaje o diagnostice, terapii a sledování nemocných s neuroendokrinními nádory jakékoliv lokalizace. Podmínkou vstupu do registru je morfologická diagnóza podle současné klasifikace WHO 2010, u diagnóz staršího data podle klasifikace WHO 2000. Registr je spravován Institutem biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity (Brno). Iniciálně jsou analyzována data zadaná v období červen 2009–říjen 2012. **Výsledky:** Podařilo se zaevidovat významnou část nositelů neuroendokrinních nádorů, 742 s validním záznamem, což je cca 14% předpokládané prevalence. Zároveň v letech 2009–2011 registr pokrývá téměř čtvrtinu incidence v ČR. V morfologických diagnózách dominují nálezy s přívrstvem nespecifičnosti – „NS“, na prvním místě „karcinoidní nádor NS“. Nespecifické diagnózy mají právě 3/4 subjektů. Výstupem je požadavek na bližší specifikace nálezu a separaci malobuněčného karcinomu, který se zásadně biologicky odlišuje od neuroendokrinního nádoru. Nápadná je polarita evidovaných stadií onemocnění, kdy více než 30% tvoří stadia I a IV. Toto rozložení pravděpodobně souvisí se způsobem stanovení diagnózy, buď časně a náhodně, nebo pozdně při endokrinní symptomatologii, obvykle ve stadiu IV. Výběrové bias je evidentní. **Závěr:** Údaje o terapii odrážejí současné trendy, dominanci chirurgické léčby včetně opodstatněných cytoredukčních výkonů, široké využití somatostatiniových analogů u pokročilých onemocnění a perzistující postavení chemoterapie u onemocnění s vyšším stupněm malignity. Rozložení terapie v populaci registru dokumentuje, že jsou následovány mezinárodní standardy (ENETS, ESMO, NCCN). Dynamika nárůstu nových subjektů potvrzuje životaschopnost registru. Registr ukazuje požadavek na dokonalé analýzy biotického materiálu a účinnější typizaci onemocnění. Hlavní a reálný cíl pro další období je udržet trend v nárůstu hlášených dat se záměrem pokrýt většinu incidence.

Klíčová slova

neuroendokrinní nádor – karcinoid – malobuněčný neuroendokrinní karcinom – registr – klasifikace WHO 2010 – somatostatin – incidence – prevalence

Podpořeno Kooperativní skupinou pro neuroendokrinní nádory, o. s.

This study was supported by Cooperative group of neuroendocrine tumors, c. a.

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. Pavel Vítek, Ph.D.

Kooperativní skupina
pro neuroendokrinní nádory o. s.
U Nemocnice 2
128 08 Praha 2
e-mail: p-vitek@email.cz

Obdrženo/Submitted: 21. 3. 2013

Přijato/Accepted: 25. 4. 2013

Summary

Background: Neuroendocrine tumors are traditionally considered to be “rare” diseases. On contrary, the prevalence of neuroendocrine tumors is high. Therefore, the diagnostics, treatment and follow-up of neuroendocrine tumors are subjected to an evolving interest. There are various specifics of neuroendocrine tumors requiring an appropriate feedback of each intervention i.e. data collection and central data evaluation. The “Cooperative Group for Neuroendocrine Tumors” (KSPNN) has been conducting a nationwide neuroendocrine tumors registry since June 2009. The first data summary after three years is aimed at evaluation of feasibility and data utility. **Material and Methods:** The anonymous data on diagnostics, therapy and follow up of patients with neuroendocrine tumors of any primary site are collected in the registry. The contribution is conditioned by morphologically proven diagnosis according to the current WHO 2010 classification, in earlier cases WHO 2000 classification. The registry is operated by the Institute of Biostatistics and Analyses, Masaryk University (Brno). The initial analysis includes data from June 2009 to October 2012. **Results:** Data of a substantial share of neuroendocrine tumor carriers have been collected – 742 subjects with a valid record, i.e. about 14% of presumed prevalence. Moreover, the registry covers nearly one fourth of incidence in the period 2009–2011. The morphological diagnoses with the sign of nonspecific “neuroendocrine tumors” comprise the majority of records (75%); the most frequent is “carcinoid tumor neuroendocrine tumors”. This results in a clear requirement for more detailed specifications of morphology as well as separation of small-cell (neuroendocrine) carcinoma possessing principal biologic differences to neuroendocrine tumors itself. There is an apparent polarity of recorded clinical stages. Both stage I and stage IV comprise 30% of the records. This result is presumably related to how the diagnosis is established, either early and incidentally in initial stage or late with a developed endocrine symptomatology, in advanced stage. There is an evident selection bias. The treatment data reflect current trends, dominance of surgical therapy including reasonable cytoreductive surgery, vast use of somatostatine analogues in advanced disease and persistent position of chemotherapy for high-grade tumors. The distribution of treatment modalities in the records documents a certain adherence to international treatment standards (ENETS, ESMO, NCCN). **Conclusion:** The dynamics of data contributions confirm feasibility of data collection in the registry. The registry reveals a clear requirement for more detailed analyses of biopsies and more detailed disease morphology classification. In the near future, the registry is aimed to maintain the increasing volume of collected data and to cover the majority of neuroendocrine tumors incidence.

Key words

neuroendocrine tumor – carcinoid – small cell neuroendocrine carcinoma – registry – classification WHO 2010 – somatostatine – incidence – prevalence

Úvod

Neuroendokrinní nádory (NET) se tradičně řadí ke „vzácným“ nádorovým onemocněním. Naproti tomu otázky diagnostiky, léčby a sledování nemocných s NET jsou předmětem rostoucího zájmu. „Vzácnost“ se totiž vztahuje pouze k počtu diagnostikovaných onemocnění. V epidemiologii NET jsou patrná určitá specifika. Reálná incidence známá není. Většina NET pravděpodobně za života nemocného uniká diagnóze. Proti obvyklé incidenci 3–4/100 tis./rok v evropské populaci se odhaduje počet nových onemocnění až na 8,4/100 tis./rok. Odhad vychází z ojedinělé a těžko opakovatelné studie na pitvách z reprezentativního vzorku populace [1]. S pokroky v diagnostice lze ještě očekávat trvalý nárůst incidence. Rostoucí trend patrný je. V letech 1973–2007 incidence vzrostla koeficientem 3,6 v USA a 3,8–4,8 v Evropě [2,3]. Bezpochyby to souvisí vedle pokroku v diagnostice i s vývojem nomenklatury a klasifikace. V důsledku delšího přežívání nemocných je výrazný nepoměr incidence a prevalence. Prevalence ciferně přesahuje až 10násobek ročního počtu nových onemocnění, odhadem do 40/100 tis. Prevalence NET (diagnostikovaných za života) pak může

být vyšší než prevalence epiteliálních nádorů žaludku a pankreatu dohromady, jak se již stalo v databázi SEER v USA [4,5]. Přitom výrazný podíl nemocných s NET vyžaduje trvalou léčbu nebo sledování. Z hlediska zdravotní péče pak NET nelze považovat za položku typu „vzácné“.

Kromě epidemiologie je ještě řada dalších specifík, která zasahují do léčby a sledování nemocných NET: neuroendokrinní původ je charakteristikou širší skupiny neoplazií, navíc z hlediska mikromorfologie poměrně komplikované. Recentně do jejich diagnostiky vnáší nový systém i nomenklaturu WHO klasifikace 2010 [6]. Nová klasifikace zatím nejlépe odráží prognózu onemocnění a dává dobrý podklad pro určení terapie i sledování nemocných. Hlavní změny jsou tyto:

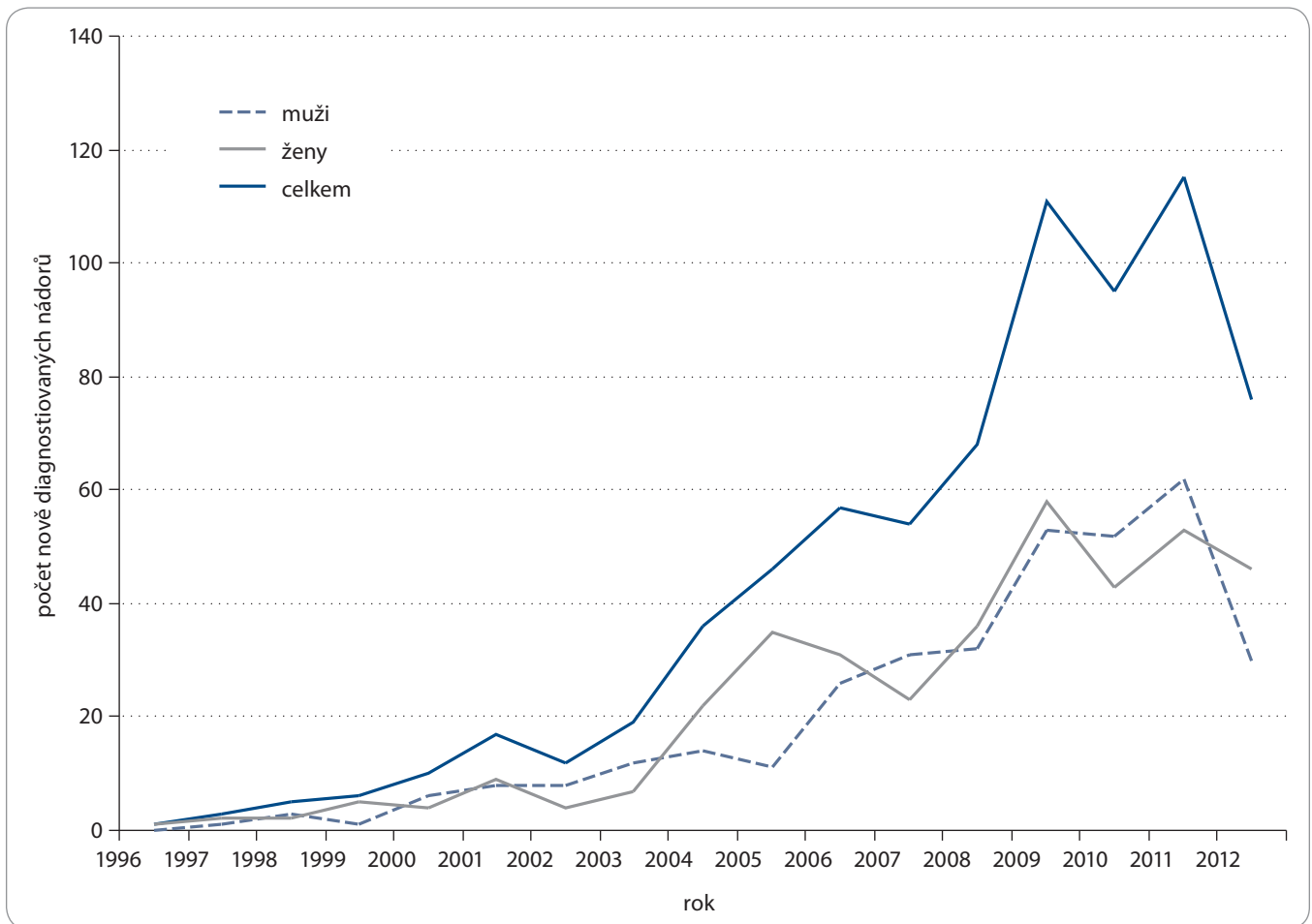
- Nomenklaturu upravuje poměrně výrazně, zvláště tím, že termín „neuroendokrinní nádor (tumor)“ – NET – omezuje pouze na grading 1 a 2.
- Zavádí souhrnný termín „neuroendokrinní neoplazie“ – NEN – pro všechny stupně gradingu.
- Termín „karcinoid“ úplně mizí z oblasti gastroenteropankreatické.

Pokroky v terapii, rozšíření analog somatostatinu a nástup biologické terapie

(tyrosinkinázových inhibitorů) prodlužují periodu léčby a sledování. Až recentně přibývají reprezentativní klinické studie, které jsou základem pro léčebné standardy vyžadované mnohdy přeceňovaným principem „medicíny založené na důkazech“. Tradiční modality, zejména chirurgie, ale také chemoterapie stále udržují své postavení v terapii. Až koncem předchozího desetiletí se vyvíjejí mezinárodní standardy diagnostiky a terapie, včetně standardů Evropské společnosti pro neuroendokrinní nádory (ENETS). Je přinejmenším vhodné je následovat.

Je evidentní, že skupina onemocnění typu NET má tolik specifík, že zaslouží důkladnou zpětnou vazbu na každou intervenci, tzn. sběr a centrální vyhodnocení diagnostických, léčebných i následných dat. I v malé populaci, jako má ČR, bude přínosná deskriptivní statistika a retrospektivní analýza. Flexibilní a parametrický sběr potenciálně umožní i kompatibilitu s podobnými datovými registry v rámci EU.

Dne 22. 4. 2008 bylo založeno občanské sdružení Kooperativní skupina pro neuroendokrinní nádory (KSPNN). Členy tohoto sdružení jsou odborníci zabývající se diagnostikou, léčbou a výzkumem v oblasti NET. Sdružení navazuje na desetiletou tradici předchozí „karcinoidové skupiny“.



Graf 1. Rozdělení podle data diagnózy.

Cílem činnosti sdružení je dále sjednotit diagnostické a léčebné postupy, vytvořit konzultační centra, dále prosazovat a provádět druhé určení morfologické diagnózy na referenčním pracovišti a vytvořit registr neuroendokrinních nádorů na území ČR. Tento cíl se během následujících tří let stal hlavní činností sdružení [7].

Po třech letech prezentujeme první shrnutí získaných dat. Přirozeně iniciálním cílem je deskriptivní statistika a zpětná vazba zaměřená více na metodiku registru samotného než na diagnostické a terapeutické zásady. Možnosti analýzy léčebných výsledků jsou zatím minimální. Shrnutí by mělo přinejmenším odpovědět na otázku, zda je registr NET v současné podobě do dalšího období životaschopný.

Metodika

Registr NET iniciovaný KSPNN je veden od června roku 2009. Má sponzorskou

podporu. KSPNN jako profesní společnost odpovídá za etiku a účelnost sběru dat a vedení registru. Data jsou vlastnictvím jednotlivých participujících pracovišť, KSPNN rozhoduje o použití a zpracování společných výstupů z registru. Registr je provozován Institutem biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity (v Brně) (IBA MU), který je odpovědným správcem technologického řešení a garantuje dostupnost služby.

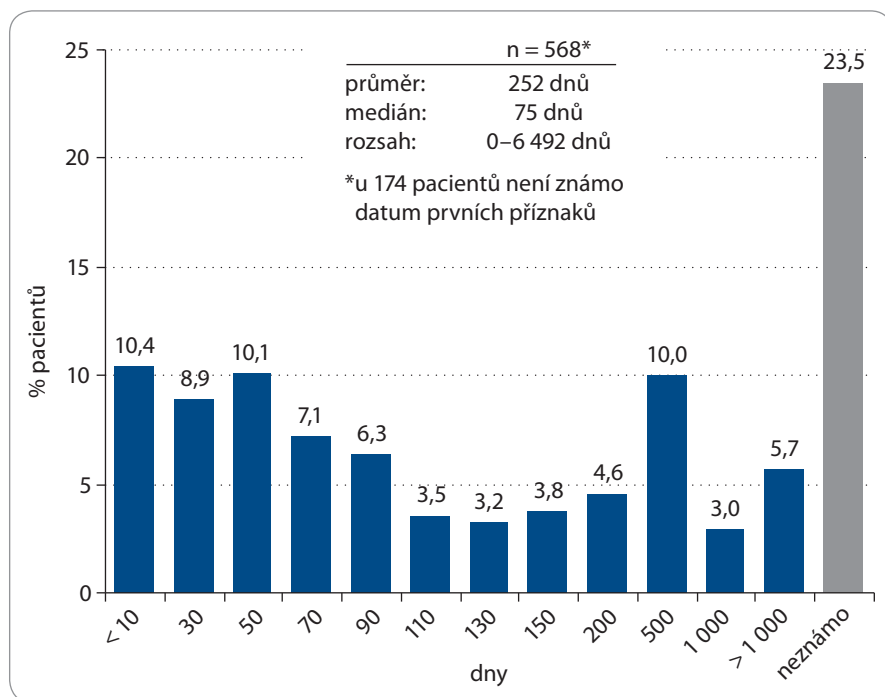
Registr NET shromažďuje anonymizované údaje o diagnostice, terapii a sledování nemocných s neuroendokrinními nádory jakékoliv lokalizace. Podmínkou vstupu do registru je stanovená diagnóza nádorového onemocnění, které se řadí do skupiny neuroendokrinních neoplazií (NEN) podle současné klasifikace WHO 2010. Není žádné omezení stadiem onemocnění, průběhem onemocnění a léčbou. Do registru lze hlásit

i onemocnění post mortem, podmínkou je přežívání do roku 2011.

Sběr dat probíhá výhradně elektronicky, cestou formuláře na stránkách <http://net.registry.cz>.

K zadávacímu formuláři má přístup pouze lékař, který se podílí na diagnostice, terapii nebo sledování nemocných s NET a jehož totožnost a příslušnost byla ověřena správcem registru. Přístup je chráněn přihlašovacím jménem a heslem.

Formulář pro vkládání údajů je členěn na sekci administrativních dat, sekci deskriptivních dat určujících demografické údaje, iniciální diagnózu, rozsah onemocnění a přehled diagnostiky, sekci dat určujících postupně aplikovanou terapii a sekci dat ze sledování nemocného. Formuláře odpovídají konceptu dlouhodobého sledování nemocného a sledování parametrů stavu onemocnění a průběžně se měnící terapie.



Graf 2. Rozdělení podle intervalu mezi prvními příznaky a stanovením diagnózy.

Ke shromážděným datům má přístup pouze určený pracovník IBA MU. Výstupy z registru jsou dostupné pro lékaře KSPNN, a to pouze se souhlasem výboru KSPNN. Publikáční výstupy jsou podmíněny souhlasem výboru KSPNN. Nositel oprávnění (přístupu) ke vkládání dat sám zodpovídá za správnost všech vložených dat. Jeho odborná erudice se předpokládá na základě identifikace a příslušnosti k pracovišti. Nemocní podepisují informovaný souhlas se zařazením do registru a se zpracováním osobních údajů, přirozené s výjimkou případů zadávaných post mortem.

Výsledky

V období říjen 2009–říjen 2012 bylo do registru nahlášeno 774 subjektů, z toho 32 s nevalidním záznamem. Předmětem základních statistik může být 742 subjektů – pacientů.

Dynamika hlášení diagnóz

Do registru byla nahlášena onemocnění diagnostikovaná v rozmezí 16 let. Nejstarší diagnóza je z roku 1996. Počet diagnóz z následujících let kontinuálně stoupá a za roky 2009–2011 počty diagnóz dosahují 95–115 případů (graf 1). Při odhadované incidenci NET v zemích EU a USA cca 4/100 tis. byla do registru

hlášena cca čtvrtina nově diagnostikovaných onemocnění. Data za rok 2012 nejsou ještě uzavřena. Prevalenci NET lze v ČR jen odhadovat. Prevalence GEP NET je v zemích EU a v USA odhadována na 35/100 tis. [6,8]. Odhady prevalence pro bronchiální a plicní NET nejsou [9]. Pokud by bronchiální NET navýšily prevalenci o 1/100 tis., pak se dá v populaci ČR prevalence odhadovat na 4 500 nositelů diagnózy NET.

V registru je hlášeno 616 žijících nemocných, 98 zemřelých a 28 je ztraceno ze sledování při stavu neznámém. V současné době registr pokrývá odhadem 14 % populace NET.

V registru je hlášeno datum prvních příznaků onemocnění a datum stanovení diagnózy. Interval mezi příznaky a datem diagnózy lze určit u 568 nemocných, u 174 není datum příznaků určeno nebo onemocnění bylo asymptomatické. Rozložení intervalů není gaussovské. Průměr 252 dní je více než trojnásobek mediánu, který dosahuje 75 dní a lépe vypovídá o době do diagnózy. Nejdelší interval je přes 17,5 roku (graf 2).

Regionální účast v registru

Při rozdělení předmětného území ČR podle krajů, které odpovídá uspořádání

odborných center v krajských a fakultních nemocnicích, je patrná určitá nehomogenita poskytování dat do registru (obr. 1, graf 3). Hlavní město Praha poskytuje 21 % dat, Královéhradecký kraj poskytuje 1,8 % dat. Počet ohlášených subjektů podle příslušnosti do regionu, kraje je od 2 do 12,5/100 tis. [průměr 6,9 (SD = 3,0), medián 7,5]. Rozložení je normální (D'Agostino-Pearson test). Nejvíce ohlášených subjektů je v regionech Praha a Jihočeský kraj, více než 1/4 odhadované prevalence. Při porovnání příslušnosti k regionu (bydliště) a původu hlášení (pracoviště) je patrná centralizace subjektů zejména na pracoviště v Praze a v Brně.

Morfologie

742 registrovaných pacientů s validním záznamem má morfologickou diagnózu (graf 4).

Nejčtenější kódy morfologických nálezů s četností nad 50 případů jsou:

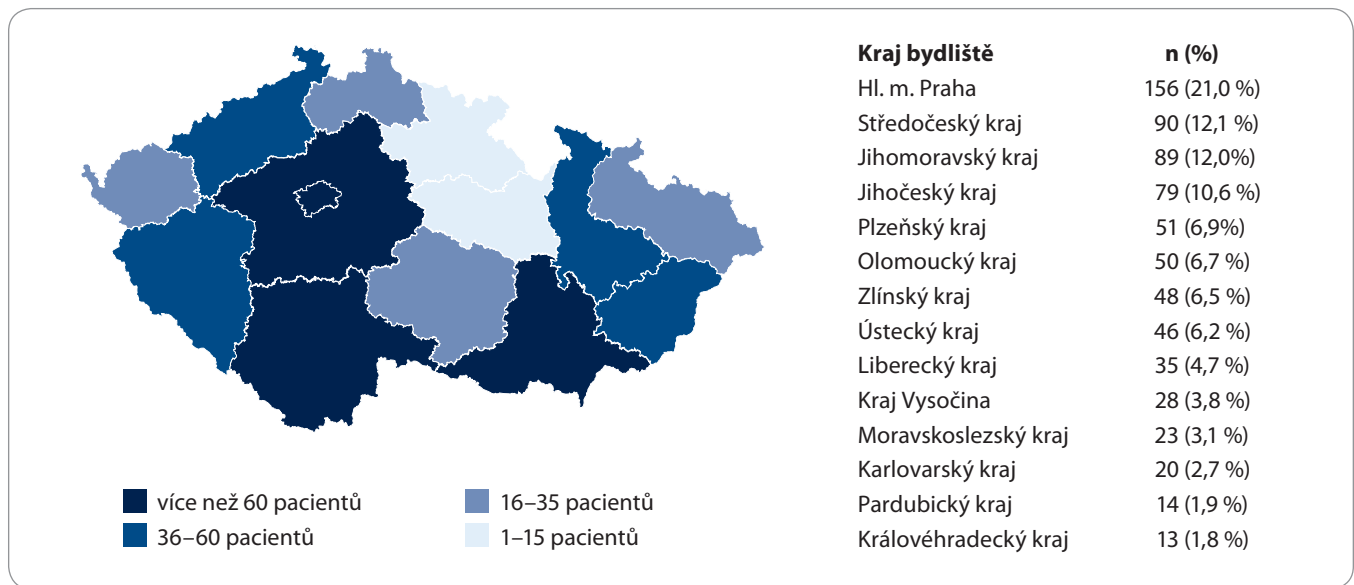
- karcinoidní nádor NS M8240/3, n = 389 (52,4 %);
- karcinoidní nádor o nejistém maligním potenciálu M8240/1 (vázaný k lézím apendixu), n = 102 (13,7 %);
- neuroendokrinní karcinom NS M8246/3, n = 66 (8,9 %);
- malobuněčný karcinom NS M8041/3, n = 54 (7,3 %), který se řadí do skupiny neuroendokrinních neoplazií (NEN), ale svým maligním potenciálem nespádá do sledované oblasti NET (neuroendokrinní karcinom grade 3 podle klasifikace WHO 2010).

Tyto čtyři skupiny zahrnují celkem 82,3 % všech subjektů registru. Další skupiny, které zahrnují detailněji typizované nádory nebo vzácnější nádory (inzulinom, gastrinom) tvoří úhrnem 17,6 % souboru a četnosti jsou malé.

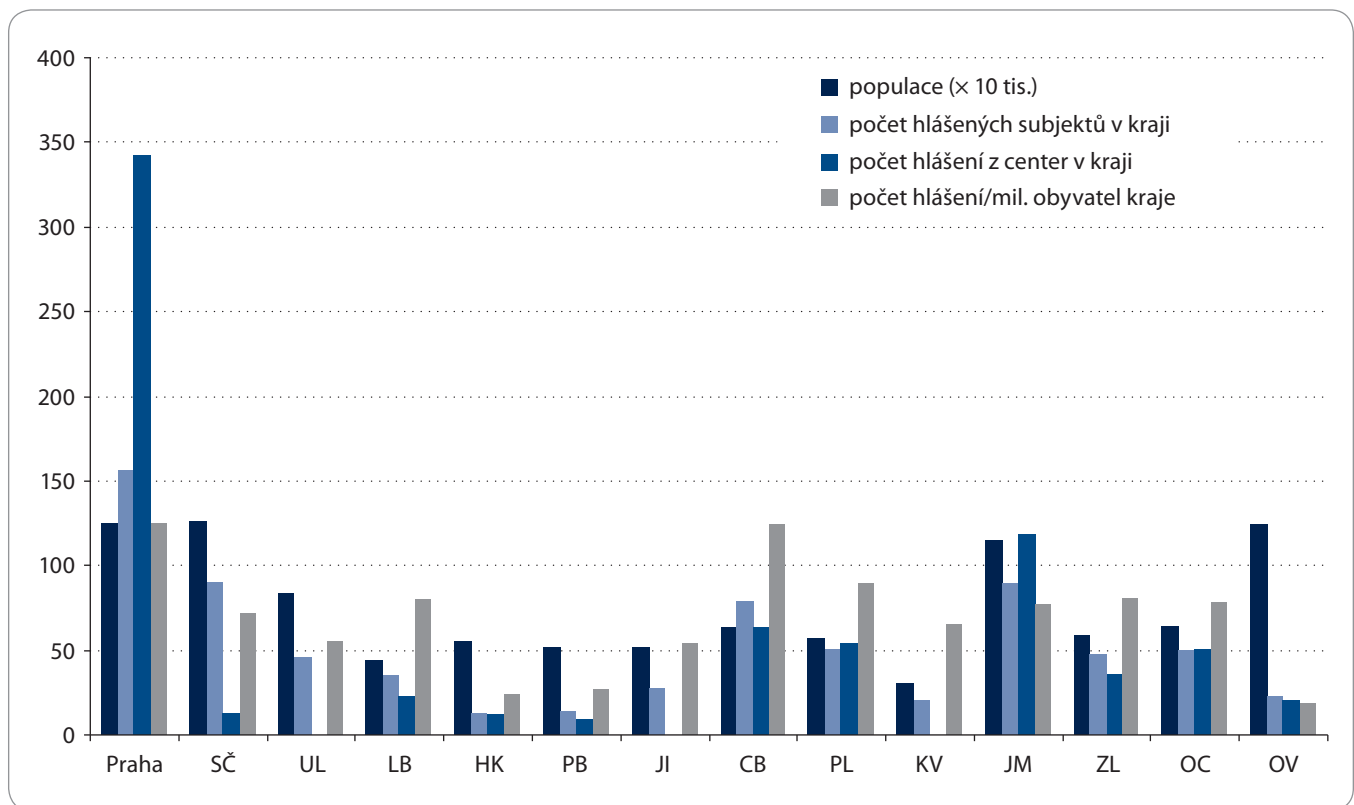
V rámci morfologické diagnózy je referován mitotický index proliferační index Ki67. Nálezy jsou referovány u cca poloviny subjektů (46,6 %, resp. 58,7 %). Převažuje nízký mitotický index (< 2) a nízký index Ki67 (v rozmezí 2–20).

Lokalizace hlášených diagnóz

Pět nejčastějších lokalizací hlášených neoplazií je podle četnosti v sestupném pořadí: tlusté střevo C18, bronchus



Obr. 1. Regionální účast v registru.



Graf 3. Porovnání dat počtu obyvatel regionů a počtu hlášení z regionů.

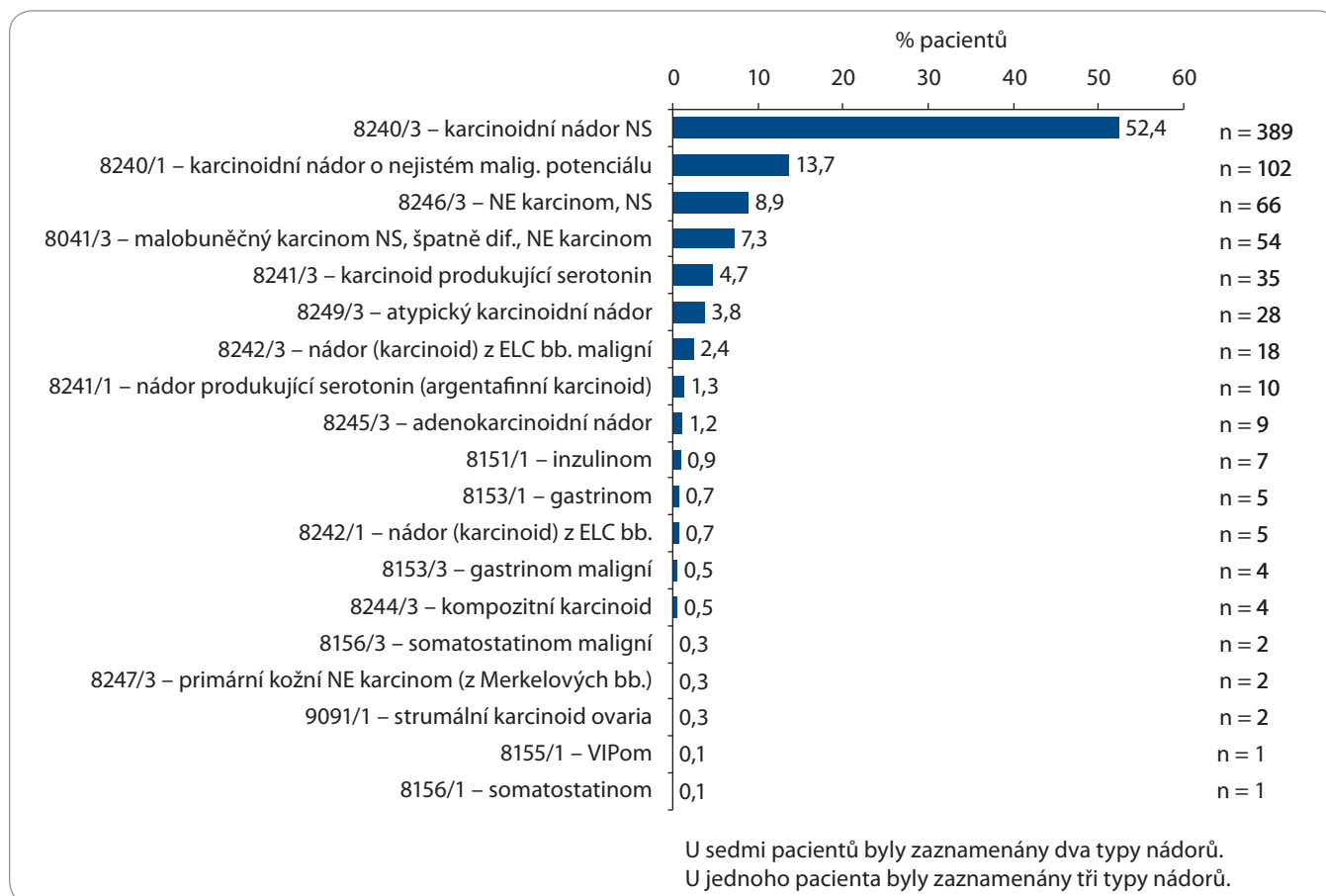
a plíce C34, tenké střevo C17, pankreas C25 a žaludek C16 (diagram četnosti, graf 5). Tyto lokalizace tvoří úhrnem 77,1 % hlášených subjektů. Toto rozložení není z hlediska patofyziologie NET jednoznačně deskriptivní. Do skupiny C18 se řadí i lokalizace C18.1 appendix. C34 zahr-

nuje i neoplazie s histologickým kódováním M8041/3 – malobuněčný karcinom.

Stadium onemocnění v době diagnózy
Rozložení stadií (graf 6) je nehomogenní, polarizované – největší podíl tvoří onemocnění st. IV a st. I, 36,7 %, resp. 30,7 %,

pouze u 8 % záznamů je stadium onemocnění hodnocené jako „neznámé“.

Příznaky a komplikace onemocnění
Klinické projevy endokrinní aktivity (včetně karcinoidního syndromu) jsou hlášené u 172 subjektů (23,2 %), ostatní



Graf 4. Rozložení morfologických diagnóz.

jsou hlášené jako explicitně nefunkční (67,8%) nebo jako neznámé. U 3 % subjektů je hlášené karcinoidní srdeční onemocnění, tzn. 14 % z celkového počtu funkčních onemocnění.

Terapie

Shromážděná data o terapii jsou relevantní primárním lokalizací NET a rozložením stadií v době diagnózy. Tři údaje vypovídají o terapii, která je nyní v ČR běžná a považovaná za standardní: kurativní chirurgický výkon byl realizován u 53,2 % subjektů, analogy somatostatinu bylo nebo je léčeno 31,3 % a chemoterapii mělo 19,5 % subjektů (u jednoho subjektu se může uplatnit i více léčebných modalit). Ostatní léčebné modalit jako jiná biologická léčba (např. everolimus), radionuklidy a ablační metody (radiofrekvenční ablace) mají méně než 5 % subjektů (graf 7, tab. 1).

Diskuze

Shrnujeme výsledky po třech letech vedení registru. Za relativně krátkou dobu

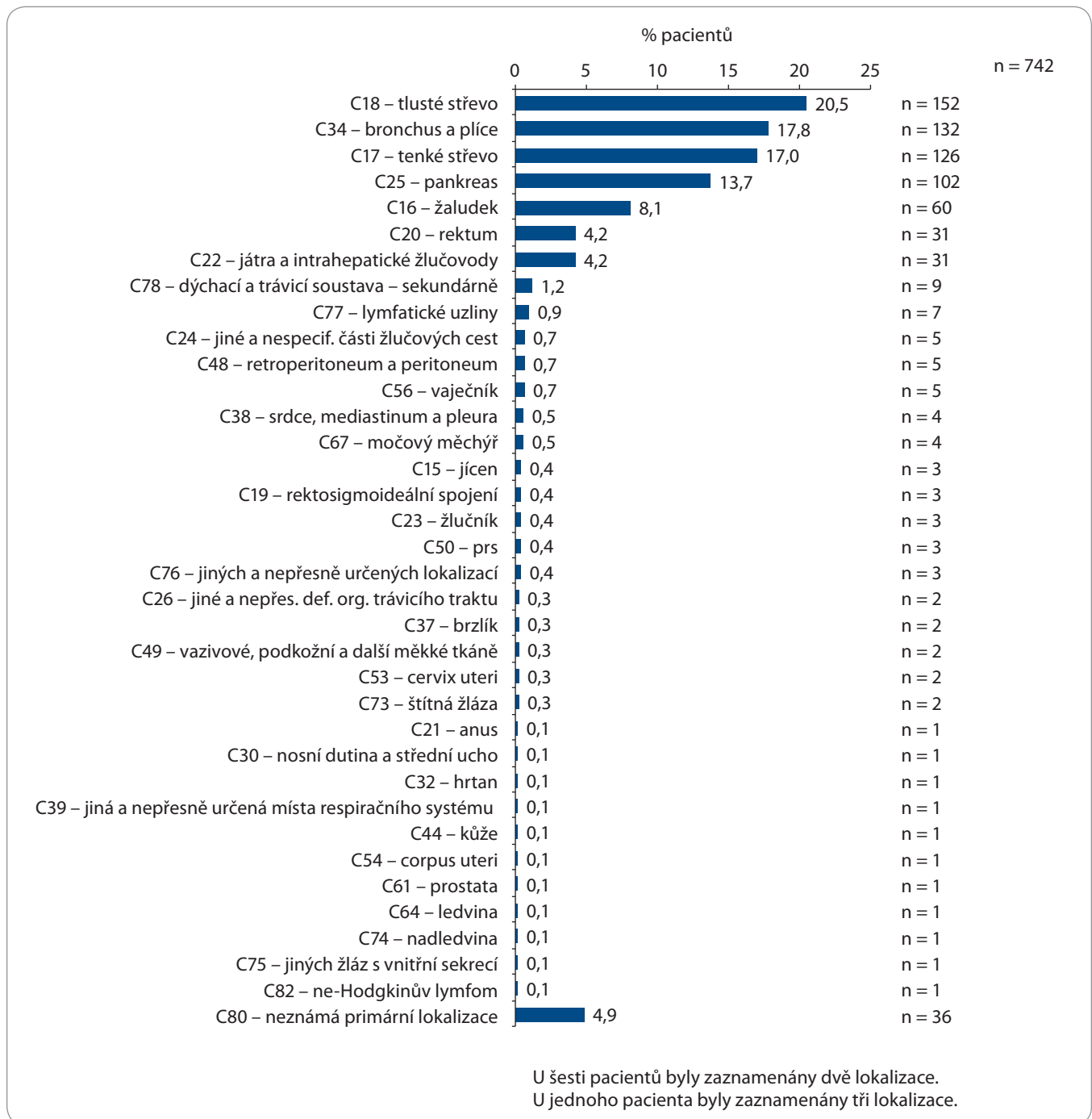
vedení se v registru podařilo zaevidovat významnou část nositelů NET – cca 14 % předpokládané prevalence a v letech 2009–2011 téměř čtvrtinu incidence. Tyto počty jsou zatím daleko od úplné evidence, na niž si ale zájmově pojetý, dobrovolný registr těžko může po pouhých třech letech dělat ambice. Pro potenciální výstupy z registru je ale podstatné, že již nyní představuje dostatečně reprezentativní vzorek pro odhady rozložení typizace nádorů, stadií onemocnění a užívané terapie. Pro další období představuje vzorek pro hodnocení způsobu a efektu terapie. To ostatně bylo a je primárním cílem vedení registru. Tato předběžná analýza by měla hodnotit možnosti vedení registru a dát podklady pro případné korekce ve sběru dat.

V morfologických diagnózách, resp. histologických nálezech, dominují nálezy s přívlastkem nespecifický, NS, na prvním místě je to karcinoidní nádor NS. Úhrnem tvoří podíl nespecifických dia-

gnóz včetně karcinoidního nádoru o nejistém maligním potenciálu právě 75 % registrovaných onemocnění. Podobnou převahu nespecifických nálezů referuje v Evropě i registr Norska, který za období 1993–2004 shromáždil 2 030 subjektů v populaci cca 5 mil., a představuje tak více reprezentativní výběr než počínající registr ČR [10].

V tomto významném podílu je prostor pro další typizaci. Hypoteticky mohou být zahrnuty NET specifického obrazu, jehož rozlišení má význam při rozhodování o terapii, i když zatím se otázka volby terapie může zaměřovat hlavně na rozlišení analoga somatostatinu vs chemoterapie. Při nástupu dalších prostředků biologické terapie, zvláště inhibitorů angiogeneze a multikinázových inhibitorů, bude ale bližší typizace nabývat na významu.

Z hlediska účelu vedení registru je diskutabilní i zahrnutí diagnózy malobuněčného karcinomu. Svou prognózou, agresivitou růstu a také možnostmi tera-



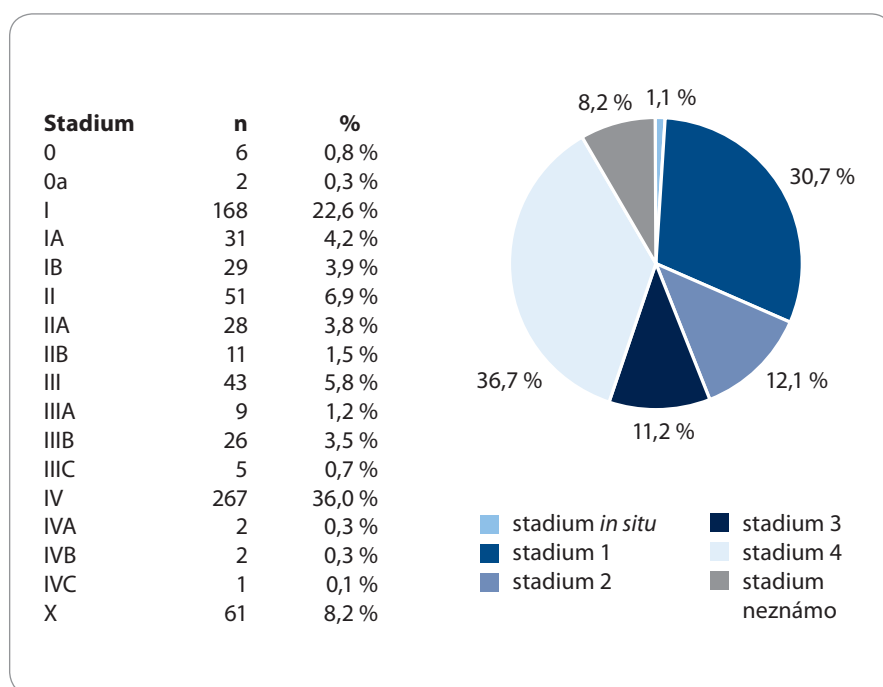
Graf 5. Lokalizace hlášených diagnóz.

pie se dostává mimo oblast NET, pro kterou je vedený registr primárně určen.

Problém se odráží i ve vývoji WHO klasifikace a nomenklatury neuroendokrinních nádorů až do poslední verze z roku 2010 [6]. V poměrně složité nomenklatuře se klade důraz na stanovení gradingu. Zároveň se starý termín karcinoid (v oblasti gastroenteropankreatické již neužívaný) a nový termín neuroendo-

krinní nádor (tumor) – NET – vztahují pouze k novotvarům grade 1 a 2, zatímco novotvary grade 3 se specifikují termínem „neuroendokrinní karcinom grade 3“. Naproti tomu i novotvary grade 1 a 2 lze v plicní a bronchiální oblasti označit termínem „neuroendokrinní karcinom grade 1 a grade 2“, a dokonce „typický karcinoid“ – grade 1, resp. „atypický karcinoid“ – grade 2 (podle klasi-

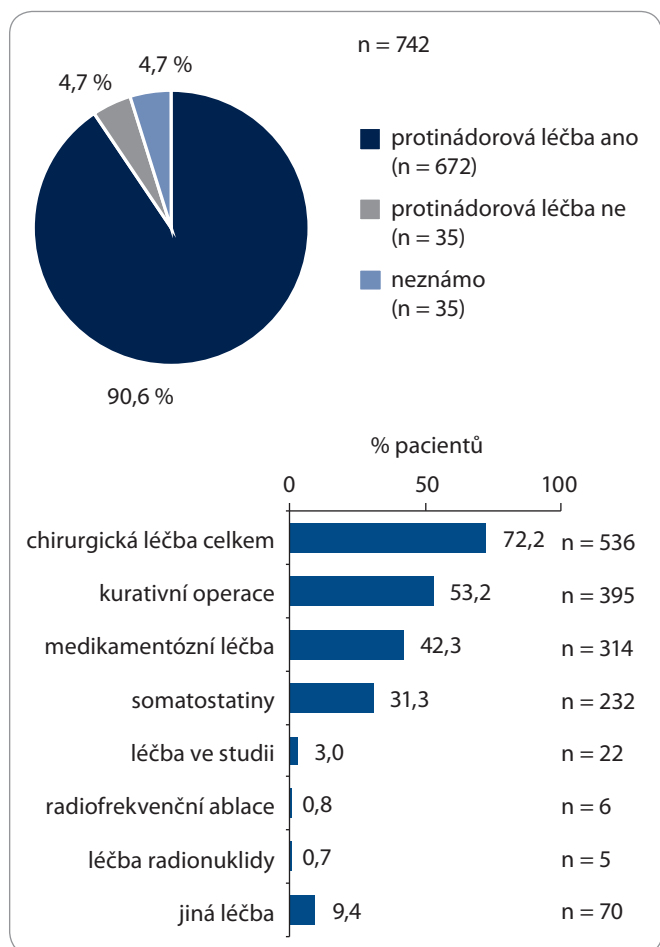
fikace WHO 2004, resp. klasifikace WHO 2010) [6,11]. Tyto nejasnosti vedly k zavedení pojmu „neuroendokrinní neoplazie“ – NEN –, který zahrnuje léze všech gradingů. Neuroendokrinní karcinom grade 3 odpovídá malobuněčnému karcinomu stejně dobře pojmenovatelnému jako „NEN grade 3“. Je tedy patrné, že z hlediska morfologického malobuněčný karcinom do registru patří, a do-



Graf 6. Rozložení stadií hlášených onemocnění.

konce by pak byl pro registr vhodnější název „registr NEN“ namísto „registr NET“. Naopak z klinického hlediska malobuněčný karcinom svou problematikou diagnostiky a terapie do vedeného registru nepatří. Zdá se proto účelné malobuněčný karcinom v registru evidovat, ale separátně.

Malá účelnost zařazení malobuněčného karcinomu do registru NET (lépe asi NEN) je patrná, pokud se porovná pětileté přežívání nemocných (tzn. srovnání pětiletého přežívání u neuroendokrinního ca grade 3 vs grade 1): U „typického karcinoidu“ bronchopulmonální oblasti je 87%, u malobuněčného karcinomu je 3–5%. Pokud registr eviduje 132 subjektů s lokalizací NET v oblasti bronchu a plic a zároveň 54 subjektů s morfoloickou diagnózou malobuněčného karcinomu (M8041/3), pak není malobuněčný karcinom zastoupen proporcionálně a pro potenciální analýzu kli-



Graf 7. Terapie aplikovaná u hlášených NET, rozdělení podle modalit.

Tab. 1. Rozdělení medikamentózní terapie.

Medikamentózní terapie (n = 314)

Preparát*	n	%
Somatostatinová analoga celkem	232	73,8 %
octreotid	164	52,2 %
lanreotid	95	30,3 %
Ostatní terapie celkem	141	44,9 %
cisplatina	53	16,9 %
etoposid	30	9,6 %
dacarbazin	25	8,0 %
carboplatina	19	6,1 %
5-fluorouracil	10	3,2 %
doxorubicin	5	1,6 %
gemcitabin	3	1,0 %
interferony	29	9,3 %
bevacizumab	1	0,3 %
ostatní	29	9,3 %

*jeden nemocný mohl být léčen více preparáty

nických parametrů včetně výsledků terapie vznikne bias. V evropských zemích a Severní Americe totiž obvykle z celkového počtu bronchopulmonálních nádorů NET tvoří do 1–3 % a malobuněčný karcinom do 10 %. Z celkového počtu bronchopulmonálních NEN tvoří malobuněčný karcinom 85 % [12,13]. I proto bude vhodné dále malobuněčný karcinom v registru evidovat, ale přinejmenším separovat.

V lokalizaci hlášených NET má největší podíl tlusté střevo. Z hlediska biologie NET je zásadní odlišit lokalizaci appendixu od tlustého střeva. Při použití číselné klasifikace MKN-10 je přirozeně appendix součástí tlustého střeva kódem C18.1. Podle četnosti morfologické diagnózy M8240/1, která je přímo vázaná k appendixu, je patrné, že 2/3 lokalizací v oblasti tlustého střeva do oblasti appendixu spadají. V registraci NET a dalších analýzách pak bude vhodné v MKN-10 separovat kód C18.1 a vést jej jako lokalizaci se specifickou biologií. Mj. NET appendixu je dobře specifikován separátním morfologickým kódem v klasifikaci WHO 2010, je tudíž logické separátně specifikovat i topografii, byť v systému MKN-10 je to možné až užitím subklasifikace. Pokud separujeme podle morfologických kódů malobuněčný karcinom z lokalizace bronchiálních nádorů a NET appendixu z lokalizace tlustého střeva, celkově se změní pořadí četnosti diagnóz do více očekávaného tvaru: 1. tenké střevo ($n = 126$), 2.–3. pankreas ($n = 102$), appendix ($n = 102$), 4. bronchus a plicí ($n = 78$), 5. žaludek ($n = 60$), 6. tlusté střevo ($n = 50$). Zůstává pak jen neobvykle vysoká evidence lokalizací NET v pankreatu. NET rekta zůstávají pak až na 7. místě ($n = 31$), což může být poněkud překvapivý nález. Nicméně zastoupení NET podle topografie podléhá při srovnání různých registrů Evropy a USA významné variabilitě. Incidence se u jednotlivých lokalizací liší významně, i více než 10násobně, např. právě u rekta (1,05/100 tis. USA vs 0,1/100 tis. Itálie, colon 0,4/100 tis. USA, 0,06/100 tis. Rakousko) [14]. Je to zřejmě důsledkem malé reprezentativnosti dílčích údajů z registrů pokrývajících malou část populace.

Stadium onemocnění v době diagnózy je stanovené u 91,8 % hlášených

subjektů. V registru jsou zahrnuté diagnózy stanovené od roku 1996. Stadium je proto určené podle různých pravidel určování. Separátní systém určení klinického stadia NET lze aplikovat až od roku 2009 [15]. V předchozím období tudíž bylo stadium onemocnění určené podle zásad pro nádory typu karcinomu relevantní lokalizace, nicméně zásady pro určení stadia IV jsou stejné a nemění se. Nápadná je polarita evidovaných stadií onemocnění, kdy stadium I i stadium IV tvoří každé podíl větší než 30 %. Toto rozložení pravděpodobně souvisí se způsobem stanovení diagnózy: buď časná náhodná diagnóza v resekátu (NET appendixu), nebo až pozdní diagnóza při prezentaci endokrinních příznaků, obvykle ve stadiu IV. Podobné výsledky byly referovány i v registru NET Španělska (R-GETNE) [16] a vysoký podíl pokročilých stadií (44 %) se přičítá převaze referující odbornosti, již je klinická onkologie, která se zabývá léčbou pokročilých stadií, a ta to ohlašuje v registru. Tato evidentní výběrová bias se v počátku registru může uplatňovat i v ČR. V registru USA – SEER – je patrné rovnoměrné rozložení stadií a nižší frekvence pokročilých stadií IV (21 %), podobné rozložení v evropských zemích je patrné např. v registru Norska [10]. Nicméně tyto registry mají ve srovnání s počínajícím registrem NET v ČR zásadně delší historii a podléhají menší výběrové bias.

Podíl symptomatických onemocnění 23,2 % souvisí s rozložením stadií i s primární lokalizací. Srovnání s frekvencí symptomatických NET cca 10 % udávané v literatuře [17] je obtížné a podléhá významné bias vlivem referující odbornosti. Pokud referují především onkologové a endokrinologové, kteří léčí pokročilá stadia onemocnění, podíl symptomatických onemocnění stoupá. Této bias podléhají i některé údaje referované v literatuře, které nepocházejí z reprezentativních vzorků populace typu registru a dosahují vysokých hodnot, až 74 % [18]. Přínosný je údaj o výskytu karcinoidního srdečního onemocnění, jehož frekvence se výrazně snižuje v souvislosti se širokým užíváním somatostatinných analogů v evropských zemích a USA na hodnotu 10–15 % [19]. Zjištěná frekvence 14 % z celkového

počtu funkčních onemocnění v registru ČR je relevantní.

Údaje o terapii odrážejí současné trendy v terapii NET, dominanci chirurgické léčby včetně opodstatněných cytoredukčních výkonů, široké využití somatostatinných analogů u pokročilých onemocnění a perzistující postavení chemoterapie u onemocnění s vyšším stupněm malignity. Rozložení terapie dobře koreluje s morfologickými nálezy, stadiem onemocnění i s primární lokalizací nádoru. Lze uvést některé jasné vazby: chemoterapie cisplatinou ($n = 53$) je relevantní frekvenci malobuněčného karcinomu ($n = 54$), terapie somatostatinnými analogy ($n = 232$) je relevantní klinickému stadiu IV ($n = 267$), kurativní chirurgický výkon ($n = 395$) je relevantní lokalizacím tlustého střeva (včetně appendixu), rekta a žaludku ($n = 243$) nebo stadiím I–III ($n = 470$). Rozložení terapie v populaci registru s dominancí chirurgické léčby a somatostatinných analogů dokumentuje, že jsou následovány standardy podle mezinárodních doporučení (ENETS, ESMO, NCCN). Až překvapivě podobné (téměř identické) je rozložení terapie ve španělském registru (R-GETNE) [16] u podobně četného vzorku populace NET ($n = 837$). Určité zkreslení údajů představuje již zmíněné zařazení diagnózy malobuněčného karcinomu, u kterého přirozeně zůstává chemoterapie jako jediná léčebná volba.

Závěr

V současné době není sběr dat do registru dostatečně dlouhý na to, aby bylo možné hodnotit prognostické parametry, účinnost terapie a data přežívání. V tomto směru zatím nelze uskutečnit rigorózní analýzy. Primární analýza, spíše soubor deskriptivních ukazatelů, ale po třech letech fungování registru poskytuje výstupy přínosné pro samotné vedení registru v dalším období. Registr vypoovídá o rozložení morfologických obrazů, primárních lokalizací onemocnění a frekvenci symptomů, resp. komplikací, které je relevantní populacím v Evropě a USA. Současně vypoovídá o užití terapie podle odborných standardů EU, a to s pozitivními výstupy, jako např. udržení nízké frekvence karcinoidního srdečního onemocnění. Registr ukazuje poža-

davek na dokonalé analýzy biotického materiálu a účinnější typizaci onemocnění. Data podporují metodiku druhého čtení biotického materiálu na referenčním pracovišti. V registru lze doporučit další registraci, ale zároveň oddělení diagnózy malobuněčného karcinomu plic, který se sice řadí k neuroendokrinním neoplaziím, nicméně podléhá zcela jiným zásadám diagnostiky a terapie. K úvaze je i úprava názvu registru (z NET na NEN) v souvislosti s nyní platnou nomenklaturou. Registr je životaschopný a hlavním požadavkem je udržet trend v nárůstu hlášených dat s cílem pokrytí většiny incidence a prevalence.

Podíly na autorství

Jakékoliv výstupy z registru vznikají na základě dat, jimiž přispěli kolegové z následujících pracovišť:

Onkologická klinika 1. LF UK a VFN v Praze; IV. interní klinika 1. LF UK a VFN v Praze; Onkologické oddělení, Nemocnice České Budějovice a. s.; Klinika komplexní onkologické péče, Masarykův onkologický ústav, Brno; Onkologická klinika 2. LF UK a FN v Motole, Praha; Onkologická klinika LF UP a FN Olomouc; Oddělení klinické onkologie, Krajská nemocnice T. Bati, a. s., Zlín; Klinika TRN LF UK a FN Plzeň; Klinika nemocí plicních a tuberkulózy LF MU a FN Brno; Oddělení radiační a klinické onkologie, Krajská nemocnice Liberec, a. s.; Interní hematologická a onkologická klinika

LF MU a FN Brno; Onkologické a radio-terapeutické oddělení LF UK a FN Plzeň; Oddělení klinické onkologie, Slezská nemocnice v Opavě, p. o.; Institut onkologie a rehabilitace Na Pleši s. r. o., Nová Ves pod Pleší; Klinika onkologie a radioterapie LF UK a FN Hradec Králové; Oddělení klinické a radiační onkologie, Pardubická krajská nemocnice, a. s.; Interní oddělení, Šumperská nemocnice a. s.; Interní gastroenterologická klinika LF MU a FN Brno; III. interní klinika LF UP a FN Olomouc; Radioterapeutická a onkologická klinika 3. LF UK a FN Královské Vinohrady, Praha; Ústav radiační onkologie, Nemocnice Na Bulovce, Praha; Onkologická klinika 1. LF UK a ÚVN – VFN Praha.

Literatura

1. Berge T, Linell F. Carcinoid tumors: Frequency in a defined population during a 12-year period. *Acta Pathol Microbiol Scand A* 1976; 84(4): 322–330.
2. Lawrence B, Gustafsson BI, Chan A et al. The epidemiology of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2011; 40(1): 1–18.
3. Ellis L, Shale MJ, Coleman MP. Carcinoid tumors of the gastrointestinal tract: trends in incidence in England since 1971. *Am J Gastroenterol* 2010; 105(12): 2563–2569.
4. The NET Alliance [homepage on the Internet]. Prevalence of NET: More common than one might think, 2011. Available from: <http://www.neuroendocrinetumor.com/health-care-professional/prevalence-of-nets.jsp>.
5. Balmadrid BL, Thomas CM, Coffman CJ et al. Factors associated with survival of veterans with gastrointestinal neuroendocrine tumors. *J Cancer Epidemiol*. In press 2012; 2012: 986708.
6. Hamilton SR, Aaltonen LA (eds). Pathology and genetics of tumors of the digestive system, World Health Organization Classification of Tumors, Pathology and Genetics of Tumors of the Digestive System. Lyon: IARC 2010.

7. Barkmanová J (ed.). Historie registru neuroendokrinních nádorů v České republice. Praha: Farmakon Press 2007; 5–7.
8. Oberg K, Akerström G, Rindl G et al. Neuroendocrine gastroenteropancreatic tumors: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2010; 21 (Suppl 5): v223–v227.
9. Oberg K, Hellman P, Kwekkeboom D et al. Neuroendocrine bronchial and thymic tumors: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2010; 21 (Suppl 5): v220–v222.
10. Hauso O, Gustafsson BI, Kidd M et al. Neuroendocrine tumor epidemiology: contrasting Norway and North America. *Cancer* 2008; 113(10): 2655–2664.
11. Moran CA, Suster S, Coppola D et al. Neuroendocrine carcinomas of the lung: a critical analysis. *Am J Clin Pathol* 2009; 131(2): 206–221.
12. Gustafsson BI, Kidd M, Chan A et al. Bronchopulmonary neuroendocrine tumors. *Cancer* 2008; 113(1): 5–21.
13. The US National Cancer Institute [homepage on the Internet]. Surveillance Epidemiology and End Results (SEER) data base, 1973–2004. Available from: <http://seer.cancer.gov/2007>.
14. Fraenkel M, Kim M, Faggiano A et al. The increasing incidence of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors around the world: a systematic review of the literature. 10th Annual Conference for the Diagnosis and Treatment of Neuroendocrine Tumor Disease, Barcelona 6–8. 3. 2013: 47.
15. ÚZIS ČR [internetová stránka]. Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR. TNM klasifikace zhoubných nádorů. Česká republika 2011. Dostupné z: <http://www.uzis.cz/katalog/klasifikace/tnm-klasifikace-zhoubnych-novotvaru>.
16. Garcia-Carbonero R, Capdevilla J, Crespo-Herrero G et al. Incidence, patterns of care and prognostic factors for outcome of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors (GEP-NETs): results from the National Cancer Registry of Spain (RGENTNE). *Ann Oncol* 2010; 21(9): 1794–1803.
17. Feldman JM. Carcinoid tumors and the carcinoid syndrome. *Curr Probl Surg* 1989; 26(12): 835–85.
18. Modlin IM, Kidd M, Latich I et al. Current status of gastrointestinal carcinoids. *Gastroenterology* 2005; 128(6): 1717–1751.
19. Bhattacharya S, Tournapanakis C, Burke M et al. Features of carcinoid heart disease identified by 2- and 3-dimensional echocardiography and cardiac MRI. *Circ Cardiovasc Imaging* 2010; 3(1): 103–111.

Synchronous Bilateral Testicular Germ Cell Tumour: Case Report and Review of the Literature

Synchronní bilaterální testikulární tumor ze zárodečných buněk: kazuistika a přehled literatury

Detti B.¹, Scoccianti S.¹, Cassani S.¹, Franzese C.¹, Di Cataldo V.¹, Villari D.², Cai T.³, Desideri I.¹, Livi L.¹, Lapini A.⁴, Nicita G.², Carini M.⁴, Biti G.¹

¹ Radioterapia, Azienda Ospedaliero-Universitaria Careggi, Florence, Italy

² Clinica Urologica II, University of Florence, Florence, Italy

³ Department of Urology, Santa Chiara Hospital, Trento, Italy

⁴ Clinica Urologica I, University of Florence, Florence, Italy

Summary

We report a case of a 30 years old male affected by synchronous bilateral germ cell tumor with a history of unilateral cryptorchidism; the patient underwent surgical treatment followed by adjuvant radiotherapy on para-aortic and iliac lymphnodes. Patients with synchronous tumors usually present with a higher stage disease in contrast to those with unilateral testicular carcinoma, yet the prognosis remains equally favorable.

Key words

bilateral seminoma – cryptorchidism – radiotherapy – testicular cancer – germ cell tumor

Souhrn

Tento článek popisuje případ 30letého muže s anamnézou jednostranného kryptorchidizmu, postiženého synchronním tumorem varlete. Pacient podstoupil chirurgickou resekci a následně adjuvantní radioterapii na oblast paraaortálních a ilických lymfatických uzlin. Pacienti se synchronní duplicitou jsou zpravidla diagnostikováni ve vyšším stadiu onemocnění, nicméně prognóza u nich zůstává podobně příznivá jako u pacientů s jednostranným postižením.

Klíčová slova

bilaterální seminom – kryptorchizmus – radioterapie – testikulární rakovina – nádor ze zárodečných buněk

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

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

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

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



Beatrice Detti, MD
Radiotherapy Unit
Azienda Ospedaliero-Universitaria
Careggi
Viale Morgagni 85
50144 Florence
Italy
e-mail: beatrice.detti@aouc.unifi.it

Submitted/Obdrženo: 8. 1. 2013

Accepted/Přijato: 3. 3. 2013

Introduction

Testicular cancer is the most common solid malignancy in men between the ages of 15 to 35 years and the incidence has increased significantly over the last two decades [1]. Patients with testicular carcinoma in one testis are 500–1,000 times more likely to develop testicular carcinoma in the contralateral testis. The incidence of bilateral germ cell tumors (BGCT) varies between 0.5 and 7%, they occur metachronously in 80–85% of cases and synchronously in 15–20% of cases [2,3]. Cryptorchidism, atrophy, trauma and hormonal or genetic factors are known risk factors for the development of a testicular germ cell tumor [4]. We report a case of a young man affected by synchronous bilateral germ cell tumors (SBGCT) with a history of unilateral cryptorchidism; the patient underwent surgical treatment followed by adjuvant radiotherapy on para-aortic and iliac lymph-nodes, since he suffered a stage II seminoma. Patients with synchronous tumors usually present at a higher stage disease, compared with those with unilateral testicular carcinoma; however the outcome remains excellent.

The treatment of patients with bilateral germ cell tumors is based on the pathology and clinical stage and should not be different from the standard management of unilateral testicular carcinoma.

Case Report

A 30-year old male firstly presented with fertility disorder in January 2011. Scrotal color Doppler sonography revealed an inhomogeneous nodule with microcalcifications in the superior pole of the right testis and another small nodule in the superior pole of the left testis.

Past medical history is noteworthy for right cryptorchidectomy in two years of age. The patient underwent right orchi-funiclectomy with a placement of a testicular prosthesis and extirpation of the left testis nodule. The histo-pathological examination revealed bilateral seminoma; the right tumor mass measuring 2.5 cm in diameter, with peritumoral vascular and lymphatic vessel invasion. The left nodule was 0.3 cm in diameter. The staging CT scan showed lymphadenopathy within the para-aortic and the right com-



Fig. 1. Axial CT of pathologic para-aortic lymph nodes.

mon iliac nodal chains, with the largest node up to 34 mm (Fig. 1–3). Tumor markers (α -fetoprotein, β -human chorionic gonadotropin and LDH) drawn in preoperative and in postoperative phases both resulted negative.

The case was discussed at the MDT meeting and it was proposed to perform radiotherapy on paraaortic and ipsilateral iliac lymph nodes – the so called dog-leg field.

For further management of the left testis after the sparing surgery there where two therapeutic options discussed with the patient: low dose radiotherapy to the remaining testicle or careful surveillance with regular scrotal sonography. The patient preferred the close follow-up to testicular irradiation.

Hence radiation therapy on dog-leg volume was performed in March 2011 with a total dose of 36 Gy in 18 fractions delivered from two opposite fields. The treatment was well tolerated, with only grade one nausea during the first days of therapy.

Two months following the radiotherapy a new CT showed complete remission of the metastatic lymphadenopathy. At the last follow-up, 24 months after the initial diagnosis, there was no evidence of relapse.

Discussion

Cryptorchidism is a known risk factor for the development of a testicular germ cell

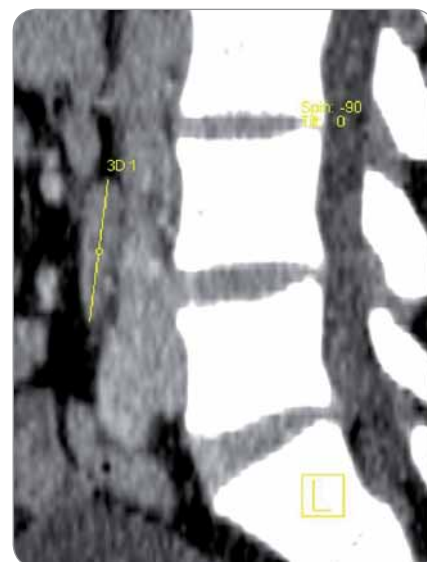


Fig. 2. Sagittal CT of pathologic para-aortic lymph nodes.

tumor. Maldescent testis is thought to be associated with a 2–4 fold increased risk of testicular cancer, although some studies have even reported a 5–10 fold increased relative risk [5]. In another study a history of cryptorchidism was recorded in 9–10% of patients with bilateral germ cell tumors in contrast to only 2% incidence in a group of patients with unilateral germ cell tumors. This work refers a patient with a history of unilateral cryptorchidism. Notable is also a recent work of García et al presenting a patient affected by Down

syndrome with a history of bilateral untreated cryptorchidism, referred for bilateral orchidectomy [6].

One of the earliest mentions of bilateral testicular germ cell tumors was can be found in the work of Gilbert and Hamilton in 1941. The authors reported 1,466 patients with primary testicular tumors discovering that 1.6% of patients had bilateral testicular involvement [7]. In 1978, Aristizabal et al published a review covering the literature on testicular neoplasms over a period of two decades, with an overall incidence of bilateral tumors being 1.56% among 4,864 patients [8].

One of the largest series of bilateral testicular cancer was presented by Holzeierlein et al, there was registered a total of 58 patients treated at Memorial Sloan Kettering Cancer Center between the years 1950 and 2001. Among these patients 48 had metachronous and 10 had synchronous bilateral germ cell tumors. Of these, six (60%) patients presented with stage I disease, two (20%) presented with stage II disease and only one (10%) presented with stage III disease. During a median follow-up of 30 months, there were no relapses noted among the patients. The authors reported outcomes similar to those in patients with unilateral testicular tumors when matched by stage. In the series from MSKCC no patient underwent a testis sparing surgery [9].

At Indiana University, there were 21 patients (1%) suffering a bilateral invasion among a total of 2,088 patients diagnosed with a testicular carcinoma. The tumors occurred subsequently in 16 cases and the rest of the patients presented with synchronous testicular tumors. During a mean follow-up of 50 months, 18 patients remained without any evidence of the disease, two were alive with a persisting tumor and one patient died of the disease [2].

In another study from MD Anderson Cancer Center, BGCT comprised 1% of the total incidence of testicular tumors. Findings were based on the evaluation 2,431 patients with testicular germ cell tumors over the survey period from 1978 to 1999. Twenty of 24 patients with bilateral germ cell tumors developed the



Fig. 3. Coronal CT of pathologic para-aortic lymph nodes.

tumor consecutively and four patients had synchronous tumors. The therapeutic outcomes were excellent, since only one man died of metastatic disease [4].

In 2004 Theodore et al described the incidence, clinical and histological characteristics, treatment and long-term follow-up of 45 patients with bilateral germ cell tumours. 31 patients in the review group had metachronous BGCT while 14 had synchronous tumours. The cure fraction of BGCT was excellent, only one patient with poor prognosis disease, as defined by the IGCCCG staging system, died of refractory metastatic disease. A strong correlation between bilateral testis cancer, sterility and suspected genetic risk factors was found [3]. A few years later, several studies have shown that testicular germ cell tumours are associated with an overrepresentation of the short arm of chromosome 12. This genetic alteration is found in almost all testicular germ cell tumours [10,11].

More recently, Morales-Barrera et al examined retrospectively 151 patients affected by testicular germ cell tumors. Eight (5.3%) patients developed bilateral

tumours, metachronous tumors made up seven (4.6%) of the cases in the review group and there was one (0.7%) synchronous tumour reported. Two patients underwent testis-sparing surgery for the second tumor. The authors concluded that the survival rate in the group of patients with bilateral testicular germ cell tumours is similar to that of patients with unilateral testicular germ cell tumours [12].

As for the treatment modalities, bilateral orchiectomy remains the treatment of choice for bilateral testicular cancer. Unfortunately, this procedure generates significant endocrine and psychological disorders, such as infertility, necessity of androgen replacement therapy and other adverse effects of castration. This approach is elected on the basis of the size of the primary lesion and the expected multifocality of the tumor.

Testis sparing surgery, as an alternative method with a capacity to preserve fertility and to avoid lifelong need of androgen replacement therapy, was firstly presented by Richie in 1984 [13]; he performed a hemi-orchidectomy in a patient with bilateral seminoma and the

patient, although infertile, remained free of disease without any need of androgen supplementation. Testis sparing surgery can be performed only in select cases (tumors smaller than 25 mm confined to the testis and with normal preoperative testosterone).

The German Testicular Cancer Inter-group recommend that organ sparing surgery should always be considered in the management of bilateral as well as solitary germ cell tumour in order to maintain the quality of life and to prevent endocrinological disorder arising from subnormal testosterone serum levels, regardless of the androgen substitution [14].

Recently, Klatte et al reported 25 years' experience from the Department of Urology of the University of Magdeburg, Germany based on an evaluation of 612 patients treated for testicular germ cell tumors between 1982 and 2007. Among 17 patients with bilateral invasion eleven (65%) were diagnosed with metachronous and six (35%) with synchronous disease. The median age of these six patients was 31 years. Four of them presented with bilateral seminoma, whereas the other two developed a seminoma followed by contralateral non-seminoma tumor. The authors suggested that organ-sparing surgery may be performed in selected cases, in both bilateral or unilateral GCT [15].

Our patient was treated with testis sparing surgery for the contralateral testicular tumor, proceeded by a close follow-up including a scrotal sonography, in order to preserve fertility and hormonal state.

Tekin et al [16] described the management of 11 patients with bilateral testicular germ cell tumors, treated by bilateral orchiectomy followed by androgen substitution, namely by administering testosterone depots. After a median follow-up of 53 months there was no record of recurrent disease among the patients. None of the patients lost libido, potency neither experienced other side-effects of testosterone replacement therapy.

As an alternative to bilateral surgery in synchronous bilateral seminoma some authors advocated only unilateral orchiectomy for the major tumor, followed by three courses of BEP chemothe-

rapy [17]. In other works systemic chemotherapy appears to have a protective effect against the development of a second testicular tumor. Van Basten et al noted that the risk of developing a contralateral tumor was reduced from 5.0% to 1.8% in the group of men treated by cisplatin-based chemotherapy [18]. This result indicates certain significance of chemotherapy in elimination of TIN or early testicular cancer. Bokemeyer et al also confirmed the notion that the use of chemotherapy has eradicated the cancer in contralateral testis [19]. Similarly, Oliver et al suggest that one cycle of adjuvant carboplatin is likely to achieve relapse-free survival rates comparable to prophylactic radiotherapy in patients with clinical stage I seminoma [20]. Contrasting results were presented in a study of Pamentier et al who reported 19 (3.3%) men developing second testicular malignancy after the initial treatment for testicular cancer. These findings were based on evaluation of 570 men with testicular cancer treated in Western Scotland in the period 1989–1998. In their experience, the chemotherapy did not prove to eliminate the risk of developing a contralateral tumour [21].

The EAU (European Association of Urology) Guidelines reported that in synchronous bilateral testicular tumours the organ-sparing surgery can be beneficial, even though the rate of associated TIN is high. The standard treatment for low-volume metastatic (stage IIA/B) seminoma has been radiotherapy at a total dose of 30–36 Gy, delivered to the hockey-stick field (from the para-aortic region to ipsilateral iliac nodes). Chemotherapy with three cycles of BEP or four cycles of EP is an alternative to nodal radiotherapy.

Risk-adapted chemotherapy with three cycles of BEP or four cycles of EP remains an alternative to radiotherapy in stage IIB seminoma, with comparable therapeutic outcome, however, it is associated with higher acute and long-term toxicity [22]. The recommended radiotherapy should achieve a total dose of 30 Gy for stage IIA and 36 Gy for stage IIB respectively; whereas the standard radiation field should encompass both the para-aortic and the ipsilateral iliac re-

gion [23]. The relapse rates are moderate (5% in stage IIA, 11% in stage IIB) and the overall survival of patients with seminoma stage II is almost 100% [24,25].

Over the past 50 years, RT to the lymph nodes has been the treatment of choice for seminoma. Recently, the concern about its side effects, in particular the cardiovascular toxicity and secondary malignancies, has led investigators to attempt to minimize the radiation exposure or to find an alternative therapeutic modality. In fact, several investigations have demonstrated a significantly increased risk of secondary cancers, especially in the upper gastrointestinal tract and the bladder. The largest study addressing the secondary neoplasms in long-term survivors of testicular cancer was conducted by Travis et al [26]; they reported 1,406 secondary cancers among 29,000 patients and a 1.43 observed-to-expected ratio of developing a secondary tumor. Although the changes in field size and RT dose over the last 20 years have brought about a better tolerance with limited side effects, the concerns related to the risk of long-term toxicity should not be ignored or neglected.

Conclusions

Synchronous bilateral germ cell tumors remain rare among testicular malignancies and each patient requires a tailored treatment, because only few data on the optimal management exist nowadays. The correlation with prior cryptorchidism is actually controversial, as the results vary widely among the studies. Although patients with synchronous bilateral germ cell tumors present with a higher stage disease, they usually have an excellent prognosis. In order to avoid hormonal deficit and, consequently, further decline in quality of life, testis sparing surgery instead of bilateral orchiectomy should be performed in accurately selected cases. Patients with unilateral germ cell tumor require careful long-term monitoring of the remaining testicle due to a significantly increased risk of contralateral disease.

References

1. Patel SR, Richardson RL, Kyols L. Synchronous and metachronous bilateral testicular tumors: Mayo Clinic experience. *Cancer* 1990; 65(1): 1–4.

2. Coogan CL, Foster RS, Simmons GR et al. Bilateral testicular tumors: management and outcome in 21 patients. *Cancer* 1998; 83(3): 547–552.
3. Theodore C, Terrier-Lacombe MJ, Laplanche A et al. Bilateral germ-cell tumours: 22-year experience at the Institut Gustave Roussy. *Br J Cancer* 2004; 90(1): 55–59.
4. Che M, Tamboli P, Ro JY et al. Bilateral testicular germ cell tumors: twenty-year experience at M.D. Anderson Cancer Center. *Cancer* 2002; 95(6): 1228–1233.
5. Garner MJ, Turner MC, Ghadirian P et al. Epidemiology of testicular cancer: an overview. *Int J Cancer* 2005; 116(3): 331–339.
6. García MA, Gutiérrez GJ, Ortiz LGE et al. Synchronous bilateral testicular seminoma in an adult patient with bilateral cryptorchidism: a case report and literature review. *Actas Urol Esp* 2010; 34(2): 210–211.
7. Gilbert JB, Hamilton JB. Studies in malignant tumors of the testis. IV. bilateral testicular cancer. Incidence, nature, and bearing upon management of the patient with a single testicular cancer. *Cancer Res* 1942; 2: 125–129.
8. Aristizabal S, Davis JR, Miller RC et al. Bilateral primary germ cell testicular tumors: report of four cases and review of the literature. *Cancer* 1978; 42(2): 591–597.
9. Holzbeierlein JM, Sogani PC, Sheinfeld J. Histology and clinical outcomes in patients with bilateral testicular germ cell tumors: the Memorial Sloan Kettering Cancer Center experience 1950 to 2001. *J Urol* 2003; 169(6): 2122–2125.
10. Kanetsky PA, Mitra N, Vardhanabhuti S et al. Common variation in KITLG and at 5q31.3 predisposes to testicular germ cell cancer. *Nat Genet* 2009; 41(7): 811–815.
11. Korkola JE, Houldsworth J, Feldman DR et al. Identification and validation of a gene expression signature that predicts outcome in adult men with germ cell tumors. *J Clin Oncol* 2009; 27(31): 5240–5247.
12. Morales-Barrera R, Valverde C, Rodón J et al. Bilateral testicular germ cell tumours: a single hospital experience. *Clin Transl Oncol* 2010; 12(4): 299–302.
13. Richie JP. Simultaneous bilateral tumors with unorthodox management. *World J Urol* 1984; 2: 74.
14. Heidenreich A, Weissbach L, Höltl W et al. Organ sparing surgery for malignant germ cell tumor of the testis. *J Urol* 2001; 166(6): 2161–2165.
15. Klatte T, De Martino M, Arensmeier K et al. Management and outcome of bilateral testicular germ cell tumors: a 25-year single center experience. *Int J Urol* 2008; 15(9): 821–826.
16. Tekin A, Aygun YC, Aki FT et al. Bilateral germ cell cancer of the testis: a report of 11 patients with a long-term follow-up. *BJU Int* 2000; 85(7): 864–868.
17. Tomita E, Kondo T, Nakazawa H et al. Successful testis preservation for bilateral testicular tumors with a new chemotherapy-based protocol: initial results of three cases. *Int J Urol* 2007; 14(9): 879–882.
18. van Basten JP, Hoekstra HJ, van Driel MF et al. Cisplatin-based chemotherapy changes the incidence of bilateral testicular cancer. *Ann Surg Oncol* 1997; 4(4): 342–348.
19. Bokemeyer C, Schmoll HJ, Schöffski P et al. Bilateral testicular tumours: prevalence and clinical implications. *Eur J Cancer* 1993; 29A(6): 874–876.
20. Oliver RT, Mason MD, Mead GM et al. Radiotherapy versus single-dose carboplatin in adjuvant treatment of stage I seminoma: a randomized trial. *Lancet* 2005; 366(9482): 293–300.
21. Pamentier B, De Bono JS, Brown IL et al. Bilateral testicular cancer: a preventable problem? Experience from a large cancer centre. *BJU Int* 2003; 92(1): 43–46.
22. García-del-Muro X, Maroto P, Gumà J et al. Chemotherapy as an alternative to radiotherapy in the treatment of stage IIA and IIB testicular seminoma: a Spanish Germ Cell Cancer Group Study. *J Clin Oncol* 2008; 26(33): 5416–5421.
23. Winter C, Albers P. Testicular germ cell tumors: pathogenesis, diagnosis and treatment. *Nat Rev Endocrinol* 2011; 7(1): 43–53.
24. Classen J, Schmidberger H, Meisner C et al. Radiotherapy for stages IIA/B testicular seminoma: final report of a prospective multicenter clinical trial. *J Clin Oncol* 2003; 21(6): 1101–1106.
25. Schmidberger H, Bamberg M, Meisner C et al. Radiotherapy in stage IIA and IIB testicular seminoma with reduced portals: a prospective multicenter study. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1997; 39(2): 321–326.
26. Travis LB, Fossa SD, Schonfeld SJ et al. Second cancers among 40,576 testicular cancer patients: focus on long-term survivors. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97(18): 1354–1365.

Je ten istý tyrozín-kinázový inhibítor efektívny aj po vzniku mozgových metastáz? Kazuistika

Is the Same Tyrosine Kinase Inhibitor Still Effective After Development of Brain Metastases? A Case Report

Obertová J., Mego M., Palacka P., Rajec J., Chovanec M., Mardiak J.

II. onkologická klinika LF UK a Národný onkologický ústav, Bratislava

Súhrn

Od uvedenia nových biologických cieľených liekov (tyrozín-kinázových inhibítorov a mammalian target of rapamycin (mTOR) inhibítorov) do liečby renálneho karcinómu sme svedkami éry nových liečebných možností. U pacientov so vznikom mozgových metastáz pretrváva dilema ohľadne ďalšieho optimálneho liečebného postupu špeciálne u podskupiny pacientov bez progresie mimo centrálného nervového systému. Cieľom prezentovanej kazuistiky je poukázať, že je možné pokračovať v tej istej liečbe cieľeným liekom u pacienta po vzniku mozgových metastáz, ktorému bola aplikovaná lokálna rádioterapia na mozgové metastázy, s dosiahnutím zmysluplného celkového prežívania.

Kľúčové slová

renálny karcinóm – mozgové metastázy – cieľená liečba – sunitinib

Summary

There is a new era of treatment options since introduction of new biological targeted therapies (tyrosine kinase inhibitors (TKIs) and mammalian target of rapamycin (mTOR) inhibitors) in renal cell cancer. However, in patients who developed brain metastases, there is still treatment dilemma about an optimal therapeutic scenario, particularly in the subgroup of patients without disease progression outside the central nervous system. The objective of this case report is to present that it is possible to continue the same targeted therapy after development of brain metastasis after application of local whole brain irradiation with meaningful overall survival.

Key words

renal cell cancer – brain metastases – targeted therapy – sunitinib

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 Obertová

II. onkologická klinika LF UK
Národný onkologický ústav
Klenová 1

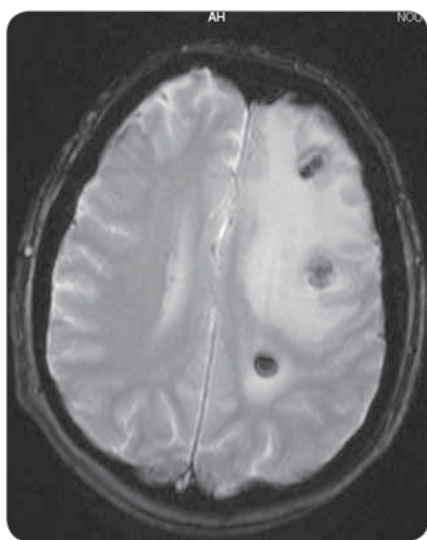
833 10 Bratislava
Slovenská republika
e-mail: jobert878@gmail.com

Obdrženo/Submitted: 3. 4. 2013

Přijato/Accepted: 23. 4. 2013

Úvod

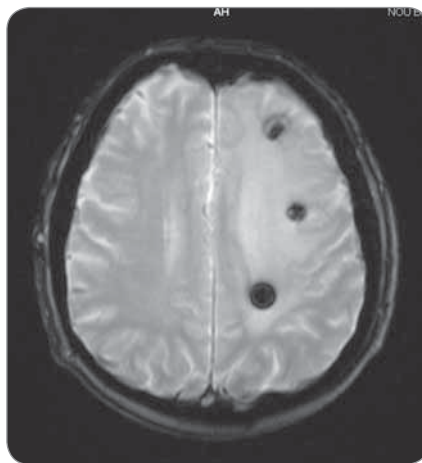
Od roku 2006 po uvedení na trh prvých tyrozín-kinázových inhibítorov nastalo významné zlepšenie liečebných výsledkov u pacientov s lokálne pokročilým alebo metastatickým renálnym karcinómom. U pacienta liečeného tyrozín-kinázovým inhibítorom, u ktorého dôjde k vzniku mozgových metastáz bez progresie mimo centrálného nervového systému, zostáva dilemma ohľadne ďalšieho optimálneho liečebného postupu.



Obr. 1. Magnetická rezonancia mozgu 13. 6. 2008.

Kazuistika

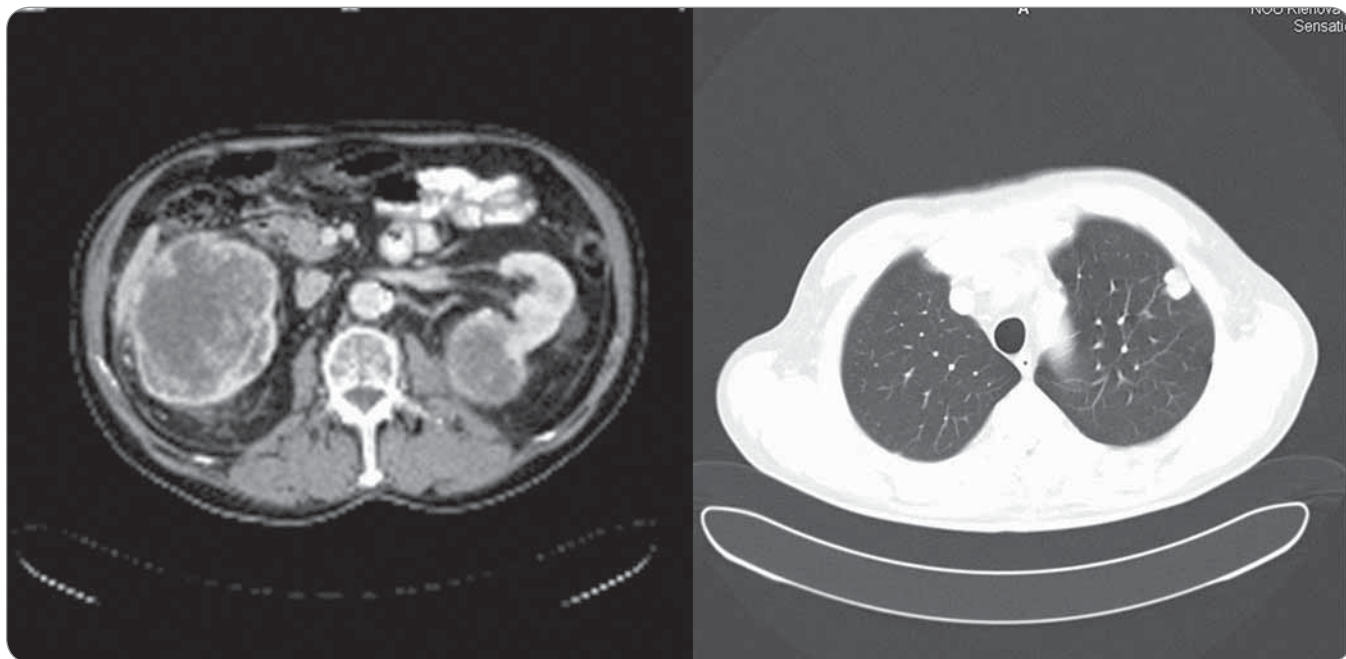
Cieľom kazuistiky je prezentácia prípadu 70-ročného muža s anamnézou dobre kontrolovanej arteriálnej hypertenzie na liečbe nitrendipinom, ktorému vo februári 2007 bol zistený bilaterálny nádor obličiek. Podľa vstupného CT vyšetrenia u pacienta boli prítomné rozsiahle tumory na oboch obličkách (veľkosti 80 a 120 mm) a mnohopočetné pľúcne metastázy (do 25 mm). Biopsia najväčšieho tumoru na ľavej obličke potvrdila diagnózu svetlobunkového renálneho karcinómu so stredným stupňom diferenciácie (stupeň 2). Pacient bol vo vý-



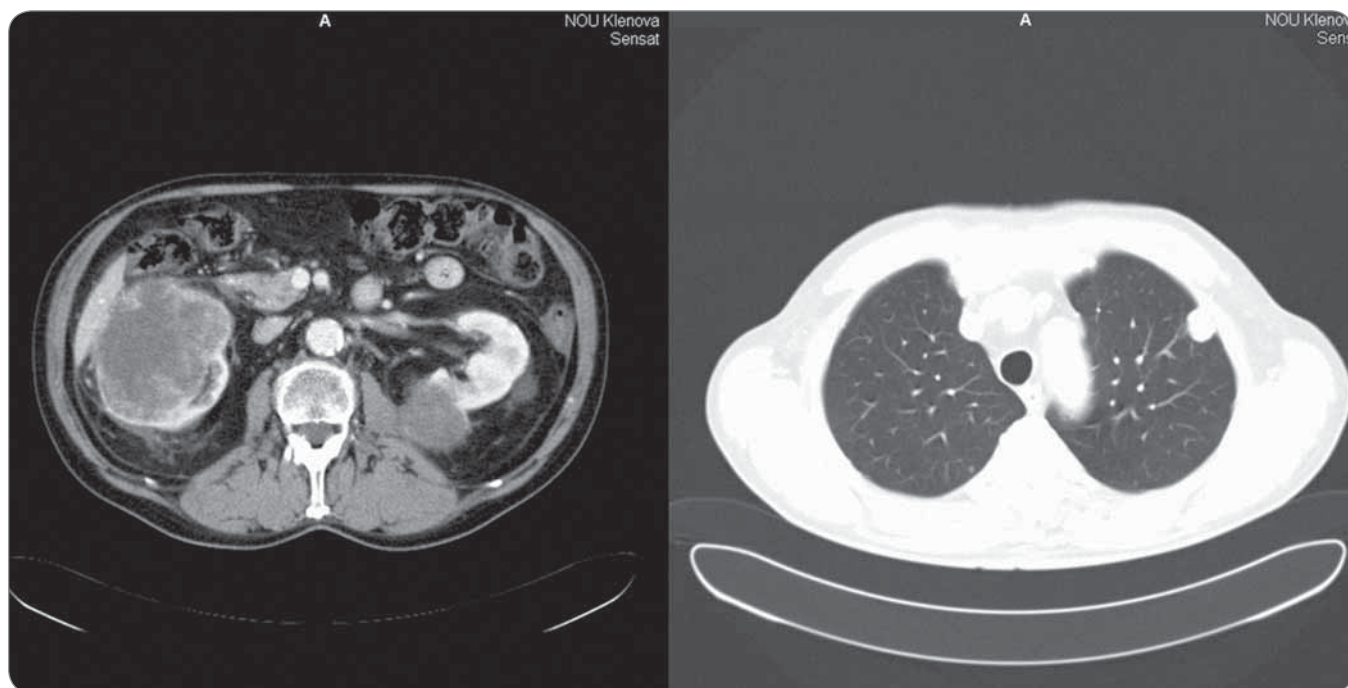
Obr. 2. Magnetická rezonancia mozgu 3. 9. 2008.

bornom výkonnostnom stave a podľa Memorial Sloan-Kettering Cancer Center (MSKCC) prognostických kritérií patril do strednej prognostickej rizikovej skupiny [1]. U pacienta nebola realizovaná nefrektómia a v čase stanovenia diagnózy mal metastatické štádium ochorenia.

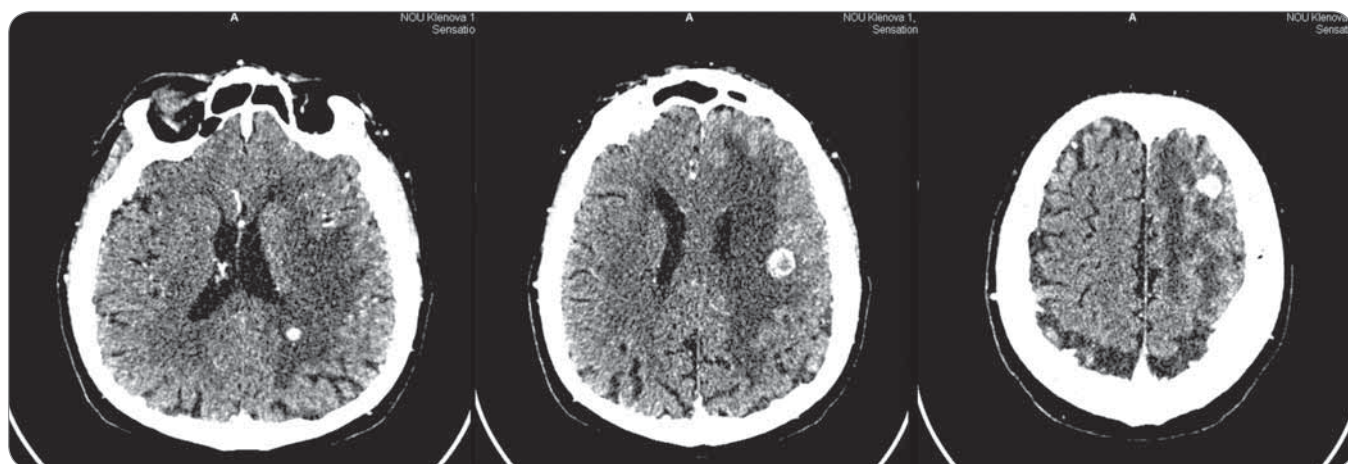
Od marca do mája 2007 bol u pacienta podávaný interferón α v klasickom dávkovaní 9 MIU s.c. 3-krát týždenne, nakoľko v tom čase tyrozín-kinázový inhibítor na Slovensku nebol dostupný. Táto liečba nebola účinná a u pacienta došlo k progresii pľúcnych metastáz aj tumorov na oboch obličkách. V júli 2007 bola zahájená liečba sunitinibom v štandardnom dávkovacom režime 50 mg denne počas štyroch týždňov s 2-týždňovou pauzou. Najlepšia dosiahnutá odpoveď bola parciálna remisia zaznamenaná po jednom roku liečby sunitinibom s výrazným zmenšením počtu a veľkosti pľúcnych metastáz a so zmenšením a zmenou vzhľadu na výrazne hypodenzné obličkové metastázy. Liečba bola dobre tolerovaná, dominujúcou toxicitou bolo zhoršenie hypertenzie na stupeň 3 podľa hodnotiacich kritérií nežiadúcich účinkov verzia 4.0 s potrebou pridania druhého antihypertenzíva (ramipril) a subklinická hypotyreóza bez nutnosti substituenej liečby [2].



Obr. 3. CT vyšetrenie hrudníka a abdomenu 4. 2. 2009.



Obr. 4. CT vyšetrenie hrudníka a abdomenu 16. 4. 2009.



Obr. 5. CT vyšetrenie mozgu 12. 7. 2009.

Začiatkom júna 2008 u pacienta vznikla expresívna afázia s miernou pravostrannou hemiparézou. CT vyšetrenie mozgu a následne vyšetrenie magnetickou rezonanciou (13. 6. 2008) potvrdilo nález mnohopočetných mozgových metastáz so známami zakrvácania a rozsiahlym peritumorálnym edémom (obr. 1). U pacienta bola zahájená antiedematózna liečba dexametazónom, liečba sunitinibom bola prerušená a bola aplikovaná celomozgová externá rádioterapia v celkovej dávke 30 Gy počas 10 frakcií. U pacienta došlo ku kompletnej úprave expresívnej afá-

zie a pravostrannej hemiparézy, avšak vzhľadom na pretrvávajúci peritumorálny edém okolo reziduálnych mozgových metastáz (kontrolná magnetická rezonancia mozgu 3. 9. 2008) (obr. 2) bola liečba dexametazónom podávaná až do konca októbra 2008 s veľmi pozvoľným znižovaním dávky.

U pacienta vzhľadom na pretrvávajúci dobrej kontroly ochorenia mimo centrálného systému (trvanie parciálnej remisie v pľúcach a obličkách) sme sa rozhodli po aplikovaní lokálnej rádioterapie pokračovať v liečbe sunitinibom. Od novembra 2008 do júla 2009 nepotrebo-

val žiadnu antiedémovú liečbu, bol vo výbornom výkonnostnom stave a bol schopný aktívne pracovať ako profesor na univerzite vrátane prednášok. Tolerancia liečby sunitinibom bola naďalej veľmi dobrá a nelíšila sa od obdobia pred vznikom mozgových metastáz. Opakované kontrolné CT vyšetrenia hrudníka a abdomenu potvrdilo pretrvávajúcu dobrú kontrolu ochorenia mimo centrálného nervového systému (obr. 3, 4).

12. 7. 2009 u pacienta došlo k recidíve pôvodných neurologických ťažkostí: objavila sa expresívna afázia a mierna pravostranná hemiparéza. CT vyšetrenie

mozgu preukázalo progresiu pôvodných reziduálnych mozgových metastáz so známami zakrvácania a výrazným peritumorálnym edémom v kombinácii s postiradiačnými zmenami (obr. 5). Pacientovi bola započatá antiedematózna terapia s dexametazónom. Po troch dňoch došlo k úprave expresívnej afázie, ale u pacienta stále pretrvávala mierna pravostranná hemiparéza a celková slabosť. 20. 8. 2009 sa jeho zdravotný stav dramaticky zhoršil, bol hospitalizovaný s poruchou vedomia. Stav sa napriek symptomatickej liečbe a eskalovanej antiedematózne liečbe už nepodarilo ovplyvniť a 27. 8. 2009 pacient zomrel za príznakov centrálneho zlyhania podmieneného kombináciou progresie mozgových metastáz a postiradiačnej leukoencefalopatie. Celkové prežívanie od stanovenia diagnózy dosiahlo 30,8 mesiaca, liečba sunitinibom trvala 25,8 mesiaca a pacient žil od zistenia mozgových metastáz 14,7 mesiaca. Až do smrti u pacienta pretrvávala parciálna remisia extrakraniálnej choroby na pľúcach a obličkách.

Diskusia

Renálny karcinóm patrí medzi nádory s častým výskytom mozgových metastáz [3,4]. Medián celkového prežívania dosahuje 3–6 mesiacov po vzniku mozgových metastáz [5], aj keď anekdoticky bol publikovaný aj dlhší medián celkového prežívania [6]. Kumulatívna incidencia mozgových metastáz počas liečby sunitinibom podľa údajov zo zväčša malých retrospektívnych súborov a kazuistik varíruje medzi 7 a 10 % [7,8].

Retrospektívna analýza všetkých hodnotiteľných pacientov liečených v ére biologickej cielenej liečby od novembra 2007 do novembra 2012 na II. onkologickej klinike LF UK a Národného onkologického ústavu v Bratislave preukázala 10,6% (20 pacientov z 189) kumulatívnu incidencia počas liečby sunitinibom. Naše dáta v zhode s publikovanými dátami naznačujú, že sunitinib výraznejšie neznižuje incidencia mozgových metastáz.

Je len málo dát o prenikaní sunitinibu a iných tyrozín-kinázových inhibítorov cez hemato-encefalickú bariéru do mozgu. Štúdie na zvieratách naznačujú, že sunitinib v určitom rozsahu pre-

niká cez hemato-encefalickú bariéru [9]. Z publikovaných dát sa zdá, že sunitinib aj u ľudí dokáže udržať pod kontrolou mozgové metastázy. Publikované kazuistiky naznačujú, že solitárne alebo len v malom počte prítomné mozgové metastázy môžu dobre odpovedať na liečbu sunitinibom s dosiahnutím parciálnej až kompletnej remisie bez predchádzajúcej aplikácie lokálnej liečby na mozgovú metastázu (rádioterapie alebo operácie) [10,11]. Dosiaľ najväčší publikovaný súbor pacientov s mozgovými metastázami liečených sunitinibom pochádza z rozšíreného prístupového programu [12]. Do štúdie bolo zaradených 4 371 pacientov, z ktorých 321 pacientov (7,3 %) malo mozgové metastázy. U 213 pacientov s mozgovými metastázami sa dala hodnotiť efektívnosť liečby. Pri liečbe sunitinibom 12 % pacientov s mozgovými metastázami dosiahlo objektívnu odpoveď a 52 % stabilizáciu v trvaní viac ako tri mesiace. Medián prežívania bez progresie u tejto podskupiny pacientov bol 5,6 mesiaca a celkové prežívanie bolo 9,2 mesiaca. Na porovnanie, hodnotiteľných 3 251 pacientov bez mozgových metastáz malo 19 % odpovedí, 59 % stabilizácií, medián prežívania bez progresie 11,1 mesiaca a medián celkového prežívania 19,1 mesiaca. Z publikovanej štúdie nie je jasné, či pacienti s mozgovými metastázami pred zahájením sunitinibovej liečby mali aplikovaný nejaký typ lokálnej liečby.

Dáta z jednej malej retrospektívnej štúdie naznačujú, že sunitinib môže mať antiedematózne účinky [13], a tak maskovať preexistujúce mozgové metastázy. Tento fenomén bol tiež pozorovaný aj v práci Helgasona et al [7]. U väčšiny pacientov so vznikom mozgových metastáz počas liečby sunitinibom sa neurologické príznaky prejavili a boli diagnostikované počas dvojtýždňovej pauzy v sunitinibovej liečbe. U nášho pacienta sme pozorovali podobný úkaz, rozvoj neurologických ťažkostí nastal v druhom týždni pauzy v sunitinibovej liečbe.

Naša skúsenosť naznačuje, že je bezpečné pokračovať v liečbe sunitinibom u pacienta so vznikom mozgových metastáz v prípade dobrej kontroly extrakraniálnej systémovej choroby a sunitinib si môže zachovať efektívnosť aj po

vzniku mozgových metastáz. Náš pacient žil od diagnostikovania mozgových metastáz 14,7 mesiaca so zachovanou stabilizáciou choroby, čo môže naznačovať aktivitu sunitinibu v centrálnom nervovom systéme. Liečba sunitinibom trvala 25,8 mesiaca a celkové prežívanie dosiahlo 30,8 mesiaca.

Dosiaľ publikované dáta naznačujú, že je bezpečnejšie liečbu sunitinibom počas externej rádioterapie mozgu pozastaviť a v liečbe pokračovať až po ukončení lokálnej liečby. Fenomén pseudoprogresie ako následku toxicity z kombinovanej liečby sunitinibom alebo sorafenibom spolu s rádioterapiou mozgu je charakterizovaný intrakraniálnou symptomatológiou, peritumorálnym edémom s reverzibilným nárastom kontrastného sýtenia pri vyšetrení magnetickou rezonanciou [14], čím imituje progresiu. U nášho pacienta sme liečbu sunitinibom počas externej rádioterapie mozgu prerušili a v liečbe sme znovu pokračovali až po ukončení lokálnej liečby a fenomén pseudoprogresie sme nepozorovali.

Záver

Mozgové metastázy patria k obzvlášť devastujúcim vzdialeným metastázam s výrazne negatívnym vplyvom na celkové prežívanie. Výber liečby po vzniku mozgových metastáz predstavuje liečebnú dilemu ohľadne ďalšieho optimálneho liečebného postupu. Naša kazuistika podporuje liečebnú možnosť pokračovať v terapii tým istým cieľným liekom, ak nie sú známky extrakraniálnej progresie.

Literatúra

1. Motzer RJ, Bacc J, Murphy BA et al. Interferon-alfa as a comparative treatment for clinical trials of new therapies against advanced renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2002; 20(1): 289–296.
2. Cancer.gov [homepage on the Internet]. National Cancer Institute Common Terminology Criteria for adverse events, version 4.0. U.S. Department of health and human services. Published: May 28, 2009. Available from: http://ctep.cancer.gov/protocolDevelopment/electronic_applications/ctc.htm#ctc_4.0.
3. Schouten LJ, Rutten J, Huveneers HA et al. Incidence of brain metastasis in a cohort of patients with carcinoma of the breast, colon, kidney, and lung and melanoma. *Cancer* 2002; 94(10): 2698–2705.
4. Remon J, Lianes P, Martínez S. Brain metastases from renal cell carcinoma. Should we change the current standard? *Cancer Treat Rev* 2012; 38(4): 249–257.
5. Wróński M, Maor MH, Davis BJ et al. External radiation of brain metastases from renal carcinoma: A retrospective

study of 119 patients from the M. D. Anderson Cancer Center. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1997; 37(4): 753–759.

6. Sheehan JP, Sun MH, Kondziolka D et al. Radiosurgery in patients with renal cell carcinoma metastasis to the brain: Long-term outcomes and prognostic factors influencing survival and local tumor control. *J Neurosurg* 2003; 98(2): 342–349.

7. Helgason HH, Mallo HA, Droogendijk H et al. Brain metastases in patients with renal cell cancer receiving new targeted treatment. *J Clin Oncol* 2008; 26(1): 152–154.

8. Larkin JM, Hess V, Pickering LM et al. Symptomatic brain metastases from renal cell carcinoma during treatment

with sunitinib or sorafenib. *J Clin Oncol* 2010; 28 (Suppl 15): abstr. e15023.

9. Patyna S, Peng G. Distribution of sunitinib and its active metabolite in brain and spinal cord tissue following oral or intravenous administration in rodents and monkeys. *Eur J Cancer* 2006; 4: 21–22.

10. Koutras AK, Krikelis D, Alexandrou N et al. Brain metastasis in renal cell cancer responding to sunitinib. *Anticancer Res* 2007; 27(6C): 4255–4257.

11. Zeng H, Li X, Yao J et al. Multifocal brain metastases in clear cell renal cell carcinoma with complete response to sunitinib. *Urol Int* 2009; 83(4): 482–485.

12. Gore ME, Hariharan S, Porta C et al. Sunitinib in metastatic renal cell carcinoma patients with brain metastases. *Cancer* 2011; 117(3): 501–509.

13. Batchelor TT, Sorensen AG, di Tomaso E et al. AZD2171, a pan-VEGF receptor tyrosine kinase inhibitor, normalizes tumor vasculature and alleviates edema in glioblastoma patients. *Cancer Cell* 2007; 11(1): 83–95.

14. Kelly PJ, Weiss SE, Sher DJ et al. Sunitinib-Induced pseudoprogression after whole-brain radiotherapy for metastatic renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2010; 28(25): e433–e435.

Týdenní vs dvoutýdenní aplikace cetuximabu v léčbě metastatického kolorektálního karcinomu – aktuální klinická data

Němeček R.

Klinika komplexní onkologické péče, Masarykův onkologický ústav, Brno

Úvod

Léčba metastatického kolorektálního karcinomu (mCRC) je v současné době jednou z nejvíce diskutovaných oblastí na poli solidní onkologie. Oproti dřívějším omezeným možnostem léčby paliativní chemoterapií (5-fluorouracil, leukovorin, irinotekan, oxaliplatin) se v posledních cca 10 letech pozornost odborné veřejnosti zaměřuje na dvě zásadní otázky, kterými jsou: 1. role a efektivita cílené léčby a 2. role multidisciplinárního týmu v léčbě diseminovaného onemocnění (metastasektomie, případně lokální intervenční metody – radiofrekvenční ablace, chemoembolizace, cílená stereotaktická radioterapie). Tzv. cílená léčba mCRC je zaměřena na ovlivnění dvou základních receptorů – receptoru pro epidermální růstový faktor (EGFR) monoklonálními protilátkami (cetuximab nebo panitumumab) a receptoru pro vaskulární endotelový růstový faktor (VEGF) monoklonální protilátkou (bevacizumab) nebo inhibitorem VEGF (aflibercept). Bylo prokázáno, že nejlepšího efektu dosáhneme kombinací cílené léčby s chemoterapií, která se podává ve většině případů ve dvoutýdenním intervalu. Zatímco pro panitumumab, bevacizumab i aflibercept je dvoutýdenní aplikace současně s chemoterapií FOLFOX či FOLFIRI standardem, cetuximab byl ve většině registračních studií podáván 1krát týdně. Možnost dvoutýdenního podávání cetuximabu na základě dostupných dat z klinických studií se věnuje toto sdělení.

Cetuximab weekly či biweekly – data z klinických studií u chemorefrakterních pacientů

Cetuximab je IgG1 chimérická monoklonální protilátka proti receptoru pro epidermální růstový faktor (EGFR), který je zvýšeně exprimován na buňkách mCRC. Cetuximab kompetitivně inhibuje navázání přirozených ligandů na EGFR, čímž stimuluje internalizaci a degradaci EGFR a následnou inhibici onkogenní downstream signalizace směrem k jádru buňky.

Týdenní aplikace cetuximabu vycházela z původních farmakokinetických dat ze studií fáze I. Plné saturace receptoru bylo dosaženo týdenními dávkami nad 200 mg/m² [1], což vedlo k nastolení známého schématu aplikace nasycovací dávky 400 mg/m² následované týdenním podáváním dávky 250 mg/m². Toto dávkovací schéma bylo využíváno ve většině studií druhé a třetí fáze a následně i v klinické praxi.

Farmakoklinická data cetuximabu však biweekly aplikaci umožňují [2]. Dvoutýdenní podávání cetuximabu bylo prověřováno v rámci dvoudílné dávkově-eskalační studie I. fáze u nepředléčených pacientů s mCRC [3]. Z první části této studie vyplynul jednoznačný závěr, že cetuximab lze podávat efektivně a bezpečně i biweekly v dávce 400–700 mg/m², přičemž pro následující studie byla doporučena dávka 500 mg/m². Výsledky několika dalších klinických studií pak účinnost a bezpečnost biweekly aplikace cetuximabu u pacientů s chemorefrakterním mCRC potvrdily [4–10].

Článek byl podpořen firmou Merck Serono.

This article was supported by Merck Serono.



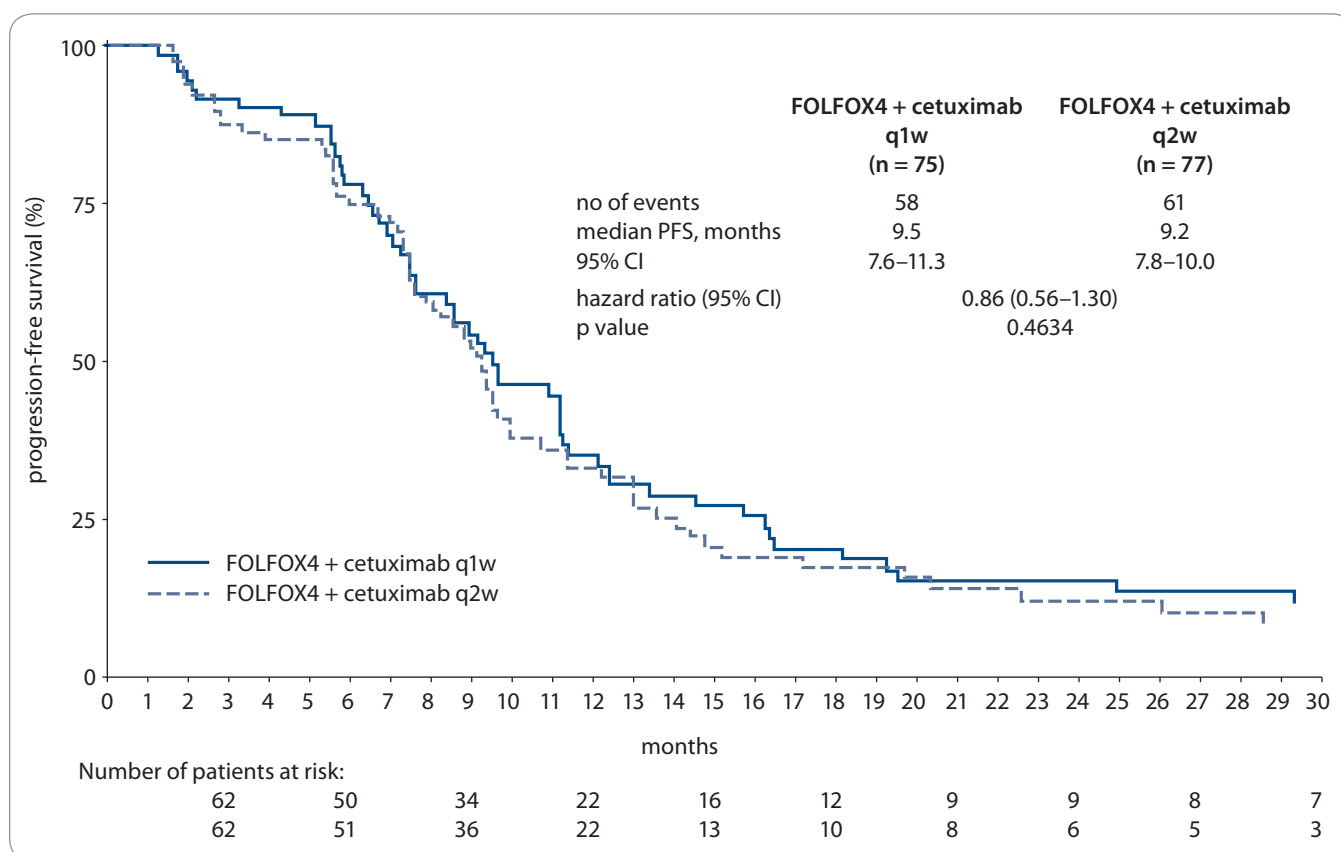
MUDr. Radim Němeček

Klinika komplexní onkologické péče
Masarykův onkologický ústav
Žlutý kopec 7
656 53 Brno
e-mail: nemecek@mou.cz

Cetuximab biweekly v kombinaci s režimem FOLFOX4 v první linii léčby mCRC – aktuální studie evropské skupiny CECOG

Efektivita a bezpečnost dvoutýdenní aplikace cetuximabu při podávání v první linii léčby mCRC byla ověřena v randomizované studii fáze II s názvem „**FOLFOX4 plus cetuximab administered weekly or every second week in the first-line treatment of patients with KRAS wild-type metastatic colorectal cancer: a randomized phase II CECOG study**“, která byla publikována v *Annals of Oncology* v dubnu roku 2013 [11].

Do studie bylo v období od září 2007 do září 2009 randomizováno 163 pacientů ze 22 onkologických center ve 12 zemích Evropy. Jednalo se o pacienty s metastatickým kolorektálním karcinomem nevhodné k metastasektomii (s kurativním záměrem). U 152 pacientů byla vyloučena mutace v onkogenu *KRAS*, která predikuje rezistenci k anti-EGFR terapii. Pacienti byli randomizováni v poměru 1 : 1 do léčebných ramen FOLFOX4 + cetuximab weekly (75 pacientů) vs FOLFOX4 + cetuximab biweekly (77 pa-



Graf 1. Přežití bez známek progresu onemocnění u wt-KRAS populace. Upraveno dle [11].

cientů). Demografické charakteristiky pacientů byly v obou ramenech vyrovnané. Rovněž léčebná expozice cetuximabu byla srovnatelná v obou ramenech (relativní dávkové intenzity nad 80 % bylo dosaženo u 79 % pacientů). Zatímco redukce dávek byla poněkud častější v rameni s dvoutýdenní aplikací cetuximabu (30 % vs 25 %), v rameni s týdenním podáváním byly zaznamenány mírně častější odklady léčby. *BRAF* mutace byla detekována u 14 ze 148 vyšetřovaných pacientů, tj. u 9 % vyšetřované populace, což je ve shodě s běžně uváděnou mutační frekvencí u pacientů s mCRC.

Primárním cílem studie byla četnost léčebných odpovědí (response rate – RR), která byla mírně vyšší u pacientů s biweekly aplikací (62 %) oproti pacientům s aplikací weekly (53 %), rozdíl však nebyl statisticky signifikantní. Stejně tak léčebný benefit (resp. disease control rate – DCR, tj. CR + PR + SD) byl v obou ramenech vyrovnaný. 5 % pacientů ve weekly schématu a 10 % pacientů v biweekly schématu aplikace cetuximabu podstoupilo následnou R0 resekci metastáz.

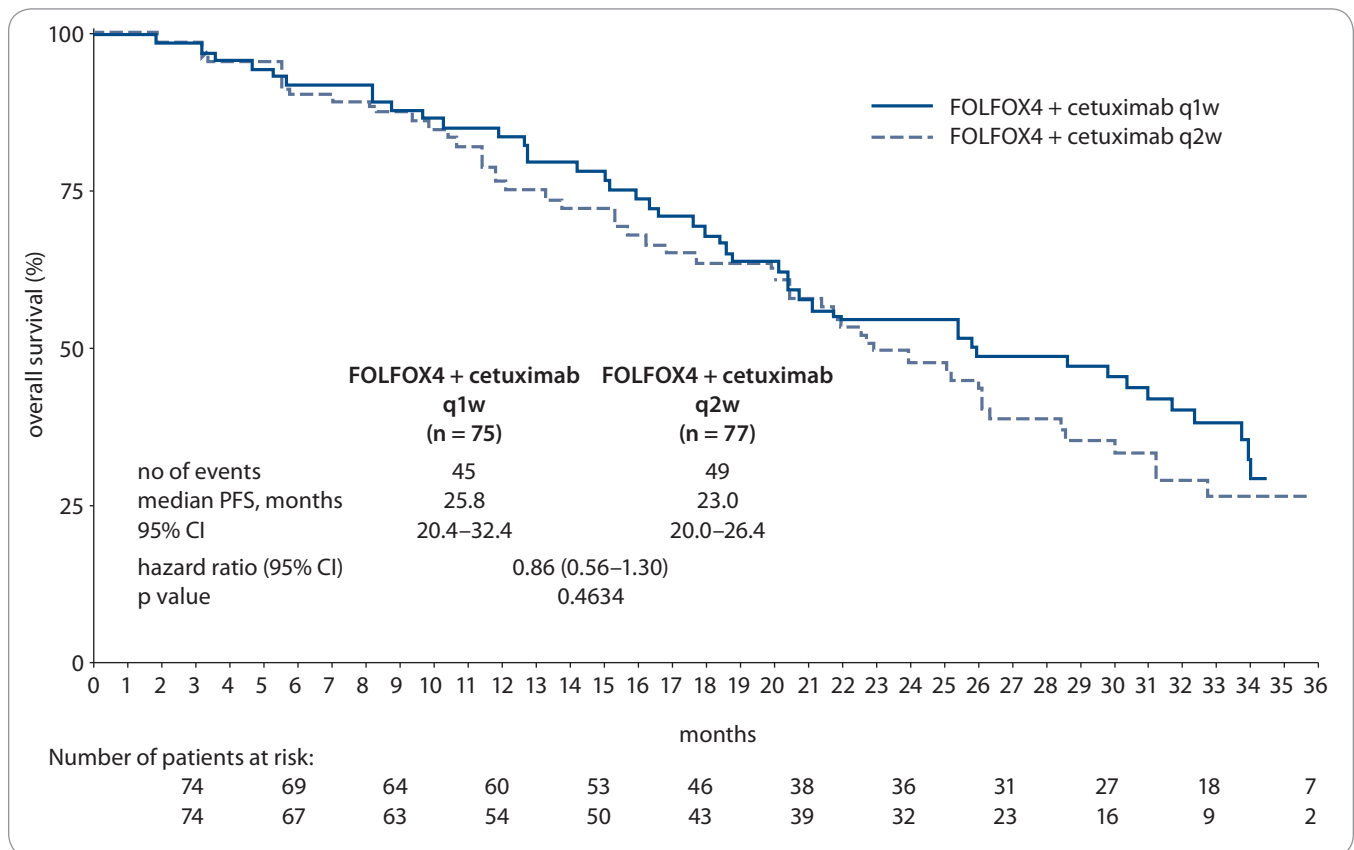
Při mediánu follow-up 31,3 měsíců v rameni s weekly aplikací a 28,7 měsíců v rameni s biweekly aplikací nebyl potvrzen statisticky signifikantní rozdíl ani v mediánu doby do progresu onemocnění (mPFS 9,5 vs 9,2 měsíců, HR = 0,92) (graf 1), ani v mediánu celkového přežití (mOS 25,8 vs 23,0 měsíců, HR = 0,86) (graf 2). Multivariační analýza odhalila následující nezávislé faktory pro PFS a OS: počet postižených orgánů, celkový stav pacienta (performance status – PS), předchozí adjuvantní chemoterapie a součet nejdelších rozměrů cílových lézí.

Toxicita léčby se nelišila od běžně uváděných údajů – mezi nejčastější nežádoucí účinky léčby patřily vyrážka (64 % u weekly vs 68 % u biweekly aplikace), neutropenie (41 % vs 48 %), průjem (35 % vs 30 %), celková únava a vyčerpanost (25 % vs 18 %), nevolnost (20 % vs 21 %) a horečka (13 % vs 23 %). Hypomagnezemie, často zmiňovaná v souvislosti s anti-EGFR léčbou, byla detekována pouze u 3 % pacientů při aplikaci weekly a u 6 % pacientů při aplikaci biweekly, přičemž jen u dvou pacientů byla klinicky závažná (grade 3 dle NCI-CTC

kritérií). Incidence závažných nežádoucích účinků grade 3 a vyšších byla opět plně srovnatelná mezi oběma rameny. Nejčastějším nežádoucím účinkem grade 4 byla neutropenie, která byla pozorována u 16 % pacientů s weekly aplikací a 18 % pacientů s aplikací biweekly. Infuzní alergická reakce byla pozorována pouze u jednoho pacienta v rameni s dvoutýdenní aplikací cetuximabu.

Závěr

Nejnovější studie evropské skupiny CECOG potvrdila efektivitu dvoutýdenního podávání cetuximabu v kombinaci s režimem FOLFOX4 v první linii léčby mCRC. Data týkající se četnosti léčebných odpovědí, času do progresu onemocnění i celkového přežití pacientů jsou plně srovnatelná jak s výsledky týdenní aplikace cetuximabu v této studii, tak s výsledky dříve publikovaných studií fáze II a III s režimy FOLFOX a FOLFIRI [12,13]. Rovněž tolerance léčby byla při dvoutýdenním podávání cetuximabu plně srovnatelná s podáváním 1krát týdně. Určitým handicapem této studie je fakt, že



Graf 2. Celkové přežití u wt-KRAS populace. Upraveno dle [11].

nebyla statisticky designovaná na potvrzení noninferiority dvoutýdenní aplikace oproti aplikaci týdenní, ale jen na vyloučení výraznějších léčebných rozdílů. Nicméně s přihlédnutím k dříve publikovaným výsledkům klinických studií zabývajících se dvoutýdenní aplikací cetuximabu v léčbě mCRC lze noninferioritu na základě těchto dat s určitou mírou extrapolace předpokládat. Synchronizace aplikace cetuximabu s běžně používanými chemoterapeutickými režimy FOLFOX, FOLFIRI nebo dvoutýdenní aplikací irinotekanu přináší četné výhody: nejen že snižuje frekvenci ambulantních návštěv a celkovou dobu, kterou pacient stráví na lůžku (resp. v ambulantním křesle na stacionárii), ale vede i k celkovému snížení nákladů na cílenou léčbu Erbituxem, což by mělo být pozitivně vnímáno jak ze strany poskytovatelů, tak ze strany plátců péče. Určitým problémem může být znění SPC přípravku Erbitux, kde je výslovně uvedeno: „U všech indikací se Erbitux podává jednou týdně.“ V indikačním omezení pojišťovny však o frekvenci aplikace Erbituxu není zmínka. Záleží tedy

na vzájemné domluvě mezi odbornou lékařskou veřejností a plátcem péče, zda bude možné tuto po všech stránkách výhodnou dvoutýdenní formu aplikace cetuximabu převzít do běžné klinické praxe.

Literatura

- Nolting A, Fox FE, Kovar A. Clinical drug development of cetuximab, a monoclonal antibody. In: Meibohm B (ed). Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Biotech Drugs: Principles and Case Studies In Drug Development. Weinheim, Germany: Wiley VCH Verlag GmbH & Co. KGaA 2006: 353–371.
- Fracasso PM, Burris H 3rd, Arquette MA et al. A phase 1 escalating single-dose and weekly fixed-dose study of cetuximab: pharmacokinetic and pharmacodynamic rationale for dosing. Clin Cancer Res 2007; 13(3): 986–993.
- Tabernero J, Ciardiello F, Rivera F et al. Cetuximab administered once every second week to patients with metastatic colorectal cancer: a two-part pharmacokinetic/pharmacodynamic phase I dose-escalation study. Ann Oncol 2010; 21(7): 1537–1545.
- Martin-Martorell P, Rosello S, Rodriguez-Braun E et al. Biweekly cetuximab and irinotecan in advanced colorectal cancer patients progressing after at least one previous line of chemotherapy: results of a phase II single institution trial. Br J Cancer 2008; 99(3): 455–458.
- Pfeiffer P, Nielsen D, Bjerregaard J et al. Biweekly cetuximab and irinotecan as third-line therapy in patients with advanced colorectal cancer after failure to irinotecan, oxaliplatin and 5-fluorouracil. Ann Oncol 2008; 19(6): 1141–1145.
- Shitara K, Yuki S, Yoshida M et al. Phase II study of combination chemotherapy with biweekly cetuximab and irinotecan for wild-type KRAS metastatic colorectal cancer refractory to irinotecan, oxaliplatin, and fluoropyrimidines. Invest New Drugs 2012; 30(2): 787–793.
- Kang MJ, Hong YS, Kim KP et al. Biweekly cetuximab plus irinotecan as secondline chemotherapy for patients with irinotecan-refractory and KRAS wild-type metastatic colorectal cancer according to epidermal growth factor receptor expression status. Invest New Drugs 2012; 30(4): 1607–1613.
- Jensen BV, Schou JV, Johannesen HH et al. Cetuximab every second week with irinotecan in patients with metastatic colorectal cancer refractory to 5-FU, oxaliplatin, and irinotecan: KRAS mutation status and efficacy. J Clin Oncol 2010; 28 (Suppl): 7.
- Bouchahda M, Macarulla T, Liedo G et al. Feasibility of cetuximab given with a simplified schedule every 2 weeks in advanced colorectal cancer: a multicenter, retrospective analysis. Med Oncol 2011; 28 (Suppl 1): S253–S258.
- Roca JM, Alonso V, Pericay C et al. Cetuximab given every 2 weeks plus irinotecan is an active and safe option for previously treated patients with metastatic colorectal cancer. Chemotherapy 2010; 56(2): 142–146.
- Brodowicz T, Ciuleanu TE, Radosavljevic D et al. FOLFOX4 plus cetuximab administered weekly or every second week in the first-line treatment of patients with KRAS wild-type metastatic colorectal cancer: a randomized phase II CECOG study. Ann Oncol 2013; 24(7): 1769–1777.
- Bokemeyer C, Bondarenko I, Hartmann JT et al. Efficacy according to biomarker status of cetuximab plus FOLFOX-4 as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: the OPUS study. Ann Oncol 2011; 22(7): 1535–1546.
- Van Cutsem E, Köhne CH, Láng I et al. Cetuximab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: updated analysis of overall survival according to tumor KRAS and BRAF mutation status. J Clin Oncol 2011; 29(15): 2011–2019.

can for wild-type KRAS metastatic colorectal cancer refractory to irinotecan, oxaliplatin, and fluoropyrimidines. Invest New Drugs 2012; 30(2): 787–793.

- Kang MJ, Hong YS, Kim KP et al. Biweekly cetuximab plus irinotecan as secondline chemotherapy for patients with irinotecan-refractory and KRAS wild-type metastatic colorectal cancer according to epidermal growth factor receptor expression status. Invest New Drugs 2012; 30(4): 1607–1613.
- Jensen BV, Schou JV, Johannesen HH et al. Cetuximab every second week with irinotecan in patients with metastatic colorectal cancer refractory to 5-FU, oxaliplatin, and irinotecan: KRAS mutation status and efficacy. J Clin Oncol 2010; 28 (Suppl): 7.
- Bouchahda M, Macarulla T, Liedo G et al. Feasibility of cetuximab given with a simplified schedule every 2 weeks in advanced colorectal cancer: a multicenter, retrospective analysis. Med Oncol 2011; 28 (Suppl 1): S253–S258.
- Roca JM, Alonso V, Pericay C et al. Cetuximab given every 2 weeks plus irinotecan is an active and safe option for previously treated patients with metastatic colorectal cancer. Chemotherapy 2010; 56(2): 142–146.
- Brodowicz T, Ciuleanu TE, Radosavljevic D et al. FOLFOX4 plus cetuximab administered weekly or every second week in the first-line treatment of patients with KRAS wild-type metastatic colorectal cancer: a randomized phase II CECOG study. Ann Oncol 2013; 24(7): 1769–1777.
- Bokemeyer C, Bondarenko I, Hartmann JT et al. Efficacy according to biomarker status of cetuximab plus FOLFOX-4 as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: the OPUS study. Ann Oncol 2011; 22(7): 1535–1546.
- Van Cutsem E, Köhne CH, Láng I et al. Cetuximab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: updated analysis of overall survival according to tumor KRAS and BRAF mutation status. J Clin Oncol 2011; 29(15): 2011–2019.

www.artcasopis.cz



10 x ročně | 855 Kč

www.florence.cz



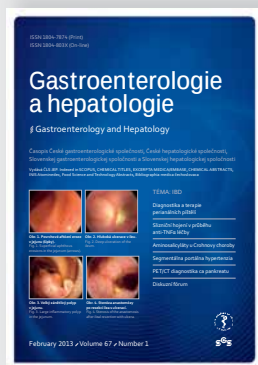
10 x ročně | 570 Kč

www.zdravky.cz



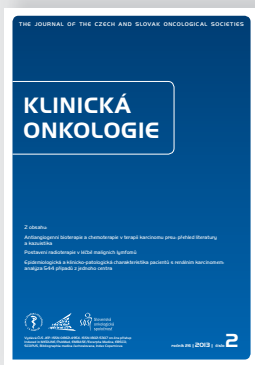
22 x ročně | 590 Kč

www.csgh.info



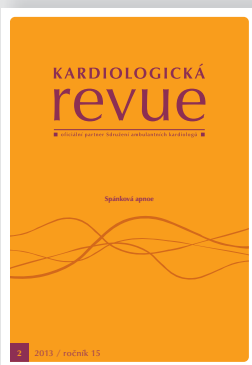
6 x ročně | 600 Kč

www.klinickaonkologie.cz



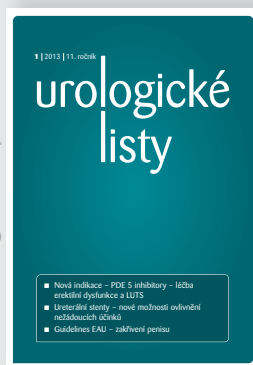
6 x ročně | 540 Kč

www.kardiologickarevue.cz



4 x ročně | 300 Kč

www.urologickelisty.cz



4 x ročně | 600 Kč

Zajímavé případy z nutriční péče v onkologii

Šachlová M.^{1,2}, Maňásek V.^{1,3}, Tomiška M.^{1,4}, Holečková P.^{1,5}, Pazdrová G.^{1,6}, Krčmová L.^{1,7}, Beneš P.^{1,8}

¹ Pracovní skupina nutriční péče v onkologii

² Gastroenterologické oddělení, Masarykův onkologický ústav, Brno

³ Komplexní onkologické centrum, Nemocnice Nový Jičín, a. s.

⁴ Interní onkologická a hematologická klinika LF MU a FN Brno

⁵ Ústav radiační onkologie, Nemocnice Na Bulovce, Praha

⁶ Onkologická klinika 1. LF UK a VFN v Praze

⁷ Úsek léčebné výživy, Masarykův onkologický ústav, Brno

⁸ Interní oddělení, Nemocnice Na Homolce, Praha



Kazuistika č. 2

Sedmašedesátiletý dosud zdravý muž byl vyšetřován pro hubnutí a tlaky v epigastriu. Jedl asi polovinu dřívější porce, za tři měsíce zhubl z 67 na 60 kg, cítil se unavený. V důsledku toho celkem očekávaně poklesl BMI na 19,6 kg/m², poklesly i hladiny krevních proteinů. Endoskopicky byl prokázán nízký diferencovaný adenokarcinom žaludku, bez průkazu generalizace a byl indikován k totální gastrektomii. Operaci samotnou absolvoval bez komplikací.

V pooperačním období byl problém s realimentací a posléze došlo k nutnosti resutury dehiscenční rány. Naneštěstí se po reoperaci stav zkomplikoval pneumonií, která ale zareagovala dobře na ATB léčbu a pacient byl propuštěn. Plánovaná adjuvantní chemoterapie byla ovšem odložena s ohledem na hmotnost 55 kg a obtíže s perorálním příjmem stravy po gastrektomii.

Nutričně-metabolický pohled

Ačkoli je příběh vzat z reálné praxe, odporoval použitý postup veškerým platným nutričním doporučením:

1. Pacient splňoval kritéria těžké malnutrice (úbytek váhy nad 10 % v třech měsících, BMI nad 65 let pod 22 kg/m², klinické i laboratorní známky podvýživy, malý perorální příjem). Byl plánován velký resekcí výkon (totální gastrektomie), který nebyl urgentní. Riziko pooperačních infekčních i ranných komplikací bylo tedy vysoké. Pacient měl být připraven alespoň 7denní nutriční přípravou, což bylo možno zajistit ambulantním vysokoproteinovým sippingem.
2. Velká resekce a vysoký stupeň podvýživy splňovaly i kritéria pro použití ambulantního imunonutričního sippingu.
3. Pacient s těžkou podvýživou a totální gastrektomií je plně indikován k pooperačnímu zavedení nazojejunální sondy k pooperační výživě.

Návrh řešení

1. Při indikaci k operaci doporučit sipping 2 balení vysokoproteinového doplňku až do výkonu (cca 2 × 20 g bílkovin a 2 × 300 kcal). Podle ochoty pacienta k vyššímu doplatku doporučit jako lepší alternativu p.o. imunonutrici (2–3 balení/den, 5–7 dní předoperačně).



MUDr. Milana Šachlová, Ph.D., CSc.
Gastroenterologické oddělení
Masarykův onkologický ústav
Žlutý kopec 7
656 53 Brno
e-mail: sachlova@mou.cz

2. Peroperačně zavést tenkou nazojejunální sondu s časnou enterální výživou běžným polymerním preparátem s vlákninou a sondovou doplňkovou výživu ponechat do plného zhojení ran a obnovení plného p.o. příjmu.
3. V situaci, jíž výše uvedená kazuistika končí, je řešením rovněž endoskopické zavedení tenké nazojejunální sondy a doplňková kontinuální enterální výživa v ambulantním režimu do stavu, který dovolí chemoterapii.

Doporučujeme ke stažení z internetu

ESPEN guidelines pro enterální výživu v chirurgii:
<http://espen.info/documents/ENSurgery.pdf>

Seznam nutričních ambulancí s kontakty: <http://www.skvim.cz/?action=changepage&value=34>

PSNPO při ČOS si dovoluje upozornit onkologickou veřejnost na novou možnost předpisu specifické formy tekuté výživy (sippingu) onkologem od 1. 7. 2013!

Předpis je omezen

- dokumentovaným nutričním rizikem (2–4 body dle dotazníku PSNPO)
- množstvím (600 kcal/den tj. 2, max. 3 ks denně)
- dobou (maximálně na 4 týdny)
- druhem přípravku (imuno-sipping)

Dimenze onkochirurgie

Sphere of Surgical Oncology

Horváth T^{1,2}

¹ Chirurgická klinika LF MU a FN Brno

² CBC Vznik s.r.o., Brno

Souhrn

Úvaha o jednotě čtyř dimenzí onkochirurgie.

Klíčová slova

chirurgická léčba – neoplazmy – přehled – premalignita – chirurgické stadium – pokročilá nemoc

Summary

The unity of essential four spheres of surgical oncology is considered.

Key words

neoplasms – surgical therapy – overview – premalignancy – surgical stage – advanced disease

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. Teodor Horváth, CSc.

Chirurgická klinika LF MU a FN Brno

Jihlavská 20

625 00 Brno

e-mail: thorvath@fnbrno.cz

Obdrženo/Submitted: 18. 2. 2013

Přijato/Accepted: 23. 2. 2013

Úvod

Onkochirurgie patří mezi nejkomplexnější dovednosti. Její existence podporuje oprávněnost konceptu jednoty poznání. Není příběhem o zlatých rukách. Je mnohem atraktivnější. Zahrnuje delikátní nakládání s cílovými tkáněmi, orgány i s celou bytostí pacienta. Souzní v ní poznání mnohovrstevné pestrosti biologických nádorových procesů kategorizované medicínou a dalšími vědami, přírodními i humánními, s důležitou účastí technologií, s nezanedbatelnými rolemi intuice a empirie – včetně práce rukou. Je tvárněna zpětnými vazbami vlastními chirurgii a interně v nejširším slova smyslu, statistikou, ekonomikou, sociologií a zřejmě i politikou.

Onkochirurg je svěbytným článkem pestrého společenství razantně angažovaných v zápase se smrtící nemocí. Ví, že řetěz má sílu nejslabšího článku, protože chirurgie je týmová práce par excellence. Ve sférách, v nichž pesimista pláče, je to horší, než vůbec chci vědět, kde optimista bezelstně naráží na novou Istivou výzvu nemoci, má se jako realista vždy

znovu rozpamatovat na tajemství úspěchu – jeden za všechny, všichni za jednoho – zařizovat věci podle toho a řetěz je náhle k nepřetrhnutí...

Jednotlivé kapitoly onkochirurgie existují o sobě – zároveň, nezávisle, na stejné hladině důležitosti – bez nadřazenosti nebo podřazenosti, bez splývání nebo rozdělování – tvořící jediný integrální celek charakterizovaný vysokou odlišností a hlubokou rovností svých složek. Přestože každá z nich reprezentuje specifickou problematiku, onkochirurgií jsou všechny. Ty kapitoly jsou čtyři. Definujeme je:

- I. chirurgie premalignity,
- II. léčba „chirurgického“ stadia nádorového onemocnění,
- III. chirurgie místně pokročilého onemocnění: paliace, sanace, devitalizace, metaintervence,
- IV. chirurgická léčba metastatického onemocnění:
 - IVa) chirurgie solitární metastázy se strategií identickou s kapitolou II,
 - IVb) chirurgie generalizované nemoci, řeší lokální problém cel-

kového dosahu se strategií podobnou sanačním a paliativním procedurám kapitoly III.

I. Chirurgie premalignity

Odstranit ložisko dříve, než vznikne rakovina, zní motto první kapitoly. Pokročilé premaligní změny znamenají riziko vzniku rakoviny ve tkáni. Biopický průkaz těžké dysplazie nutí uvažovat přítomnost malignity v daném ložisku s veškerým příslušným chirurgickým režimem práce. Jiný scénář vyžadují lehké anebo středně těžké premalignity, v dané chvíli klinicky nevýznamné. Jejich biologický vývoj v dalším období bývá těžké odhadnout, zvláště u časnějších záchytů. V této souvislosti se musíme vyrovnat s dilematem overdiagnosis/overtreatment vs underdiagnosis/undertreatment. Pojem overdiagnosis představuje klinicky irelevantní/bevýznamnou diagnózu, která nevyžaduje žádnou léčbu, čili léčba takového nálezu by byla nadbytečnou – overtreatment – jak praví obecně užívaný terminus technicus. Underdiagnosis naproti tomu zahrnuje

všechny druhy podcenění nálezu zpravidla ve spojení s nedostatečnou léčbou – undertreatment – se všemi příslušnými následky. Rozhodování nebývá lehké, ale chirurgická empirie principiální recept zná: je lépe operovat zbytečně, než pozdě. Obecným příkladem budiž diagnóza tak „prostá“, jako je appendicitis; speciálním pak plicní mincová léze.

II. Léčba „chirurgického“ stadia nádorového onemocnění

Předoperační poradenství v nejširším smyslu slova znamená nabídnout a získat všechny příslušné informace dříve, než získáme informovaný souhlas pacienta, to značí: a) komunikovat s nemocnou/nemocným respektující všechny její/jeho osobní (fyzické, psychické a spirituální), rodinné, profesní a sociální zvláštnosti; b) pěstovat stálé úzké vztahy se všemi specialisty zobrazovacích a interních metod příslušných orgánových systémů – klinickými a radiačními onkology, patology atd., s cílem nalézt optimální, obecně platné a speciálně přijatelné řešení. Teprve poté následují: c) stanovení vlastní chirurgické strategie; d) objasnění obecné organizace chirurgického řešení a speciálních detailů týkajících se konkrétního pacienta; e) to vše v souladu s nejnovějším vývojem na poli chirurgického poznání jako *conditio sine qua non*. Zbývá konstatovat, že strategie soudobé onkochirurgie zpravidla doporučuje na prvním místě uvažovat nejmenší možný, biologicky přijatelný radikální výkon s dostatečným bezpečnostním lemem zdravé tkáně ve spojení s příslušnou regionální lymfadenektomií en bloc – vyjádřený termínem kurativní resekce.

III. Chirurgie místně velmi pokročilého onemocnění: paliace, sanace, devitalizace, metaintervence

Třetí kapitolu představuje velmi heterogenní skupina chirurgických zákroků se společným jmenovatelem: lokálně značně pokročilé, radikálně převážně neřešitelné onemocnění. Procedury figurující v této kategorii reprezentují šance na důstojné dožití pro nevléčitelně nemocné se zlepšením kvality života. Výjimečně mohou být kvalifikovanou snahou o jeho radikální řešení, byť v řadě ohledů blízkou extrému.

1. Paliativní – jejichž klasickými příklady jsou: obejití inoperabilní překážky pasáže GIT entero-enteroanastomózou, rekanalizace bronchu obturovaného nádorovou masou, či arteficiální výztuha ureteru komprimovaného tumorem.
2. Sanační – odstraňující nekrotické masy tumorů mohutné sekrece, pronikavého zápachu, hrozící vykrvácením, a to (někdy) i navzdory generalizaci nádoru.
3. Devitalizační – pokoušející se o řešení rozsáhlých inoperabilních nádorů přerušením jejich cévního zásobení. I když je argumentace přívrženců devitalizace z onkologického hlediska v některých směrech neúplná, výsostně chirurgický étos ji upřít nelze. Stejně jako metaintervenci. Jistě za předpokladu *nil nocere*. Zatímco indikace paliace a sanace jsou víceméně jasné, devitalizace stále představuje *enfant terrible*.
4. Radikální zákrok ve vybraných případech lokálně extrémně pokročilé nemoci s *lege artis* vyloučením jejich vzdálených projevů představuje relativní novum. Vyžaduje transanatomickou technickou ekvilibristiku často s využitím (auto)transplantace anebo arteficiálních materiálů pro náhradu infiltrovaných magistralních struktur. Je speciální záležitostí ostřílených i v sehraných týmech špičkových center. Má zastánce i odpůrce. Indikace jsou individuální. V podstatné argumentaci se zde setkávají technická realizovatelnost s biologickou oprávněností. Vnitřní napětí tohoto typu počínání lze snad vyjádřit pojmem metaintervence.

Zásadním a globálním motivem také této kapitoly je prodloužení života a zlepšení jeho kvality s postojem, nikoliv formálním (!), důležitým v jakémkoliv stadiu onemocnění: pomoc je možná. Nejtragičtější vyjádření neporozumění našemu povolání a za žádných okolností neutuchajícího plného nasazení onkochirurgie zní: chirurg nevěděl, co má dělat.

IV. Chirurgická léčba metastatického onemocnění

IVa) Přístup k léčbě solitárních, metastatických snad ještě více než synchronních, metastáz připomíná strategii druhé kapitoly onkochirurgie – čili měl by představovat kompletní resekci s ku-

rativním záměrem. Jiní soudí na vhodnost prosté excize léze. Validní data chybí, takže východisko směrem dolů není automaticky omluvitelné a každý případ nutno posuzovat individuálně ve všech daných souvztažnostech.

IVb) Chirurgie generalizovaného nádoru, kupříkladu laserová exstirpace 10 plicních metastáz sarkomu anebo radiofrekvenční ablace pěti metastatických ložisek v játrech v rámci zmenšení nádorové masy, například před perfuzní chemoterapií, zůstávají otevřené. Mají své obhájce i protivníky. Tato kategorie zahrnuje též paliativní abdominocentézu pro nádorový ascites, či talkáž interpleurálního prostoru pro metastatickou pleurální efuzi, jež se jindy řadí k výkonům předchozího (třetího) oddílu v rámci chirurgické paliace projevů lokálně pokročilé rakoviny příslušných orgánů.

Závěr

Žádná kolektivní autorita specializované indikační komise z beder chirurgického lidu, resp. z jakéhokoliv řadového chirurga, osobní zodpovědnost za aktuální léčbu šitou na míru pacientovi – dnes se říká personalizovanou – nesejme. Kolikrát se musíme definitivně rozhodnout až v nejdramatičtější okamžiku operace. V tomto smyslu, a v souladu se vším výše uvedeným, je chirurg tedy nejenom pokornou součástí rozhodovacího řetězce, ale jako výkonný článek je nezávislý. Čím více je erudován, tím je nezávislejší a svobodnější činit přiléhavá rozhodnutí. Byť někdy nosí kůži na trh právě proto, že ví, nikoliv proto, že by nevěděl. To jej neoslabuje. Posiluje. Chirurgie nikdy neznamenal defenzivu. Chirurgie, *cheir ergein*, znamená mimo jiné informovanou, tedy zdrženlivou, ale pevnou a činorodou odvahu konat.

Literatura

1. Saclarides TJ, Millikan KW, Godellas CV (eds). *Surgical oncology: an algorithmic approach*. New York: Springer 2003.
2. Chaudry MA, Winslet MC (eds). *Surgical Oncology*. Oxford: Oxford University Press 2009.
3. Žaloudík J. *NoT ReStIng SurGEONs* aneb stručný parametrický standard pro onkochirurgii. *Rozhl Chir* 2010; 89(10): 583–587.
4. Duda M, Žaloudík J, Ryska M et al. *Chirurgická léčba solidních nádorů v České republice*. *Rozhl Chir* 2010; 89(10): 588–593.
5. Wilson EO (ed.). *Consilience: The Unity of Knowledge*. New York: Alfred A. Knopf 1998.

Oncology in Images

Giant Metastatic Testicular Tumor

Szturz P., Bednařík O., Brančíková D., Mechl Z., Mayer J.

Department of Internal Medicine, Hematology and Oncology, University Hospital Brno and Masaryk University, School of Medicine

A 53-year-old male was referred to a surgery emergency department for a suspected incarcerated inguinal hernia. Developing slowly over a period of one year, the physical examination showed a tough, right-inguinal mass (30 by 15 by 15 cm) with mild tenderness to palpation and erythematous overlying skin (Fig. 1). Furthermore, right lower extremity edema and hemiplegia on the opposite side were evident. With a general cachectic appearance (BMI = 18.9) and lethargy, the patient's other medical history was remarkable only for a smoking addiction. Laboratory investigations noted elevations of lactate dehydrogenase (46.47 ukat/L, normal range: 2.25–3.75 U/L), uric acid (610 umol/L, normal range: 202–417 umol/L), alkaline phosphatase (6.83 ukat/L, normal range: 0.67–2.15 ukat/L) and C-reactive protein (52.6 mg/L, normal range: 0–5 mg/L). Abdominal ultrasonography revealed a tumorous infiltration of the right scrotum

and pelvic area with parailiac lymphadenopathy. The pathological finding of a biopsied specimen was consistent with classical seminoma. Brain magnetic resonance imaging identified possible metastatic spread in the right basal ganglia, explaining the neurological symptomatology. The patient was not eligible for surgery and due to his poor performance status (Karnofsky score 30), he was indicated for chemotherapy in reduced dosage, which led to improved nutrition, amelioration of hemiplegia, normalization of biochemistry results and significant tumor regression (Fig. 2). Despite extensive initial tumor burden, the patient did not develop tumor lysis syndrome.

Germ cell testis tumors exceeding 400 g in weight are rare. Even in their advanced stages, cure rates exceeding 80% have been achieved using cisplatin- and carboplatin-based regimens. However, due to the side effects of cisplatin (nefro-, neuro- and oto-toxicities), carboplatin (mye-

This work was supported by project MUNI/A/0723/2012 and by MH CZ – DRO (FNBr, 65269705).



Petr Szturz, M.D., Ph.D.

Department of Internal Medicine,
Hematology and Oncology
University Hospital Brno
Jihlavská 20, 625 00 Brno
e-mail: petr.szturz@fnbrno.cz

Submitted/Obdrženo: 25. 6. 2013

losuppression) and bleomycin (pulmonary toxicity), their indications should be cautiously tailored to the patients' general state and comorbidities. Poor performance status and initial disease extent were identified as relevant adverse pretreatment factors in patients receiving chemotherapy containing cisplatin and bleomycin. Herein, we demonstrated encouraging therapy outcome in a patient with seriously impaired health due to a giant inoperable disseminated classical seminoma.



Fig. 1. Initial disease extent (January 2012).



Fig. 2. Effect of systemic chemotherapy (August 2012).

KLINICKÁ ONKOLOGIE

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

REDAKČNÍ RADA

Výkonná redakční rada (Brno)

vedoucí redaktor

doc. MUDr. Vuk Fait, CSc.

MUDr. Petr Čoupek
doc. MUDr. 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. RNDr. Ondřej Slabý, Ph.D.
RNDr. Sabina Ševčíková, Ph.D.
prof. MUDr. Jiří Vorlíček, CSc., dr. h. c.

Širší redakční rada

prof. MUDr. Zdeněk Adam, CSc., Brno
MUDr. Otakar Bednařík, CSc., Brno
doc. MUDr. Tomáš Büchler, Ph.D., Praha
prof. MUDr. David Cibula, CSc., Praha
MUDr. Karel Cwiertka, Ph.D., Olomouc
doc. MUDr. Ladislav Dušek, Ph.D., Brno
prof. MUDr. Tomáš Eckschlager, CSc., Praha
doc. 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. MUDr. Ivan Koza, DrSc., Bratislava

doc. MUDr. Jozef Madiak, CSc., Bratislava
prof. MUDr. Jiří Mayer, CSc., Brno
doc. MUDr. Michal Mego, Ph.D., Bratislava
prof. MUDr. Bohuslav Melichar, Ph.D., Olomouc
doc. MUDr. Beata Mladosičová, CSc., Bratislava
MUDr. Rudolf Nenutil, CSc., Brno
doc. MUDr. Jan Novotný, Ph.D., Praha
prof. MUDr. Dalibor Ondruš, DrSc., Bratislava
doc. RNDr. Martina Ondrušová, Ph.D., Bratislava
prof. MUDr. Luboš Petruželka, CSc., Praha
prof. RNDr. Šárka Pospíšilová, Ph.D., Brno
doc. MUDr. Igor Pužanov, Nashville
prof. MUDr. Lukáš Rob, CSc., Praha

prof. MUDr. Miroslav Ryska, CSc., Praha
prof. MUDr. Aleš Ryška, Ph.D., Hradec Králové
prof. MUDr. Jana Skříčková, CSc., Brno
prof. MUDr. Martin Smrčka, Ph.D., Brno
MUDr. Tomáš Svoboda, Ph.D., Plzeň
MUDr. Tomáš Šálek, Bratislava
prof. MUDr. Jaroslav Štěrbá, Ph.D., Brno
doc. MUDr. Dalibor Valík, Ph.D., Brno
prof. MUDr. Anna Vašků, CSc., Brno
prof. MUDr. Rostislav Vyzula, CSc., Brno
doc. MUDr. Mária Wagnerová, CSc., Košice
prof. MUDr. Jan Žaloudík, CSc., Brno

Čestní členové redakční rady

prof. MUDr. Josef Bilder, CSc., Brno
prof. Sándor Eckhardt, Budapest
prof. Jan Klusterský, Brusel

prof. MUDr. Josef Koutecký, DrSc., Praha
prof. RNDr. Jan Kovařík, DrSc., Brno
prof. MUDr. Zdeněk Mechl, CSc., Brno

MUDr. Jaroslav Němec, CSc., Brno
doc. MUDr. Ivan Pleško, DrSc., Bratislava
MUDr. Viliam Ujházy, DrSc., Bratislava

© Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně, Praha 2013

KLINICKÁ ONKOLOGIE

Vydává Česká lékařská společnost J. E. Purkyně.

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

On-line verze je přístupná na adrese www.linkos.cz nebo www.klinickaonkologie.cz.

Časopis Klinická onkologie je uveden na Seznamu recenzovaných neimpaktovaných periodik vydávaných v ČR, schváleném Radou pro výzkum a vývoj vlády ČR.

Nakladatel: Ambit Media, a.s., Klicperova 604/8, 150 00 Praha 5-Smíchov, tel./fax: +420 222 352 573/572.

Odpovědná redaktorka: Mgr. Simona Nováková, e-mail: simona.novakova@ambitmedia.cz.

Adresa redakce: Ambit Media, a.s., Media Hall, Bidláky 20, 639 00 Brno.

Grafická úprava: Karel Zlevor. Jazyková korektura: Mgr. Ivana Dachary.

Vychází 6krát ročně. Předplatné na rok 2013 činí 540 Kč (22 eur).

Informace o předplatném podává a objednávky předplatitelů přijímá: e-mail: předplatne@ambitmedia.cz.

Informace o podmínkách inzerce poskytuje a objednávky přijímá: Alexandra Manová, e-mail: alexandra.manova@ambitmedia.cz, tel.: 724 811 983.

Rukopisy vkládejte do redakčního systému: <http://redakce.ambitmedia.cz/ko>; případné dotazy směřujte na mail klinickaonkologie@mou.cz

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

Pokyny pro autory naleznete na www.linkos.cz v sekci časopisu nebo na www.klinickaonkologie.cz.

Toto číslo vychází 15. 8. 2013.

Afinitor® ...a cesta může pokračovat

Afinitor® je indikován k léčbě pacientů s pokročilým karcinomem ledviny po selhání léčby inhibitory tyrosinkinázy.^{1,2,3} Je to první lék s prokázaným klinickým přínosem u těchto pacientů.¹



- Afinitor® prokázal snížení relativního rizika progresu o 67 % ve srovnání s placebem (HR = 0,33 [95 % CI, 0,25–0,43; P<0,0001])⁴
- Pouze 7 % pacientů ve studii RECORD-1 přerušilo terapii z důvodu nežádoucích účinků⁴
- mTOR* inhibitor, který nabízí pohodlné perorální podávání 1x denně⁴



Zkrácená informace AFINITOR® 5 mg tablety, AFINITOR® 10 mg tablety

Složení: Léčivá látka: Everolimusum 5 mg nebo 10 mg. **Indikace:** *Léčba postmenopauzálních žen s hormonálně pozitivním HER2 negativním pokročilým karcinomem prsu bez symptomatického viscerálního postižení s recidivou nebo progresí onemocnění po předchozí léčbě nesteroidním inhibitory aromatáz.* Léčba neresekovatelných nebo metastazujících, dobře nebo středně diferencovaných pankreatických neuroendokrinních tumorů u dospělých pacientů s progresí onemocnění. Léčba pacientů s pokročilým renálním karcinomem, u kterých došlo k progresi onemocnění během VEGF-cílené terapie nebo po ní. **Dávkování:** Doporučená dávka je 10 mg jednou denně. Léčba by měla pokračovat tak dlouho, dokud je pozorován klinický přínos, nebo dokud se neobjeví nepřijatelné známky toxicity. Podávání dětem a mladistvým (<18 let) není doporučeno. U starších pacientů (≥65 let) a pacientů se zhoršenou funkcí ledvin není nutná úprava dávkování. *U pacientů s mírným zhoršením funkce jater (Child-Pugh A) je doporučená dávka 7,5 mg denně, u pacientů se středním zhoršením funkce jater (Child-Pugh B) je doporučená dávka 5 mg denně, u pacientů se závažným zhoršením funkce jater (Child-Pugh C) se podávání Afinitoru v dávce 2,5 mg denně doporučuje jen v případech, kdy očekávaný prospěch převládá nad rizikem. **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na léčivou látku, na jiné deriváty rapamycinu nebo na kteroukoli pomocnou látku přípravku. **Zvláštní upozornění:** U 12 % pacientů užívajících Afinitor byla popsána neinfekční pneumonitida, která je skupinovým účinkem derivátů rapamycinu. Při výskytu středně závažných příznaků by mělo být zváženo přerušení léčby až do ústupu klinických příznaků. Při léčbě Afinitorem mohou být pacienti náchylnější k bakteriálním, plísňovým nebo protozoárním infekcím, včetně infekcí oportunními patogeny. U pacientů užívajících Afinitor byly popsány lokalizované a systémové infekce zahrnující pneumonie, jiné bakteriální infekce, invazivní plísňové infekce a virové infekce včetně reaktivity virové hepatitidy B. Některé z těchto infekcí byly závažné a občas fatální. Před zahájením léčby by měly být předcházející infekce zcela vyléčeny. V souvislosti s užíváním everolimu byly hlášeny příznaky precitlivělosti. V případě výskytu ulcerace v ústech, stomatitidy a mukozitidy se doporučuje lokální léčba, k výplachu úst se nedoporučuje užívat roztoky obsahující alkohol, peroxid, *deriváty jodu a mateřidousky*. Před zahájením léčby a následně během léčby se doporučuje sledovat funkce ledvin. V klinických hodnoceních byly hlášeny hyperglykemie, hyperlipidemie a hypertriglyceridemie. Doporučuje se monitorovat sérové hladiny glukózy nalačno před zahájením léčby a poté pravidelně v jejím průběhu. V klinických studiích bylo hlášeno snížení hladiny hemoglobinu, počtu lymfocytů, neutrofilů a krevních destiček. Afinitor by se neměl podávat souběžně s inhibitory a induktory CYP3A4 a/nebo nespecifické efúxny pumpy P-glykoproteinu (Pgp). Při užívání Afinitoru v kombinaci s perorálně podávanými substráty CYP3A4 s úzkým terapeutickým indexem by mělo být z důvodu potenciálních lékových interakcí dbáno opatrnosti. Pacienti se vzácnými dědičnými problémy s intolerancí galaktózy, vrozeným deficitem laktázy nebo malabsorpcí glukózy a galaktózy by tento léčivý přípravek neměli užívat. Porucha hojení ran je obecným účinkem derivátů rapamycinu, včetně Afinitoru. **Interakce:** Inhibitory CYP3A4 nebo Pgp, které mohou zvyšovat koncentrace everolimu v krvi: ketokonazol, itraconazol, posakonazol, vorikonazol, telithromycin, klarithromycin, nefazodon, ritonavir, atazanavir, sachinavir, darunavir, indinavir, nelfinavir, erythromycin, verapamil, perorálně podávaný

cyklosporin, flukonazol, diltiazem, amprenavir, fosamprenavir, grapefruitový džus nebo jiné potraviny ovlivňující CYP3A4/Pgp. Induktory CYP3A4 nebo Pgp, které mohou snižovat koncentrace everolimu v krvi: rifampicin, kortikosteroidy (např. dexametazon, prednizon, prednizolon), karbamazepin, fenobarbital, fenytoin, efavirenz, nevirapin, třezalka tečkovaná. Everolimus může ovlivnit biologickou dostupnost souběžně podávaných léků, které jsou substráty CYP3A4 a/nebo Pgp. Imunitní odpověď na očkování může být ovlivněna a proto může být očkování během léčby Afinitorem méně účinné. V průběhu léčby by neměly být k očkování použity živé vakcíny. **Těhotenství a kojení:** *Ženy ve fertilním věku musí používat během léčby a 8 týdnů po ukončení léčby everolimem vysoce účinnou antikoncepci.* Ženy, které užívají everolimus, by neměly kojit. **Vliv na řízení vozidel a obsluhu strojů:** Pacienti by měli při řízení a obsluze strojů dbát zvýšené opatrnosti, pokud se u nich během léčby objeví únavy. **Nežádoucí účinky:** Velmi časté: infekce, anémie, trombocytopenie, hyperglykemie, hypercholesterolemie, hypertriglyceridemie, anorexie, dysgezie, bolesti hlavy, pneumonitida, dušnost, epistaxe, kašel, stomatitida, průjem, slizniční zánět, zvracení, nauzea, vyrážka, suchá kůže, svědění, onemocnění nehtů, únava, astenie, periferní otoky, horečka. Časté: leukopenie, lymfopenie, neutropenie, diabetes mellitus, hypofosfatemie, hypokalcemie, hyperlipidemie, hypokalcemie, dehydratace, nespavost, konjunktivitida, edém očních víček, hypertenze, hemoragie, plicní embolie, hemoptýza, sucho v ústech, bolesti břicha, bolest v ústech, dysfagie, dyspepsie, zvýšená hladina alaninaminotransferázy, zvýšená hladina aspartátaminotransferázy, palmoplantární erytrodysestezie (hand-foot syndrom), erytém, kožní exfoliace, akneiformní dermatitida, onychoklaxe, kožní léze, mírná alopecie, artralgie, zvýšená hladina kreatininu, selhání ledvin (včetně akutního selhání ledvin), proteinurie, bolest na hrudi. Méně časté: plicní embolismus. **Další nežádoucí účinky - viz úplná informace o přípravku.** **Podmínky uchovávání:** Uchovávejte v původním obalu, chráňte před světlem a vlhkostí. **Dostupné lékové formy/velikosti balení:** 30 tablet. **Poznámka:** Dříve než lék předepíšete, přečtěte si pečlivě úplnou informaci o přípravku. Reg. číslo: Afinitor 5 mg - EU/1/09/538/001, Afinitor 10 mg - EU/1/09/538/004. Datum registrace: 03.08.2009. Datum poslední revize textu SPC: 27.5.2013. Držitel rozhodnutí o registraci: Novartis Europharm Limited, Horsham RH12 5AB, Velká Británie.

Výdej přípravku je vázán na lékařský předpis; indikace léčba pacientů s pokročilým renálním karcinomem, u kterých došlo k progresi onemocnění během VEGF-cílené terapie nebo po ní, a indikace léčba pankreatických neuroendokrinních tumorů jsou hrazeny z prostředků veřejného zdravotního pojištění. Pro indikaci léčba pokročilého HER2 negativního karcinomu prsu nebyla úhrada dosud stanovena.

*Všimněte si prosím změny (změn) v informacích o léčivém přípravku.

Literatura: 1. Oudard S et al. Expert Rev. Anticancer Ther, 9(6), 705-717 (2009). 2. J of the National Comprehensive Cancer Network, vol 7, Nr 6. June 2009. 3. de Rijck TM, Bellmunt J et al. EORTC-GU group expert opinion on metastatic renal cell cancer, EJC 45(2009) 765-773. 4. Afinitor - Souhrn údajů o přípravku, 05/2013

AFINITOR®
(everolimusum) tablety

NOVARTIS
ONCOLOGY

Novartis s.r.o. | Pharma budova Gemini B | Na Pankráci 1724/129 | 140 00 Praha 4

CZ 1305105621/06/2013

Od léčby symptomů k protinádorové terapii pacientů s GEP-NET
Prokázané 66% snížení rizika progresu nádoru oproti placebo¹



SÍLA, POSTAVENÁ NA NOVÝCH DŮKAZECH

Zkrácená informace

SANDOSTATIN® LAR 20 mg, SANDOSTATIN® LAR 30 mg, prášek pro přípravu injekční suspenze s rozpouštědlem

Složení: Léčivá látka: octreotidum 20 mg nebo 30 mg. **Indikace:** Akromegalie: u nemocných, kteří adekvátně reagovali na léčbu Sandostatinem; u pacientů, u kterých je chirurgická léčba nebo radioterapie nevhodná nebo neúčinná nebo v mezidobí, než nastoupí plný účinek radioterapie. Potlačení symptomů souvisejících s funkčními gastro-entero-pankreatickými endokrinními nádory: karcinoidy vyvolávajícími karcinoidní syndrom, VIPomy, glukagonomy, gastrinomy/Zollinger-Ellisonův syndrom, inzulinomy, GRFomy. * **Pokročilé neuroendokrinní nádory středního střeva nebo neznámé lokalizace primárního nádoru.** **Dávkování:** 20 mg nebo 30 mg každé 4 týdny formou i.m. injekce hluboko do gluteálního svalu. **Viz úplná informace o přípravku.** **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na léčivou látku nebo kteroukoli pomocnou látku tohoto přípravku. **Zvláštní upozornění/opatření:** Ženy s akromegalií ve fertilním věku by měly během léčby oktreotidem užívat adekvátní antikoncepci. U pacientů dlouhodobě léčených oktreotidem by měla být sledována funkce štítné žlázy. Byly hlášeny méně časté případy bradykardie. Může být nutná úprava dávkování léčivých přípravků jako jsou např. beta-blokátory, blokátory kalciového kanálu nebo látky kontroly rovnováhy tekutin a elektrolytů. Před zahájením léčby a dále pak v 6měsíčních intervalech se doporučuje provádět UZ vyšetření žlučníku na přítomnost žlučových kamenů. Oktreotid může ovlivňovat regulaci glykemie. Doporučuje se pečlivé monitorování pacientů s diabetem mellitus I. a II. typu a pacientů s inzulinomy. Oktreotid může u některých pacientů měnit absorpci tuků. U některých pacientů léčených oktreotidem byly pozorovány snížené hladiny vitamínu B12 a abnormální Schillingův test. **Viz úplná informace o přípravku.** **Interakce:** Zhoršené vstřebávání cyklosporinu, cimetidinu; zvýšená biologická dostupnost bromokriptinu. Oktreotid může snižovat metabolickou clearance látek metabolizovaných enzymy cytochromu P450. **Těhotenství a kojení:** U těhotných a kojících žen smí být oktreotid podáván jen v krajně naléhavých případech. **Nežádoucí účinky:** Velmi časté: průjem, bolesti břicha, nauzea, zácpa, nadýmání, bolesti hlavy, cholelitiáza, hyperglykemie, lokální bolest v místě injekce. Časté: dyspepsie, zvracení, nadmutí břicha, steatorea, únik stolice, změna barvy stolice, závratě, hypotyreóza, porucha funkce štítné žlázy (např. pokles TSH, pokles celkového T4 a pokles volného T4), cholecystitis, žlučový písek, hyperbilirubinémie, hypoglykemie, porušená glukózová tolerance, anorexie, zvýšené hladiny transamináz, svědění, vyrážka, alopecie, dyspnoe, bradykardie. **Podmínky uchovávání:** Při teplotě 2 až 8°C (v chladničce), v původním obalu, chráněný před světlem. V den aplikace lze přípravek uchovávat při teplotě pod 25°C v původním obalu, suspenze musí být připravena bezprostředně před podáním. **Dostupné lékové formy/balení:** 1x 20 mg a 1x 30 mg (1 lahvička s lyofilizátem + 1 předplněná injekční stříkačka s rozpouštědlem). **Poznámka:** Dříve než lék předepíšete, přečtěte si pečlivě úplnou informaci o přípravku. Reg.č.: Sandostatin LAR 20 mg: 56/125/00-C, Sandostatin LAR 30 mg: 56/126/00-C. Datum registrace/prodloužení registrace: 1.3.2000/31.1.2007. Datum poslední revize textu SPC: 25.8.2010. Držitel rozhodnutí o registraci: Novartis s.r.o., Praha, ČR.

Přípravek je pouze na lékařský předpis, hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění. Úhrada přípravku z prostředků veřejného zdravotního pojištění pro indikaci „Pokročilé neuroendokrinní nádory středního střeva nebo neznámou lokalizaci primárního nádoru“ dosud nebyla stanovena.

* Všimněte si prosím změny (změn) v informacích o léčivém přípravku.

Literatura: 1. Rinke A. et al: Placebo-Controlled, Double-Blind, Prospective, Randomized Study on the Effect of Octreotide LAR in the Control of Tumor Growth in Patients With Metastatic Neuroendocrine Midgut Tumors: A Report From the PROMID Study Group; J Clin Oncol 27/ 2009:4656-4663

Afinitor[®] u pokročilých pNET

ve studii RADIANT-3 prodloužil PFS ve srovnání s placebem o 6,4 měsíce (p<0,0001; HR=0,35 [95% CI: 0,27-0,45]).¹



Zkrácená informace AFINITOR[®] 5 mg tablety, AFINITOR[®] 10 mg tablety

Složení: Léčivá látka: Everolimusum 5 mg nebo 10 mg. **Indikace:** *Léčba postmenopauzálních žen s hormonálně pozitivním HER2 negativním pokročilým karcinomem prsu bez symptomatického viscerálního postižení s recidivou nebo progresí onemocnění po předchozí léčbě nesteroidním inhibítorem aromatáz.* Léčba neselektivních nebo metastazujících, dobře nebo středně diferencovaných pankreatických neuroendokrinních tumorů u dospělých pacientů s progresí onemocnění. Léčba pacientů s pokročilým renálním karcinomem, u kterých došlo k progresi onemocnění během VEGF-cílené terapie nebo po ní. **Dávkování:** Doporučená dávka je 10 mg jednou denně. Léčba by měla pokračovat tak dlouho, dokud je pozorován klinický přínos, nebo dokud se neobjeví nepřijatelné známky toxicity. Podávání dětem a mladistvým (<18 let) není doporučeno. U starších pacientů (≥65 let) a pacientů se zhoršenou funkcí ledvin není nutná úprava dávkování. *U pacientů s mírným zhoršením funkce jater (Child-Pugh A) je doporučená dávka 7,5 mg denně, u pacientů se středním zhoršením funkce jater (Child-Pugh B) je doporučená dávka 5 mg denně, u pacientů se závažným zhoršením funkce jater (Child-Pugh C) se podávání Afinitoru v dávce 2,5 mg denně doporučuje jen v případech, kdy očekávaný prospěch převáží míru rizika.* **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na léčivou látku, na jiné deriváty rapamycinu nebo na kteroukoli pomocnou látku přípravku. **Zvláštní upozornění:** U 12 % pacientů užívajících Afinitor byla popsána neinfekční pneumonie, která je skupinovým účinkem derivátů rapamycinu. Při výskytu středně závažných příznaků by mělo být zváženo přerušení léčby až do ústupu klinických příznaků. Při léčbě Afinitorem mohou být pacienti náchylnější k bakteriálním, plísňovým nebo protozoárním infekcím, včetně infekcí oportunními patogeny. U pacientů užívajících Afinitor byly popsány lokalizované a systémové infekce zahrnující pneumonie, invazivní plísňové infekce a virové infekce včetně reaktivace virové hepatitidy B. Některé z těchto infekcí byly závažné a občas fatální. Před zahájením léčby by měly být předcházející infekce zcela vyléčeny. V souvislosti s užíváním everolimu byly hlášeny příznaky precitlivlosti. V případě výskytu ulcerace v ústech, stomatitidy a mukozitidy se doporučuje lokální léčba, k výplachu úst se nedoporučuje užívat roztoky obsahující alkohol, peroxid, *deriváty jodu a mateřidousky*. Před zahájením léčby a následně během léčby se doporučuje sledovat funkce ledvin. V klinických hodnoceních byly hlášeny hyperglykemie, hyperlipidemie a hypertriglyceridemie. Doporučuje se monitorovat sérové hladiny glukózy nalačno před zahájením léčby a poté pravidelně v jejím průběhu. V klinických studiích bylo hlášeno snížení hladiny hemoglobinu, počtu lymfocytů, neutrofilů a krevních destiček. Afinitor by se neměl podávat souběžně s inhibitory a induktory CYP3A4 a/nebo nespecifické efúzní pumpy Pglykoproteinu (Pgp). Při užívání Afinitoru v kombinaci s perorálně podávanými substráty CYP3A4 s úzkým terapeutickým indexem by mělo být z důvodu potenciálních lékových interakcí dbáno opatrnosti. Pacienti se vzácnými dědičnými problémy s intolerancí galaktózy, vrozeným deficitem laktázy nebo malabsorpcí glukózy a galaktózy by tento léčivý přípravek neměli užívat. Porucha hojení ran je obecným účinkem derivátů rapamycinu, včetně Afinitoru. **Interakce:** Inhibitory CYP3A4 nebo Pgp, které mohou zvyšovat koncentrace everolimu v krvi: ketokonazol, itraconazol, posakonazol, vorikonazol, telithromycin, klarithromycin, nefazodon, ritonavir, atazanavir, sachinavir, darunavir, indinavir, nelfinavir, erythromycin, verapamil, perorálně podávaný

ný cyklosporin, flukonazol, diltiazem, amprenavir, fosamprenavir, grapefruitový džus nebo jiné potraviny ovlivňující CYP3A4/Pgp. Induktory CYP3A4 nebo Pgp, které mohou snižovat koncentrace everolimu v krvi: rifampicin, kortikosteroidy (např. dexametazon, prednizon, prednizolon), karbamazepin, fenobarbital, fenytoin, efavirenz, nevirapin, třezalka tečkovaná. Everolimus může ovlivnit biologickou dostupnost souběžně podávaných léků, které jsou substráty CYP3A4 a/nebo Pgp. Imunitní odpověď na očkování může být ovlivněna a proto může být očkování během léčby Afinitorem méně účinné. V průběhu léčby by neměly být k očkování použity živé vakcíny. **Těhotenství a kojení:** *Ženy ve fertilním věku musí používat během léčby a 8 týdnů po ukončení léčby everolimem vysoce účinnou antikoncepci.* Ženy, které užívají everolimus, by neměly kojit. **Vliv na řízení vozidel a obsluhu strojů:** Pacienti by měli při řízení a obsluze strojů dbát zvýšené opatrnosti, pokud se u nich během léčby objeví únava. **Nežádoucí účinky:** Velmi časté: infekce, anémie, trombocytopenie, hyperglykemie, hypercholesterolemie, hypertriglyceridemie, anorexie, dyzgeusie, bolesti hlavy, pneumonitida, dušnost, epistaxe, kašel, stomatitida, průjem, slizniční zánět, zvracení, nauzea, vyrážka, suchá kůže, svědění, onemocnění nehtů, únava, astenie, periferní otoky, horečka. Časté: leukopenie, lymfopenie, neutropenie, diabetes mellitus, hypofosfatemie, hypokalemie, hyperlipidemie, hypokalcemie, dehydratace, nespavost, konjunktivitida, edém očních víček, hypertenze, hemoragie, plicní embolie, kempotýza, sucho v ústech, bolesti břicha, bolest v ústech, dysfagie, dyspepsie, zvýšená hladina alaninaminotransferázy, zvýšená hladina aspartátaminotransferázy, palmoplantární erytrodysestezie (hand-foot syndrom), erytém, kožní exfoliace, akneiformní dermatitida, onychoklaze, kožní léze, mírná alopecie, artralgie, zvýšená hladina kreatininu, selhání ledvin (včetně akutního selhání ledvin), proteinurie, bolest na hrudi. Méně časté: plicní embolismus. **Další nežádoucí účinky - viz úplná informace o přípravku.** **Podmínky uchovávání:** Uchovávejte v původním obalu, chráňte před světlem a vlhkostí. **Dostupné lékové formy/velikosti balení:** 30 tablet. **Poznámka:** Dříve než lék předepíšete, přečtěte si pečlivě úplnou informaci o přípravku. Reg. číslo: Afinitor 5 mg – EU/1/09/538/001, Afinitor 10 mg – EU/1/09/538/004. Datum registrace: 03.08.2009. Datum poslední revize textu SPC: 27.5.2013. Držitel rozhodnutí o registraci: Novartis Europharm Limited, Horsham RH12 5AB, Velká Británie.

Výdej přípravku je vázán na lékařský předpis; indikace léčba pacientů s pokročilým renálním karcinomem, u kterých došlo k progresi onemocnění během VEGF-cílené terapie nebo po ní, a indikace léčba pankreatických neuroendokrinních tumorů jsou hrazeny z prostředků veřejného zdravotního pojištění. Pro indikaci léčba pokročilého HER2 negativního karcinomu prsu nebyla úhrada dosud stanovena.

*Všimněte si prosím změny (změn) v informacích o léčivém přípravku.

Literatura: 1. Yao, J. C. et al, N Engl J Med 2011, 514 - 523. 2. Afinitor - Souhrn údajů o přípravku, 05/2013.

AFINITOR[®]
(everolimusum) tablety

NOVARTIS
ONCOLOGY

Novartis s.r.o. | Pharma budova Gemini B | Na Pankráci 1724/129 | 140 00 Praha 4

CZ1307115962/07/2013