

KLINICKÁ ONKOLOGIE

Z obsahu:

Žilní vstupy v onkologii

Identifikácia molekulárných markerov u detí s akútnou myeloblastovou leukémiou (AML)

Výskyt malignit a dispenzarizace dárců krvetvorných buněk – výsledky sledování
Hematologicko-onkologického oddělení FN Plzeň a Českého národního registru dárců dřeně



NEZAPOMÍNEJTE . . .



**Na karcinom prostaty každý rok
umírá více než 250 000 mužů.¹**

Proto věnujeme čas a úsilí boji proti této zákeřné nemoci.

Reference: 1. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C and Parkin DM. GLOBOCAN 2008 v1.2, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 10 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2010. Available from: <http://globocan.iarc.fr>, accessed on 19/08/2011.

Vážení čtenáři,

další rok uplynul a k Vám se dostává první číslo jubilejního 25. ročníku časopisu Klinická onkologie. Je to příležitost ke stručné rekapitulaci významných úspěchů a realizovaných i připravovaných aktivit.

Přestože v posledních letech není ekonomická situace pro nekomerční časopisy odborných společností vůbec jednoduchá, nás těší, že **Klinická onkologii se daří!** Naše průzkumy a analýzy ukazují, že časopis stále patří k nejčtenějším a nejoblíbenějším domácím odborným časopisům mezi českými a slovenskými onkology a radioterapeuty. **V roce 2011 vyšlo celkem 93 příspěvků a časopis měl celkový rozsah 486 stran. Stránky časopisu již druhým rokem navštívilo více než 50 000 čtenářů, přičemž jsme zaznamenali více než 6 000 otevření PDF souborů s příslušnými články v každém z posledních dvou let. To je na naše poměry významný úspěch!** Počet publikovaných příspěvků a rozsah časopisu se od roku 2009 zvýšil o více než 60 %, přičemž se zvýšila i kvalita publikovaných prací, jak dokazují rostoucí indexy SJR (SCImago Journal Rank) a SNIP (Source Normalized Impact per Paper) v bibliografické databázi Scopus. Poslední dostupná analýza indexu SJR z října 2011 ukázala, že časopis Klinická onkologie si v tomto měřítku kvality stojí lépe než časopis lékařů českých, Rozhledy v chirurgii nebo Česká a slovenská neurologie a neurochirurgie. Od zařazení časopisu do renomované světové bibliografické databáze MEDLINE/PubMed narůstá i počet publikací v anglickém jazyce (v roce 2011 celkem 10 prací) a v Klinické onkologii publikovaly své práce i autorské týmy z Brazílie, Bulharska, Indie a Řecka. Z toho pohledu své slovenské kolegy považujeme za domácí tvůrce, neboť Klinická onkologie je oficiálním časopisem jak České onkologické společnosti ČLS JEP, tak Slovenskej onkologickej spoločnosti. Od autorů ze Slovenska bylo v roce 2011 publikováno celkem 13 prací, opět více než v předchozích letech.

Hlavní prioritou redakční rady je **udržení vysoké kvality časopisu a podpora citovanosti publikovaných článků**. V roce 2011 byly za tímto účelem vyhlášeny **soutěž o „Finanční podporu publikační aktivity autorů“ a „Cena za nejlepší původní práci“**. V prvním případě byla částka 10 000 Kč udělena týmu autorů Jindřich Kopecký, Otakar Kopecký, Peter Priester, Jiří Petera a Ladislav Slovák z Hradce Králové. Ve druhém případě bylo hlasování výkonné redakční rady nerozhodné, a proto byly nakonec uděleny ceny dvě, každá v hodnotě 20 000 Kč. Takto byly ohodnoceny práce publikované ve 2. a 6. čísle Klinické onkologie: „Výsledky multimodální léčby glioblastoma multiforme: Konsekutivní série 86 pacientů diagnostikovaných v letech 2003–2009“ a „Recent Patterns in Stomach Cancer Descriptive Epidemiology in the Slovak Republic with Reference to International Comparisons“. Finanční prostředky na uvedená ocenění pocházely ze zisku z 1. ročníku konference **Best of ASCO 2011**.

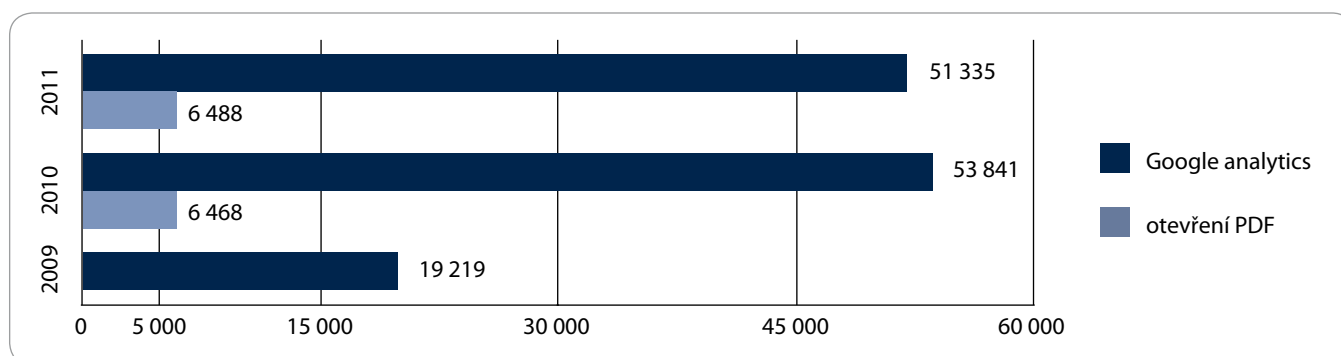
Z projektů, které vznikly v redakci Klinické onkologie a budou dále pokračovat, chceme připomenout úspěšně zahájenou vzdělávací edici **Nové léky v onkologické praxi**, která se letos rozroste o další odborný titul: **Doporučené postupy**. K tomu připravujeme **2 supplementa** a ve spolupráci s ČOS ČLS JEP a ASCO chceme opět organizovat konferenci **Best of ASCO Meeting 2012, která proběhne v Praze dne 8. září 2012** a jejíž první ročník měl mimořádně příznivé ohlasy. V roce 2012 bychom rádi zprovoznili **elektronický redakční systém** a pevně věříme, že se nám podaří propojit odkazy v databázi PubMed přímo na jednotlivé články v archivu časopisu.

Opět musíme připomenout, že kvalita se neudrží snadno, stojí mnoho práce a finančních prostředků, a proto **velmi děkujeme všem našim sponzorům a inzerentům** za poskytnuté finanční prostředky. **Zejména patří poděkování našim generálním sponzorům. Společnosti ROCHE**, která byla generálním sponzorem časopisu od roku 2009 do roku 2011, a **nyní společnosti NOVARTIS**, která je generálním sponzorem časopisu Klinická onkologie v roce 2012. **Nebýt sponzorů a inzerentů, časopis by nevycházel v tištěné podobě a v takovém rozsahu vůbec, nebýt generálního sponzora, časopis by nemohl být zdarma distribuován členům České onkologické společnosti ČLS JEP!** Poděkování patří i našemu nakladateli, společnosti Ambit Media, s jehož brněnskou redakcí pod vedením paní Mgr. Jany Lounové je velmi dobrá spolupráce!

Pevně věříme, že rok 2012 bude úspěšným rokem nejenom pro časopis Klinická onkologie, ale i pro všechny jeho čtenáře a společnosti, které ho podporují!

Za redakční radu Klinické onkologie
doc. MUDr. Vuk Fait, CSc.
vedoucí redaktor

MUDr. Marek Svoboda, Ph.D.
výkonný redaktor



Obr. 1. Návštěvnost e-verze časopisu Klinická onkologie na stránkách České onkologické společnosti ČLS JEP www.linkos.cz



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 určen k podávání v první linii léčby pokročilého karcinomu ledviny (renal cell carcinoma, RCC) a k léčbě pacientů, kterým byly dříve podávány cytokiny pro pokročilý onemocnění. **DÁVKOVÁNÍ:** Doporučená dávka pazopanibu je 800 mg jednou denně. Dávka se upravuje postupným přidáváním 200 mg podle individuální snášenlivosti. Dávka pazopanibu by neměla překročit 800 mg. **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 je třeba věnovat zvýšenou pozornost. U pacientů s mírnou až středně závažnou poruchou funkce jater před zahájením léčby je doporučeno zahájit 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 dávka snížena na 200 mg viz SPC. **Současné užívání pazopanibu a simvastatinu (statinu)** zvyšuje riziko zvýšení hladin ALT a má probíhat s opatrností a za pečlivého monitorování. Pazopanib je kontraindikován u pacientů s těžkou poruchou jaterních funkcí. Podávání osobám mladším 18 let se nedoporučuje. 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. Voponibem bylo pozorováno zvýšení sérových transamináz ALT, AST, většinou izolovaně bez zvýšení alkalické fosfatázy nebo bilirubinu. **INTERAKCE:** Vzhledem k3A4, glykoproteinem P (P-gp) nebo BCRP. Je třeba zvážit nasazení

alternativních souběžně podávaných léčivých přípravků, takových, které mají nulový nebo minimální potenciál inhibovat CYP3A4, P-gp nebo BCRP. Vzhledem k riziku snížení expozice pazopanibu je třeba se vyvarovat souběžnému podávání induktorů CYP3A4. 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 je nutné nepít grapefruitový džus. **TĚHOTENSTVÍ A KOJENÍ:** Adekvátní údaje o podávání pazopanibu těhotným ženám nejsou k dispozici. Studie na 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 myokardu, kardiální dysfunkce, gastrointestinální perforace a píštěl, prodloužení QT intervalu a plicní, gastrointestinální a cerebrální krvácení. Uvedené NU hlášeny u méně než 1 % léčených pacientů. Nežádoucí účinky, které vedly k úmrtí pravděpodobně související 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, hypertenze, nauzea, únava, anorexie, zvracení, dysgeuzie, zvýšení hladiny ALT a AST a bolesti břicha. Časté nežádoucí účinky: trombocytopenie, neutropenie, leukopenie, hypotyreóza, bolest hlavy, závratě, letargie, parestezie, návaly horka, epistaxe, dysfonie, dyspepsie, stomatitida, flatulence, abdominální distenze, porucha jaterních funkcí, hyperbilirubinémie, vyrážka, alopecie, syndrom palmo-plantární erytrodysestázie, 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. **FARMAKOLOGICKÉ VLASTNOSTI:** Inhibitor proteinkinázy, 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:** 24. 10. 2011. **DOSTUPNOST LÉKU:** Lék je vázán na lékařský předpis a je hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění (přesné podmínky úhrady jsou uvedeny na adrese: www.sukl.cz). Před použitím léku si prosím přečtěte úplný Souhrn údajů o přípravku nebo se obraťte na společnost GSK s.r.o.

SPC je platné ke dni vydání propagačního materiálu: 1. 1. 2012.
GlaxoSmithKline s.r.o., Na Pankráci 17/1685, 140 21 Praha 4, tel.: 222 001 111, fax 222 001 444, e-mail: gsk.czmail@gsk.com, www.gsk.cz

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

Obsah | Contents

PŘEHLED | REVIEW

Žilní vstupy v onkologii

9

Venous Access Devices in Oncology

Maňásek V., Soumarová R., Kociánová I., Maňásková M.

PŮVODNÍ PRÁCE | ORIGINAL ARTICLES

Srovnávací proteomická analýza krevní plazmy pacientů s mnohočetným myelomem léčených režimy s bortezomibem

17

Comparative Plasma Proteomic Analysis of Patients with Multiple Myeloma Treated with Bortezomib-based Regimens

Čumová J., Jedličková L., Potěšil D., Šedo O., Stejskal K., Potáčová A., Zdráhal Z., Hájek R.

Identifikácia molekulárných markerov u detí s akútnou myeloblastovou leukémiou (AML)

26

Identification of Molecular Markers in Children with Acute Myeloid Leukemia (AML)

Ilenčíková D., Sýkora J., Mikulášová Z., Repiská V.

Utilisation of Electrical Impedance Tomography in Breast Cancer Diagnosis

36

Využitie elektroimpedančnej tomografie v diagnostike karcinómu prsníka

Raneta O., Ondruš D., Bella V.

Výskyt malignit a dispenzarizace dárců krvetvorných buněk – výsledky sledování Hematologicko-onkologického oddělení FN Plzeň a Českého národního registru dárců dřeně

42

The Incidence of Malignancies and Surveillance of Hematopoietic Stem Cells Donors – the Results of the Haemato-Oncology Department University Hospital in Plzen (Pilsen) and Czech National Marrow Donors Registry Observation

Vokurka S., Koza V., Jungová A., Navrátilová J., Svoboda T., Jindra P., Steinerová K., Hrabětová M., Výrutová R., Novák L.

KAZUISTIKY | CASE REPORTS

Šestileté sledování pacienta s mnohočetnou angiomatózou postihující skelet, břišní i hrudní dutinu a stěnu trávicí trubice

47

Six-year Follow-up of a Patient with Multiple Angiomas Involving Skeleton, Thoracic and Abdominal Cavities and the Gut Wall

Adam Z., Matýšková M., Tomáška M., Řehák Z., Koukalová R., Křikavová L., Pour L., Krejčí M., Szturz P., Zahradová L., Mechl M., Moulis M., Vaniček J., Neuman Č., Navrátil M., Veselý K., Hájek R., Mayer J.

SDĚLENÍ | SHORT COMMUNICATION

Nové možnosti vzdělávání českých chirurgů v onkochirurgii

Duda M., Ryska M., Antoš F., Žaloudík J.

63

AKTUALITY V ONKOLOGII | ONCOLOGY HIGHLIGHTS

Aktuality v onkologii

Rajnohová H.

65

RECENZE KNIHY | BOOK REVIEW

Raudenská J., Javůrková A.: Lékařská psychologie ve zdravotnictví

68

RŮZNÉ | VARIOUS

Tematický seznam publikací vydaných v Klinické onkologii v roce 2011

70

První oznámení

Best of ASCO®

A program licensed by the American Society of Clinical Oncology

Annual Meeting '12

Praha, 8. září 2012

Organizační zabezpečení konference:

Meritis, s.r.o. | Milena Notová

Obrovského 644 | e-mail: notova@meritis.cz

141 00 Praha 4 | Tel.: +420 272 774 064

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 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 inzulinomem. 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 uchování:** 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

Úhrada ve všech liniích léčby mCRC

Cílená léčba, která v I. linii terapie mCRC*:

- má prokázaný prediktivní faktor^{1,2}
- významně zvyšuje celkové přežití i dobu do progresu³

Merck Serono Oncology | *Combination is key™*

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

Léčivá látka: cetuximabum. **Složení:** 5 mg cetuximabu v 1 ml infuzního roztoku. **Indikace:** K léčbě pacientů s metastazujícím kolorektálním karcinomem (mCRC) exprimujícím receptor epidermálního růstového faktoru (EGFR) a vykazujícím gen KRAS divokého typu. Používá se v kombinaci s chemoterapií na základě irinotekanu nebo FOLFOX4 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 závažnou přecitlivělostí na cetuximab nebo radiační terapii. **Nežádoucí účinky:** Hypersenzitivní reakce: 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. Výskyt závažných reakcí z přecitlivělosti vyžaduje úplné a trvalé přerušení léčby cetuximabem. V kombinaci s lokální radiační terapií se objevily nežádoucí účinky, které jsou pro radiační terapii typické: mukositida, radiační dermatitida a dysfagie nebo leukopenie, převážně ve formě lymfocytopenie. **Kožní reakce:** Zahrnují zejména akneiformní vyrážku a/nebo poruchy nehtů (paronychie). **Interakce:** V kombinaci s infuzí 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:** 10/2011. Výdej přípravku je vázán na lékařský předpis a je hrazen z prostředků zdravotního pojištění k léčbě metastazujícího kolorektálního karcinomu (mCRC) v první linii v kombinaci s režimy FOLFIRI a FOLFOX4. V léčbě druhé linie mCRC v kombinaci s irinotekanem po selhání cytotoxické léčby zahrnující irinotekan nebo oxaliplatinu; v monoterapii, pokud nelze kombinovat s irinotekanem. V léčbě třetí a dalších linií mCRC v monoterapii, pokud nebyl cetuximab použit v předcházející léčbě. V kombinaci s radiační terapií k léčbě pacientů s lokálně pokročilým spinocelulárním karcinomem hlavy a krku. Před předepsáním se seznáme s úplnou informací o přípravku.

* v kombinaci se standardní chemoterapií (FOLFIRI, FOLFOX4) u pacientů s metastazujícím kolorektálním karcinomem (mCRC) a nemutovanou formou proto-onkogenu KRAS.

Reference:

1. Van Cutsem E, et al. J Clin Oncol (Meeting Abstracts) May 2008 vol. 26 no. 15_suppl.2
2. Bokemeyer C, et al. J Clin Oncol (Meeting Abstracts) May 2008 vol. 26 no. 15_suppl.4000
3. Bokemeyer, C. et al., J Clin Oncol 28:15s, 2010 (suppl; abstr 3506)

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

Žilní vstupy v onkologii

Venous Access Devices in Oncology

Maňásek V., Soumarová R., Kociánová I., Maňásková M.

Komplexní onkologické centrum, Nový Jičín

Souhrn

Téma zajištění adekvátního žilního vstupu v onkologii je velmi aktuální, neboť specifická protinádorová farmakoterapie je vedena dominantně parenterální formou. Periferní žilní systém je navíc v některých případech při dlouhodobé léčbě výrazně zatěžován. Shrnujeme rizika ve spojitosti s podáváním léčiv do cévního řečiště, srovnáváme různé druhy žilních přístupů a zabýváme se obecně indikacemi pro zajištění permanentních žilních vstupů. S ohledem na současné zkušenosti předkládáme návod pro výběr optimálního žilního vstupu v onkologii. Podrobněji prezentujeme naše zkušenosti se zaváděním PICC (periferní cestou implantovaných centrálních katetrů) u 30 onkologických pacientů léčených v našem centru. PICC jsou vedle venózních portů další bezpečnou modalitou zabezpečení trvalého žilního vstupu, a to při minimálním počtu komplikací. Indikace pro výběr daného permanentního žilního vstupu (PICC nebo port) se částečně překrývají, evidentní doporučení pro výběr konkrétního permanentního vstupu chybí. Nicméně jisté indicie se nabízejí a v tomto sdělení se nad nimi zamýšlíme.

Klíčová slova

žilní katetrizace – žilní porty – chemoterapie – zhoubné nádory

Summary

Specific anti-cancer therapy is administered mainly via the parenteral route. Adequate venous access is, therefore, a topical issue in oncology. In some patients on long-term therapy, the peripheral venous system is extensively burdened. We present an overview of risk factors associated with parenteral application of medicines. We provide a comparison of different types of venous access devices and discuss recommendations on general indications for permanent venous access devices. We suggest an approach to the choice of the most appropriate venous access device for an oncology patient available to date. We present our experience with PICC (peripherally implanted central catheters) implantations used in 30 oncology patients in our centre. In addition to venous ports, PICCs represent another safe method of permanent venous access with low rate of complications. Indications for the use of a specific permanent venous access device (PICC or port) partly overlap and evidenced-based recommendations are lacking. However, we discuss the few suggestions that have been formulated on this issue.

Key words

venous catheterization – vascular access ports – chemotherapy – cancer

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.



MUDr. Viktor Maňásek

Komplexní onkologické centrum
a Onkologické oddělení
Nemocnice Nový Jičín, a.s.
Purkyňova 2138/16
741 01 Nový Jičín
e-mail: viktor.manasek@
onkologickecentrum.cz

Obdrženo/Submitted: 1. 5. 2011

Přijato/Accepted: 15. 9. 2011

Úvod

U 90 % hospitalizovaných pacientů je v dnešní době využívána intravenózní terapie. Jde převážně o hydratační podporu, iontovou substituci, podávání protinfekčních látek a cytostatik, parenterální výživu a podávání specifických léčiv. V USA je každoročně zavedeno nejméně 7 milionů centrálních žilních katetrů [1]. Mnoho látek má přitom nevyhovující vlastnosti pro periferní aplikaci – hlavně pH, osmolalitu nebo chemickou strukturu. Klinický výzkum prokázal, že látky s pH pod 5,0 a nad 9,0 způsobují endoteliální poškození intimy, stejně tak roztoky hypotonické či hypertonické (převážně při osmolalitě větší než 500 mosm/l). Dle Infusion Nursing Standards of Practice (INS) je v těchto případech doporučeno podání léčiv do centrálního řečiště. V tab. 1 a 2 jsou příklady některých běžně užívaných látek s jejich vlastnostmi (pH, osmolalita). Mezi další indikace pro zajištění centrálního řečiště patří parenterální výživa s obsahem > 10 % glukózy nebo > 5 % aminokyselin, podávání endotel iritujících léčiv, nutnost katetru s více než jedním lumen, dialýza nebo aferéza, měření centrálního žilního tlaku, nitrožilní léčba trvající déle než 3 měsíce [2]. Specifickou a velmi obávanou komplikací je paravazace cytostatika při aplikaci do periferního žilního řečiště. Je známo, že kupříkladu paravazace antracyklinů může vést k rozsáhlé nekróze tkání, která vyžaduje chirurgickou intervenci. Nicméně řada dalších cytostatik má potenciál způsobit při extravazaci závažná poškození. Jsou vypracovány speciální postupy týkající se opatření při paravazaci, nejsou však tématem tohoto sdělení. U onkologického pacienta podstupujícího protinádorovou léčbu je tedy často optimální podání léčiv do centrálního řečiště. Dle standardů INS je striktně doporučeno podávat do centrálního řečiště především „zpuchřující cytostatika“. V případě, že jsou cytostatika podávána do periferní žíly, měla by se střídát místa aplikace při každém cyklu a vést dokumentace o místech podání, aby nedocházelo k opakovanému aplikaci ve stejné lokalitě [2].

K zajištění žilního přístupu slouží řada katetrů, pro něž je obecně užívána anglická zkratka VAD (vascular access device). Každá skupina má své výhody i ne-

Tab. 1. pH některých běžně užívaných léčiv.

pH některých běžně užívaných léčiv			
ciprofloxacin	3,3	dobutamin	2,5
vankomycin	2,4–4,5	mannitol	4,5
dopamine	2,5	draslík	4,0
pentamidine	4,09	acyclovir	11
morfin	2,4–7,0	ampicilin	10
tobramycin	3,0	paklitaxel	4,4

výhody, které je třeba znát a s nimiž je třeba počítat při výběru pro žilní přístup. Jednoznačná doporučení pro výběr typu VAD v konkrétních klinických situacích chybí. Pacienti jsou o způsobech podávání protinádorové léčby informováni mnohdy nedostatečně a těm, kteří vyžadují nitrožilní léčbu po dobu týdne a déle, není v převážné většině případů rutinně nabídnuta možnost zavedení žilních vstupů se střednědobou nebo dlouhodobou životností.

Žilní vstupy dělíme obecně na krátkodobé, střednědobé a dlouhodobé. Jiné rozdělení vychází z umístění konce katetru, čímž jsou zároveň definovány centrální nebo periferní katetry. U centrálních katetrů je konec umístěn v dolní třetině horní duté žíly, srdeční síně, anebo horním úseku dolní duté žíly.

Pro krátkodobou léčbu (obvykle myslíme do šesti dnů) můžeme užít konvenční periferní kanyly, např. u nás známé „flexily“. Je nutná výměna max. po 72–96 hod a slouží k podávání léčiv o pH v rozmezí 5,0–9,0 a osmolalitě do 500 mosm/l. Pro podání léčiv volíme nejčastěji periferní žíly v oblasti předloktí, protože zavedení periferního žilního vstupu je zpravidla snadné a časově nenáročné. Delší životnost mají tzv. midline katetry (2–4 týdny) a díky jejich délce (zhruba 15–30 cm) nedochází k iritaci periferních žil menšího kalibru. Konec midline katetru je zpravidla umístěn ve v. axillaris, případně ve v. subclavia, nesplňují tedy kritéria pro centrální katetr.

V některých situacích je výhodné a mnohdy i nezbytné podání léčiva do centrálního řečiště. Jedná se především o aplikaci látek s vlastnostmi, které je znevýhodňují pro periferní podávání (viz výše), anebo se jedná o léčbu, která

je dlouhodobá, a opakovaná punkce periferních žil je nežádoucí. Indikací bývá mnohdy rovněž absolutní insuficience periferie, která může mít rozličné důvody. K zajištění přístupu do centrálního žilního řečiště existuje několik možností – CVK (centrální venózní kanyla) – netunelizovaná nebo tunelizovaná, PICC (peripherally implanted central catheter) a venózní port. V tab. 3 jsou shrnuty typy VAD a jejich základní charakteristiky. V tomto článku budou prezentovány zkušenosti našeho pracoviště týkající se problematiky permanentních žilních vstupů.

Netunelizovaná centrální venózní kanyla je užívána k léčbě, která obvykle nepřesahuje deset dní, nicméně při optimální ošetrovatelské péči lze u vybraných pacientů kanylu ponechat i déle. Lékař však musí počítat s narůstajícím rizikem infekčních komplikací, které jsou v přímé úměře k délce zavedení CVK. Po užití centrální žilní netunelizované kanyly by mělo být vyhrazeno pouze pro hospitalizované pacienty [2]. Nejčastěji je ke kanylaci využívána v. jugularis interna (VJI) a v. subclavia (VS), ve specifických situacích případně v. fe-

Tab. 2. Látky s osmolalitou nevhodnou pro periferní aplikaci.

Látky s osmolalitou nevhodnou pro periferní aplikaci

draslík (> 20 mmol KCl v 500 ml)
parenterální výživa
mannitol
Ca Cl, Ca gluconicum
peniciliny – nafcillin, ampicillin, oxacillin, methicillin
i.v. kontrast

Tab. 3. Druhy VAD (vascular access device) a jejich charakteristiky (archiv autora).

Typ VAD	Délka terapie	pH a OSM	Umístění špičky katetru	Materiál
konvenční periferní kanyla (flexila)	do 6 dní (doporučení CDC)	pH 5–9 osm do 500 mosm/l	povrchové žíly končetin	teflon a polyuretan
midline katetr	střednědobá léčba, obvykle 2–4 týdny	pH 5–9 osm do 500 mosm/l	v. basilica nebo v. cephalica (pod úrovní v. axillaris)	silikon nebo polyuretan
PICC	střednědobá a dlouhodobá léčba, obvykle do 1 roku		dutá žíla (SVC nebo IVC)	silikon nebo polyuretan
netunelizovaná CVK (implantovaná centrálním přístupem)	krátkodobé použití, obvykle 7 dní	jakékoliv pH jakákoliv osm	dutá žíla (SVC nebo IVC)	silikon nebo polyuretan, polyetylen, PVC
tunelizovaná CVK	střednědobá a dlouhodobá léčba, obecně přesahující 6 týdnů	jakékoliv pH jakákoliv osm	dutá žíla (SVC nebo IVC)	silikon nebo polyuretan
implantabilní port	dlouhodobá léčba, většinou přesahující 6 měsíců	jakékoliv pH jakákoliv osm	dutá žíla (SVC nebo IVC)	silikon nebo polyuretan

CDC = centers for disease control and prevention, SVC = superior vena cava, IVC = inferior vena cava, CVK = centrální venózní katetr, PICC = periferní cestou implantovaný katetr (peripherally implanted central catheter)

moralis (VF). Tento typ VAD využíváme především k terapii infekčních komplikací (febrilní neutropenie, sepse), krátkodobé nutriční parenterální přípravě např. v perioperačním období a při některých typech chemoterapie (převážně kontinuální režimy s 5-fluorouracilem, podávání antracyklinů atd.) u pacientů, kteří nemají zajištěn permanentní žilní vstup. Časně komplikace spojené s kanylací centrální žíly jsou obecně známé (pneumothorax, punkce tepny a krvácení, hemothorax, poškození nervových struktur, primární malpozice aj.) a lze je významně redukovat použitím ultrazvukové navigace při kanylaci. Zavedení centrální kanyly „naslepo“ je samozřejmě metodou volby a v rukou zkušeného lékaře jsou rizika minimalizována, nicméně provádíme-li kanylaci centrálního žilního systému elektivně, nabízí se využít ultrazvukové navigace. Řada společností vydala jasná doporučení pro využívání ultrazvukové navigace při zavedení centrálních kanyl (Association for Vascular Access, National Institute for Clinical Excellence – UK aj.) [2]. Jednoznačně bychom se k použití ultrazvuku klonili u pacienta s nevhodnými anatomickými, popř. hemokoagulačními poměry, anebo při nejistotě o průběhu cév či primárně neúspěšné punkci „naslepo“.

Mezi hlavní pozdní komplikace patří infekce kanyly se vznikem katetrové sepse a trombóza.

Další možností je zavedení tunelizované CVK, kterou obecně využíváme pro léčbu přesahující šest týdnů. Obvykle implantujeme Hickmanův nebo Broviacův katetr. Riziko infekčních komplikací je významně nižší. Asi nejčastější indikací pro zavedení tunelizované CVK je domácí parenterální výživa. Na našem pracovišti někdy využíváme „částečnou tunelizaci“, kdy prostou CVK zavádíme infraklavikulárním přístupem cestou vena subclavia přes vytvořenou kožní řasu, kdy lze dosáhnout alespoň několikacentimetrové tunelizace. Takto implantovanou CVK nemůžeme jistě zařadit do spektra tunelizovaných katetrů v pravém smyslu slova, nicméně dle našich zkušeností je životnost CVK rozhodně delší.

Možností zajištění permanentního žilního vstupu je dále zavedení implantabilního venózního portu, který je indikován pro dlouhodobou léčbu, optimálně pro pacienty vyžadující intermitentní terapii po dobu přesahující 6 měsíců. Zavedením portů se většinou zabývají lékaři s odborností jako intervenční radiolog, chirurg, případně anesteziolog. V našem centru implantuje porty klinický onkolog a naše zkušenosti jsou velmi dobré.

Nejčastěji volíme supraklavikulární přístup do cévního řečiště, občas přístup infraklavikulární laterální, kanyla portu je zavedena cestou VJI nebo VS. Zavedením ze supraklavikulárního přístupu předcházíme vzniku „pinch-off syndromu“ s obstrukcí katetru, jehož příčinou je nejčastěji komprese mezi klavikulou a prvním žebrem. K tomu může naopak dojít při infraklavikulárním přístupu via vena subclavia.

Metodou volby pro střednědobou a případně i dlouhodobou terapii je implantace PICC (peripherally implanted central catheter). Jedná se o typ permanentního žilního vstupu, který se zavádí za ultrazvukové navigace do některé z žil na paži – v. basilica, v. cephalica nebo v. brachialis. Konec katetru je umístěn na přechodu horní duté žíly v pravou síň, tedy v centrálním řečišti. PICC má osvědčení Food and Drug Administration (FDA) pro používání na dobu až 1 roku, nicméně existují i data o delší životnosti katetru, která závisí na mnoha faktorech (typu použitého materiálu, technice inzerce, spolupráci pacienta a především optimálním ošetřování).

Vlastní zkušenosti

Implantace PICC jsme v našem centru zahájili v květnu 2010. Za aseptických



Copyright 2008 © Cardiac Care Staffing [22]

Obr. 1. Názorná animace punkce za ultrazukové navigace.

kautel je vybraná žíla punktována přímo za ultrazukové navigace (obr. 1, 2). Při průniku jehly do lumen cévy se na jejím konci objeví krev (obr. 3), Seldingerovou technikou je následně po vodiči zasunut zaváděcí sheat a po extrakci mandrénu pak katetr do požadované vzdálenosti. Sheat je následně odstraněn rozlomením a „svlečením“ ze zavedeného katetru, jako je tomu například u zavádění katetru portu. Definitivně zavedený katetr je znázorněn na obr. 4. Na obr. 5 je znázorněn obvyklý ultrazukový obraz mediální strany paže, kdy a. brachialis zpravidla dopovídá jedna nebo dvě vv. brachiales, mediálněji a zpravidla povrchněji je uložena v. basilica. Na obr. 6 je zobrazen celý displej ultrazukového přístroje, ze kterého je zřejmá vý-



Obr. 2. Punkce za ultrazukové navigace.

hoda okamžitého porovnání průměru a hloubky cévy s měrnou stupnicí umístěnou v pravé části obrazovky. Pacient během výkonu zaujímá polohu vleže s paží v abdukci. Obecně se uvádí, že nejvhodnější je pro účely zavedení PICC vena basilica vzhledem k jejímu vhodnému průměru a přímému průběhu. Vena cephalica je většinou užší, navíc

při zavedení na přední straně paže nad hlavou musculus biceps brachii může být katetr mechanicky nadměrně namáhán při ohybu paže a je vyšší riziko případného poškození jemného katetru. Při implantaci via v. brachialis provádíme punkci velmi blízko tepny, a proto je punkce riziková. Nicméně anatomické poměry jsou značně individuální. Opti-



Obr. 3. Návrat krve svědčící o úspěšné punkci žíly.



Obr. 4. PICC u pacientky s plicním karcinomem, zaveden cestou v. basilica l. sin.

mální je provádět zákrok v lokální anestezii, neboť samotná punkce a zavedení sheatu mohou být bolestivé [3]. V případě punkce žíly malého kalibru se každopádně dle našich zkušeností snažíme infiltrovat podkoží co nejméně, neboť žíla jinak kolabuje a punkce je obtížná; lokální anestezii raději nahrazujeme mírnou sedací. Ideální je rovněž provádět zákrok za skioskopické kontroly k okamžitému ověření polohy špičky katetru, kdy se redukuje riziko primární malpozice a lékař má jistotu o správném uložení konce katetru. Je nutné rovněž počítat se změnou polohy konce katetru, ke které dojde po změně pozice paže z abdukce do addukce. Konec katetru má tendenci posunout se v addukci paže kaudálněji, přibližně o 20 mm [4]. Nicméně ze zkušeností při zavedení portů a CVK víme, že při vertikalizaci pacienta dochází naopak k mírnému povytážení katetru kraniálně, takže definitivní poloha může být variabilní. Opatrnosti je rovněž třeba u pacientů s rozsáhlou mediastinální masou tumoru, kde je vyšší riziko malpozice a jsou nutné kontroly polohy katetru v průběhu léčby [5]. Z technických a organizačních důvodů provádíme na našem pracovišti skiagram až po zavedení katetru, délku stanoví lékař předem orientačním na-

měřením vzdálenosti mezi místem vpichu a předpokládaným ústím horní duté žíly. V případě, že je PICC zaveden příliš krátce (např. do v. axillaris, v. subclavia, v. brachiocephalica), může v budoucnu docházet k obtížím při aspiraci krve, neboť dochází k přisátí konce katetru na žilní stěnu. Se správným uložením konce katetru však nebývá zpravidla větší problém.

V případě, že je nutné zajistit žilní vstup na krátkou dobu a pacient má koagulopatii, případně je přítomna trombocytopenie, využíváme punkci VJI za ultrazvukové navigace. Není-li ultrazvuk k dispozici, bezpečnější se nám dříve jevila punkce VF, ovšem s vědomím rizika většího nebezpečí infekčních komplikací. Každopádně implantace PICC se staly suverénní metodou pro zajištění žilního vstupu, neboť rizika jsou v případě poruch koagulace významně minimalizována. PICC jsou rovněž adekvátní alternativou ke klasickým CVK i u pacientů podstupujících intenzivní hematologickou terapii včetně autologní transplantace krevetvorby nebo u kriticky nemocných pacientů [6,7]. Žilní vstup je kryt sterilně průhlednou fólií, pacient může provozovat běžnou hygienu, je možné i případné koupání. Pacienti obecně zavedení PICC vítají,

neboť odpadá nutnost opakovaných venepunkcí.

Hlavní zásadou je používat při manipulaci s katetrem stříkačku o objemu 10 ml a větší, jinak hrozí porušení chlopně s následnou malfunkcí katetru. Opatrnosti je rovněž třeba u kontrastního CT vyšetření, kdy objem podané kontrastní látky v krátkém čase může poškodit jemný silikonový katetr. Je-li PICC poškozen vně cévy, lze vyměnit uzávěrový mechanismus a PICC je nadále funkční. Pro účely CT vyšetření je tedy vhodnější použít jiný vstup. V současnosti jsou již dostupné speciální PICC katetry od různých výrobců, které mohou být bezpečně použity i pro účely kontrastního CT vyšetření [1]. Samozřejmostí je nezavádět PICC na straně axilární disekce, při radioterapii na danou oblast, u lymfédému a infekce kůže v místě vpichu. Aktuálně rovněž převládá doporučení nezavádět PICC u pacientů, u kterých se v budoucnu počítá s mechanickou náhradou ledvinových funkcí. Je otázkou, zda se vyvarovat zavedení PICC např. u mladých diabetiků z důvodu preventivního šetření žilního systému.

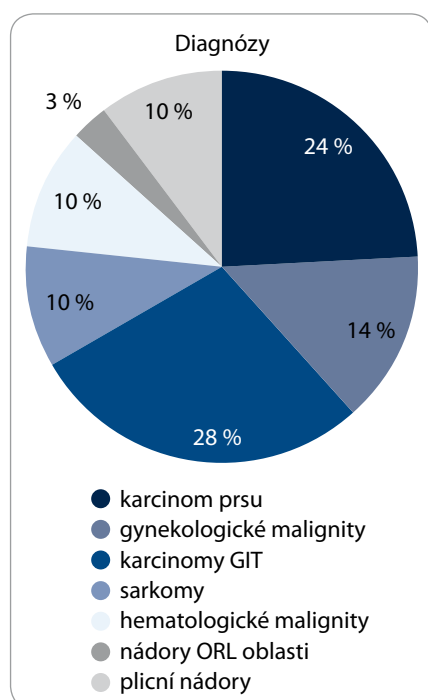
V našem centru jsme zavedli od května 2010 do doby psaní tohoto článku 30 PICC katetrů. V grafu 1 a 2 je výčet diagnóz pacientů, u kterých jsme indikovali



Obr. 5. Ultrazvukový obraz cév paže. Vpravo a. brachialis se dvěma sousedními vv. brachiales, vlevo v. basilica.



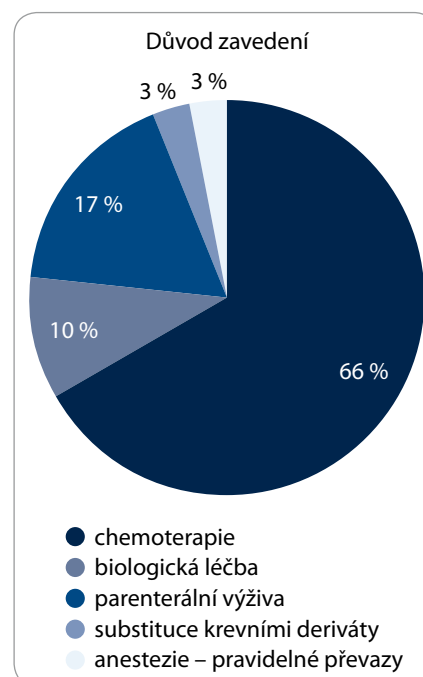
Obr. 6. Displej ultrazvukového přístroje. Vpravo patrná a. brachialis, vlevo v. basilica při částečné kompresi. V pravé části displeje měrná stupnice, umožňující okamžité určení průměru žíly a její hloubky.



Graf 1. Onkologické diagnózy pacientů, u kterých byl zaveden PICC.

implantaci, a důvod zavedení PICC. Nejčastějším důvodem bylo podávání specifické protinádorové léčby, mezi další indikace patřila parenterální výživa, substituce krevních derivátů a podávání dalších léčiv. Pokud to bylo možné, volili jsme pro účely PICC v. basilica, v případě, že nebyla basilická vena dostatečně široká, přiklonili jsme se k punkci via v. cephalica nebo v. brachialis. Co se týká periimplantačních komplikací, došlo jedenkrát k punkci brachiální tepny, jedenkrát došlo k primární malpozici katetru do VJ, jedenkrát se nepodařilo PICC zavést. Všechny komplikace se však vyskytly v době zavádění nové metody na našem pracovišti, tedy v době seznamování se s technikou implantace. Dosud jsme ani u jednoho pacienta nezaznamenali rozvoj katetrové sepse, u dvou pacientů bylo nutné provést během následné péče ošetření inflamace v okolí vpichu, u dvou pacientek docházelo po několika měsících k iritaci kůže se vznikem mikrobiálního ekzému pod krytím, a proto jsme je následně indikovali k zavedení portu. U jedné pacientky, kde byl PICC zaveden via v. basilica, došlo k rozvoji trombózy horní končetiny, avšak v oblasti v. cephalica a v. axillaris. Vzhle-

dem k nemožnosti užít pro žilní vstup druhostrannou končetinu (šlo o pacientku s karcinomem prsu) a probíhající chemoterapii jsme se rozhodli PICC ponechat a sledovat vývoj trombózy na terapeutické dávce nízkomolekulárního heparinu. Došlo k regresi otoku a parciální regresi trombózy, PICC je nadále plně funkční a pacientka podstupuje ambulantní terapii. Zaznamenali jsme celkem sedm epizod perforace katetru v místě připojení na uzávěrový mechanismus, z toho dvakrát při kontrastním CT vyšetření. Jeden pacient si opravu katetru nepřál, takže byl extrahován, u všech ostatních byl katetr po výměně uzávěrového mechanismu nadále plně funkční. K perforaci katetru došlo v naprosté většině případů u pacientů s nadváhou při katetru zavedeném via v. cephalica, neboť docházelo k mechanickému namáhání katetru při kontrakcích hlavy bicepsu. Stěžejní je správné připevnění PICC ke kůži tak, aby se při pohybu končetinou nikde nezalamoval, je třeba přizpůsobit se konstituci pacienta a nalézt vhodnou polohu. Ve srovnání s literárně uváděnými daty máme výrazně menší počet komplikací (flebitida, trombóza, dyskomfort pacienta). Domníváme se, že vysvětlením je fakt, že všechny PICC zavádíme vždy striktně v oblasti žil paže. PICC totiž na jiných pracovištích v zahraničí zavádějí speciálně školené sestry, mnohdy technikou „naslepo“ a v oblasti antekubitální jamky nebo předloktí, kde je logicky komplikací více [8]. PICC byl u nás dosud implantován 30 pacientům, jedenkrát bylo zavedení neúspěšné. Explantaci jsme dosud provedli u 16 pacientů. Důvodem pro extrakci katetru bylo úspěšné ukončení terapie, destrukce katetru při kontrastním CT vyšetření, explantace na žádost pacienta, samovolná extrakce katetru, výměna za port, zbývajícím pacientům exitovali. Průměrná délka zavedení PICC byla u těchto pacientů 86,6 dne. Nicméně u dvou pacientů došlo k neočekávanému exitu do 4 dní od zavedení PICC (v jednom případě šlo o pacientku s difúzním velkobuněčným lymfomem, u které se rozvinul refrakterní septický šok po prvním cyklu chemoterapie, ve druhém případě se jednalo o pacientku s tumorem pankreatu, která zemřela na akutní plicní



Graf 2. Důvod zavedení PICC.

embolií). Kdybychom tyto případy nezahrnuli do statistického vyhodnocení, byla by celková průměrná délka používání PICC 98,4 dne. U dalších 13 pacientů je PICC nadále používán, v době psaní tohoto článku byla cca u dvou třetin z nich průměrná délka zavedení delší než 60 dní. Soubor našich pacientů je samozřejmě malý, a proto nejsou data zatím jistě statisticky signifikantní.

Diskuze

Mezi hlavní výhody PICC patří bezpečnost (odpadá riziko periimplantačních komplikací, které jsou popisovány při kanylaci centrální žíly klasickými přístupy), nižší riziko trombózy a katetrové sepse. Není potřeba aplikovat heparinovou zátku, protože katetr je vybaven speciální chlopní, která uzavírá lumen a zabraňuje zpětnému toku krve. Ventil se otevírá při aplikaci nebo aspiraci katetrem. K proplachům je užíván fyziologický roztok. Dříve používané PICC bez chlopně vykazovaly statisticky vyšší riziko trombotických a infekčních komplikací [9]. Chlopeň je umístěna buď distálně na konci katetru v žíle, anebo proximálně při vstupu do těla. Katetry s proximálně uloženou chlopní mají pravděpodobně menší riziko infekčních komplikací a okluzí [10]. Další výhodou je, že PICC se

nemusí šít ke kůži, katetr je k ní přilepen speciálním mechanismem na mediální straně paže (obr. 4). Po zavedení PICC odpadá nutnost opakovaného zavádění CVK a zhotovování skiagramu k ověření polohy kanyly při každém cyklu chemoterapie. Zejména u pacientů s koagulačními poruchami je zabezpečení žilního přístupu rizikové a PICC je bezpečnou variantou zajištění permanentního vstupu. Máme zkušenost s bezpečným zavedením PICC u pacientky s trombocytopenií $5 \times 10^9/l$. V časopise *Journal of Thrombosis and Haemostasis* byl uveřejněn článek, ve kterém autoři srovnávají PICC vs periferní žilní linky u pacientů vyžadujících nitrožilní terapii po dobu více než 5 dní. Průměrný počet venepunkcí ve skupině pacientů s PICC byl 1,36 vs 8,25 ve skupině pacientů, u kterých byla zajištěna periferní kanyla. Spokojenost s PICC vs periferní linkou byla 96,8 %, resp. 79,3 % [11].

Mezi hlavní komplikace PICC patří především nemožnost zavedení katetru (naprostá insuficience periferního žilního systému, trombóza, obliterace žíly). Stejně jako u každého jiného žilního vstupu může dojít k punkci tepny, k následné flebitidě, trombóze, krvácení a infekci. Je nutno vytvořit zkušený tým, který je schopen PICC zavádět, a edukovat personál stran dlouhodobé péče o katetr, který je v typickém případě zaveden několik týdnů či měsíců. Mnoho studií se zabývalo výskytem komplikací v souvislosti s PICC u onkologických pacientů. Data jsou velmi různorodá a v zásadě lze konstatovat, že studie z 90. let minulého století a začátku tohoto století prokazovaly velkou míru komplikací, převážně infekčních [12–14]. Až třetina PICC musela být předčasně ukončena z důvodu komplikací [13]. Optimálně by měl být průměr žíly alespoň čtyřikrát širší než průměr PICC, aby bylo redukováno riziko trombózy. U katetrů průměru 4 Fr. bylo v jedné studii riziko trombózy 1 %, u 5 Fr. 6,6 % a u 6 Fr. 9,8 % [15]. Průměr dnes běžně používaných katetrů je 3–4 Fr. Některá retrospektivní data naznačují, že u hematooonkologických pacientů je vyšší riziko trombózy u PICC ve srovnání s klasickými centrálními kanylami [16]. Ve studii čínských autorů u pacientek s karcinomem prsu byla zase

úspěšně testována infuzní premedikace dexamethazonem a lidocainem před implantací PICC s cílem redukovat mechanickou flebitidu [17]. S vývojem nových materiálů a vypracováním všeobecných doporučení pro implantaci a manipulaci s PICC však byla rizika minimalizována.

V metaanalýze 223 prospektivních studií sledujících riziko infekce ve spojitosti s různými typy VAD je nejvyšší riziko u netunelizovaných CVK, v sestupném pořadí následuje tunelizovaná CVK, periferní kanyla, nejnižší riziko je u PICC a samozřejmě u portů, kde je průměrné riziko katetrové infekce na 1 000 zavedených dnů jen 0,2 %. Při průkazu katetrové sepse je doporučeno odstranění katetru a systémové podávání antibiotik po dobu minimálně 10 dní. V případě, že u pacienta není možnost zavedení jiného žilního vstupu, může zůstat katetr in situ, nicméně podmínkou je kombinovaná terapie širokospektrými antibiotiky a používání antibiotické zátky [18]. V prospektivní randomizované studii byly testovány netunelizované centrální kanyly impregnované minocyclinem a rifampinem se slibnými výsledky redukce rizika katetrové sepse, nicméně srovnání bylo provedeno oproti ramenu s neimpregnovanými netunelizovanými kanylami v délce zavedení několik týdnů [19]. V dnešní době je vypracována řada postupů a návodů zabývajících se prevencí a řešením katetrových infekcí [20].

Na pracovištích, která mají rozsáhlé zkušenosti se zaváděním permanentních žilních vstupů, jsou užívány i netradiční přístupy do centrálního systému. Mezi ně patří např. kanylace via v. brachiocephalica, v. renalis, v. intercostalis, v. azygos a v. hemiazygos. Jsou užívány i různé přístupy do dolní duté žíly – translumbální, transhepatický i transrenální. Zcela ojedinělým přístupem je rovněž využití přítomnosti kolaterálního oběhu, někdy značně rozšířeného v případě maligních onemocnění. Na odborných konferencích jsou např. zmínky o kanylaci perigastrických kolaterál u pacienta s bronchogenním karcinomem při nemožnosti využití standardního žilního přístupu [21].

V České republice je nitrožilní terapie vedena dominantně cestou periferních žil, a to především v onkologii, což

není v některých případech optimální. Je zarážející, že velká část pacientů indikovaných k zavedení portu nebo PICC je odeslána až po destrukci periferního řečiště. Stále sice přibývá pracovišť, kde se venózní porty implantují, nicméně ve srovnání s nejvyspělejšími státy jsme v počtu zavedených portů na počet obyvatel stále daleko pozadu.

PICC se v ČR zavádí jen na několika málo pracovištích a jsme přesvědčeni, že do obecného povědomí se tato metoda bude dostávat čím dál víc, neboť má široké uplatnění, a to jak v léčbě intenzivní, tak v léčbě paliativní.

Závěr

Indikací k zavedení permanentního žilního vstupu by měla být rozvaha přihlížející ke strategii léčby (typ nádorového onemocnění, charakter chemoterapie, délka trvání aj.) a vlastnostem daného pacienta (nedostatečný povrchový žilní systém, strach z jehel aj.), nikoliv devastace periferního žilního systému. Indikace pro výběr daného permanentního žilního vstupu (PICC nebo port) se částečně překrývají, evidentní doporučení pro výběr konkrétního permanentního vstupu chybí. Nicméně jisté indicie se nabízejí. PICC volíme hrubě orientačně u plánované léčby v délce trvání do 3, případně 6 měsíců, u pacientů v horším výkonnostním stavu, v paliativní a symptomatické péči, u pacientů s poruchou krevního srážení apod. Průměrná délka zavedení PICC činí v našem centru cca 3 měsíce. Výhody PICC jsme ocenili především u pacientů s hemokoagulačními poruchami a u pacientů v trombocytopenii, při nutnosti parenterální alimentace a v případě naprosté insuficience periferie. PICC jsou výhodné rovněž u režimů s vyšším výskytem trombocytopenií (myelosupresivní cytostatické režimy obecně, karboplatina, gemcitabin aj.) Rutinně nabízíme PICC pacientům s germinálními nádory při chemoterapii BEP a nemocným se spinocelulárním karcinomem anu, vhodné je dále použití u pacientů s karcinomem jícnu při konkomitantní neoadjuvantní radiochemoterapii, kdy je nutné zajištění centrálního vstupu a není přitom mnohdy předem jasné, zda bude po operaci následovat další chemoterapie, anebo bude chirurg-

gická intervence definitivním řešením. Iniciální indikace k implantaci portu by byla v těchto případech unáhlená a neekonomická. Žádoucí je zavedení PICC u všech diagnóz, kdy jsou malignitou postiženy měkké tkáně v oblasti krku a opakované punkce v této oblasti nejsou vhodné, o to víc v nepříznivém terénu po předchozí radioterapii. Podstatným faktorem je však vždy délka plánované léčby a přání pacienta. Port je naopak ideální pro ambulantně léčené pacienty, pro léčbu trvající déle než 6 měsíců, adjuvantní režimy apod. Kontinuální režimy s 5-fluorouracilem by měly být aplikovány striktně do centrálního systému, volba permanentního vstupu je v tomto případě individuální a odvíjí se od charakteru onemocnění. Máme dobré zkušenosti jak s aplikací do portu, tak při podávání cestou PICC. Kládeme velký důraz na podpůrnou léčbu v onkologii a možnost zajištění trvalého žilního vstupu přímo na našem pracovišti (ať už formou PICC, anebo portu) je výhodou. Jsme přesvědčeni, že nitrožilní léčbu můžeme podávat bezpečněji, šetrněji, a je-li permanentní žilní vstup zvolen indikovaně, lze dokladovat i benefit ekonomický.

Literatura

1. Tilton H. How to fine-tune your PICC care. RN 2006; 69(9): 30–5; quiz 36, 44.
2. Gallieni M, Pittiruti M, Biffi R. Vascular access in oncology patients. CA Cancer J Clin 2008; 58(6): 323–346.
3. Fry C, Aholt D. Local anesthesia prior to the insertion of peripherally inserted central catheters. J Infus Nurs 2001; 24(6): 404–408.
4. Forauer AR, Alonzo M. Change in peripherally inserted central catheter tip position with abduction and adduction of the upper extremity. J Vasc Interv Radiol 2000; 11(10): 1315–1318.
5. Tamburro RF, Conner DT, Proctor KE et al. The effect of a mediastinal mass on the initial positioning of a peripherally inserted central venous catheter. J Infus Nurs 2003; 26(2): 92–96.
6. Harter C, Ostendorf T, Bach A et al. Peripherally inserted central venous catheters for autologous blood progenitor cell transplantation in patients with haematological malignancies. Support Care Cancer 2003; 11(12): 790–794.
7. Griffiths VR, Philpot P. Peripherally inserted central catheters (PICCs): do they have a role in the care of the critically ill patient? Intensive Crit Care Nurs 2002; 18(1): 37–47.
8. Simcock L. No going back: advantages of ultrasound-guided upper arm PICC placement. JANA 2008; 13(4): 191–197.
9. Hoffer EK, Borsa J, Santulli P et al. Prospective randomized comparison of valved versus nonvalved peripherally inserted central vein catheters. AJR Am J Roentgenol 1999; 173(5): 1393–1398.
10. Hoffer EK, Bloch RD, Borsa JJ et al. Peripherally inserted central catheters with distal versus proximal valves: prospective randomized trial. J Vasc Interv Radiol 2001; 12(10): 1173–1177.
11. Periard D, Monney P, Waeber G et al. Randomized controlled trial of peripherally inserted central catheters vs. peripheral catheters for middle duration in-hospital intravenous therapy. J Thromb Haemost 2008; 6(8): 1281–1288.
12. Cheong K, Perry D, Karapetis C et al. High rate of complications associated with peripherally inserted central venous catheters in patients with solid tumours. Intern Med J 2004; 34(5): 234–238.
13. Walshe LJ, Malak SF, Eagan J et al. Complication rates among cancer patients with peripherally inserted central catheters. J Clin Oncol 2002; 20(15): 3276–3281.
14. Yap YS, Karapetis C, Lerosé S et al. Reducing the risk of peripherally inserted central catheter line complications in the oncology setting. Eur J Cancer Care (Engl) 2006; 15(4): 342–347.
15. Grove JR, Pevec WC. Venous thrombosis related to peripherally inserted central catheters. J Vasc Interv Radiol 2000; 11(7): 837–840.
16. Cortelezzi A, Fracchiolla NS, Maisonneuve P et al. Central venous catheter-related complications in patients with hematological malignancies: a retrospective analysis of risk factors and prophylactic measures. Leuk Lymphoma 2003; 44(9): 1495–1501.
17. Yi S, Wang Y, Li D et al. Influence of PICC catheter pretreatment on the mechanical phlebitis in breast cancer patients receiving chemotherapy. Chinese J Clin Oncol Rehab 2007; 1.
18. Hachem R, Raad I. Prevention and management of long-term catheter related infections in cancer patients. Cancer Invest 2002; 20(7–8): 1105–1113.
19. Hanna H, Benjamin R, Chatzinikolaou I et al. Long-term silicone central venous catheters impregnated with minocycline and rifampin decrease rates of catheter-related bloodstream infection in cancer patients: a prospective randomized clinical trial. J Clin Oncol 2004; 22(15): 3163–3171.
20. Miller DL, O'Grady NP. Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections: recommendations relevant to interventional radiology. J Vasc Interv Radiol 2003; 14 (9 Pt 2): S355–S358.
21. Gebauer B. Uncommon approaches in venous access. Macova 4th Multidisciplinary advanced course on venous access. London, 20th–22nd October 2010 [online]. Available from www.evanetwork.info/uploads/macova_iv-draft_agenda.pdf.
22. Cardiacarestaffing.com [online]. 2008. Cardiac care staffing. Available from <http://cardiacarestaffing.com/piccline.html>.

Srovnávací proteomická analýza krevní plazmy pacientů s mnohočetným myelomem léčených režimy s bortezomibem

Comparative Plasma Proteomic Analysis of Patients with Multiple Myeloma Treated with Bortezomib-based Regimens

Čumová J.^{1,2}, Jedličková L.³, Potěšil D.^{3,4}, Šedo O.⁴, Stejskal K.³, Potáčová A.¹, Zdráhal Z.³, Hájek R.^{1,5,6}

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

² Oddělení klinických laboratoří, Nemocnice Blansko

³ Oddělení funkční genomiky a proteomiky, Ústav experimentální biologie, PŘF MU Brno

⁴ Výzkumná skupina Proteomika CF, Mendelovo centrum genomiky a proteomiky rostlin, Středoevropský technologický institut, MU Brno

⁵ Laboratoř experimentální hematologie a buněčné imunoterapie, Oddělení klinické hematologie, FN Brno

⁶ Interní hematologická klinika, LF MU a FN Brno

Souhrn

Východiska: Termín biomarker se v posledních letech stal, zvláště pak ve spojení s termínem klinická proteomika, jedním z nejfrekventovanějších pojmů v oblasti biomedicínského výzkumu. Předmětem této práce byl výběr vhodné metody frakcionace krevní plazmy umožňující oddělení majoritních proteinů od nízkobundantní proteinové frakce před následnou proteomickou analýzou pomocí dvourozměrné gelové elektroforézy (2-DE) s cílem zlepšit rozlišení 2-DE mapy a identifikaci proteinů hmotnostní spektrometrií. **Materiál a metody:** Nejprve bylo provedeno paralelní srovnání dvou metod frakcionace krevní plazmy (depleční kolona MARS vs ProteoMiner) na souboru 10 vzorků. Na základě výsledků srovnávacích experimentů byla k analýze vzorků 18 pacientů nemocných mnohočetným myelomem a léčených režimy s bortezomibem použita frakcionační metoda ProteoMiner v kombinaci s 2-DE. Soubor pacientů byl rozdělen na dvě skupiny: skupina pacientů rezistentních na chemoterapii (9 pacientů – progresse onemocnění, stabilizace onemocnění) a skupina pacientů s pozitivní léčebnou odpovědí (9 pacientů – kompletní a parciální remise). **Výsledky a závěr:** Metoda ProteoMiner umožnila na 2-DE mapách signifikantně zvýšit počet proteinových spotů ve srovnání s imunodepleční metodou MARS (Multiple Affinity Removal System). Mezi skupinami pacientů chemorezistentních a pacientů citlivých na léčbu bortezomibem bylo pomocí analýzy obrazu 2-DE gelů zjištěno 15 rozdílových proteinových spotů, které byly analyzovány hmotnostní spektrometrií. V těchto spotech bylo identifikováno 10 proteinů. Sedm proteinů vykazovalo signifikantně nižší hladinu proteinu ve skupině chemosenzitivních pacientů (sérový amyloid P, fibrinogen – gama řetězec, retinol-vazebný protein 4, komplement faktor C4-A, apolipoprotein E, karboxypeptidáza N, komplement faktor H – příbuzný protein 1) a 3 proteiny vykazovaly signifikantně vyšší hladinu proteinu nebo byly detekovány pouze ve skupině chemosenzitivních pacientů (sérová paraoxonáza 1, alfa-1-antitrypsin a komplement faktor B).

Klíčová slova

mnohočetný myelom – proteomika – elektroforéza gelová dvourozměrná – plazma – protein – bortezomib

Tato práce byla podpořena granty MŠMT ČR (LC06027 a MSM0021622434) a projektem IGA MZ (NS9683) a NT 12130) a grantem GAČR GAP304/10/1395..

This work was supported by grants of Ministry of Education, Youth and Sports of the CR (LC06027 a MSM0021622434) and IGA MZ (NS9683) and NT12130) and grant of The Czech Science Foundation GAP304/10/1395..

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

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

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

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



prof. MUDr. Hájek Roman, CSc.
Ústav patologické fyziologie
Lékařská fakulta MU
Kamenice 5
625 00 Brno
e-mail: r.hajek@fnbrno.cz

Obdrženo/Submitted: 3. 6. 2011
Přijato/Accepted: 8. 9. 2011

Summary

Backgrounds: Recently, the term biomarker has become, especially in connection with the term clinical proteomics, one of the most frequent terms in the field of biomedical research. The aim of this work was to select an appropriate pre-fractionation method of blood plasma prior to a subsequent proteomic analysis of low-abundant fraction of proteins by two dimensional gel electrophoresis (2-DE) and mass spectrometry to improve the resolution of 2-DE maps and protein identification. **Materials and Methods:** First, we compared two prefractionation methods (MARS versus ProteoMiner) preceding 2-DE analysis using 10 blood plasma samples. Based on the results of the comparative experiments, low-abundant plasma protein fractions from 18 multiple myeloma patients treated with bortezomib were analyzed. Patients were divided into two groups: a group resistant to chemotherapy (9 patients – disease progression, stable disease) and a group with positive clinical response (9 patients – complete and partial remission). **Results and Conclusion:** Samples prefractionated by ProteoMiner method yielded 2-DE maps with a significantly increased number of detected protein spots, as compared to immunodepletion method MARS (Multiple Affinity Removal System). Between groups of chemoresistant and sensitive patients treated with bortezomib, 15 differently intense spots were revealed by image analysis. These spots were found to correspond to 10 proteins, as confirmed by mass spectrometry. Seven proteins had significantly lower protein level in the group of chemosensitive patients (serum amyloid P, fibrinogen – gamma chain, retinol-binding protein 4, complement factor C4-A, apolipoprotein E, carboxypeptidase N and complement factor H-related protein 1) and 3 proteins showed significantly higher levels of protein (or were only detected) in the group of chemosensitive patients (serum paraoxonase 1, alpha-1-antitrypsin and complement factor B).

Key words

multiple myeloma – proteomics – two dimensional gel electrophoresis – plasma – protein – bortezomib

Úvod

Moderní medicína využívá k diagnostice nemocných stanovení hladin látek, které jsou pro dané procesy charakteristické (tzv. „biomarkery“). Mezi typické tělní tekutiny, u kterých je prováděna analýza prognostických a prediktivních biomarkerů nádorových onemocnění, patří krevní sérum, plazma, moč a mozkomíšní mok [1,2]. Méně často se provádí rozbor slin, bronchoalveolární laváže, amniotické nebo folikulární tekutiny. Lidská krevní plazma představuje komplexní tělní tekutinu, kde jsou navíc proteiny přítomny v řádově rozdílných koncentracích (až 10^{10}) [3]. Zdrojem diverzity proteinů je např. alternativní sestřih mRNA a posttranslační modifikace [4,5]. Dvourozměrná gelová elektroforéza (2-DE) je již klasickou metodou pro separaci proteinových směsí před jejich identifikací hmotnostní spektrometrií (MS) [6–8]. Metoda má omezenou kapacitu vzhledem k množství a velikosti analyzovaných proteinů a neumožňuje detekci proteinů s nízkou hladinou exprese [9,10]. Většina potenciálních biomarkerů se v plazmě vyskytuje právě v nízkých koncentracích a nadbytek albuminu a protilátek jejich analýzu komplikuje. Proto je odstranění abundantních proteinů z krevní plazmy (deplece) často prvním a rozhodujícím krokem celého postupu. Odstranění abundantních proteinů by mělo být v ideálním případě úplné, kvantitativní a především repro-

dukovatelné. Pro tyto účely se často využívají depleční kolony, které vyvazují většinou zastoupené proteiny na bázi specifických interakcí s imobilizovanými protilátkami. Např. imunodepleční metodou Multiple Affinity Removal System (MARS) lze odstranit 6 nebo 14 nejhojněji zastoupených lidských proteinů krevní plazmy [11,14], séra [15,16] či moče [17]. Některé výsledky prací však poukazují na neúplnou depleci vysoce zastoupených proteinů [16,18,19]. Bellei et al. popsali odstranění některých necílených proteinů z frakce nízkoabundantních proteinů [20]. Tu et al. také popsali, že některé proteiny lidské plazmy, jako je alfa-1-kyselý glykoprotein 1, alfa-1-kyselý glykoprotein 2 a alfa-1-antichymotrypsin, se rovněž vážou na MARS kolonu [21].

Novým přístupem prepurifikace (frakcionace) krevní plazmy je afinitní nedepleční metoda ProteoMiner™ (Bio-Rad Laboratories, USA), která využívá rozdílu ve vazebných afinitách přítomných proteinů k hexapeptidům [22–24]. Hexapeptidy jsou, podobně jako protilátky u deplečních kolonek, imobilizovány na vhodném nosiči uloženém v prepurifikační koloně. V koloně jsou pak přítomny ve stejném množství odlišné hexapeptidy z rozsáhlé hexapeptidové knihovny. Každý hexapeptid přitom vykazuje rozdílnou proteinovou specifitu. Výsledkem je omezená celková vazebná kapacita kolony pro konkrétní proteiny. Vysoce

abundantní proteiny jsou tak na koloně zachyceny jen částečně, kdežto proteiny o nízké vstupní koncentraci jsou naopak zachyceny poměrově více. Při celém procesu je navíc zachována informace o relativní kvantitě proteinu, což umožňuje relativní srovnání více vzorků. Nutno však dodat, že existuje i práce poukazující na možný odlišný princip funkce metody ProteoMiner [25].

Cílem této práce bylo srovnání obou metod frakcionace krevní plazmy nezbytné před 2-DE proteomickou analýzou nízkoabundantní frakce proteinů s cílem zvýšit počet rozlišitelných proteinových spotů obrazu 2-DE mapy, které by umožnilo identifikovat proteinové změny charakteristické pro pacienty senzitivní a chemorezistentní na podané antimyelomové léčivo.

Materiál a metody

Zpracování odebrané krve

Vzorky krevní plazmy byly získány od 28 pacientů nemocných mnohočetným myelomem (MM) a léčených na Interní hematologické klinice LF MU a FN MU Brno po podepsání informovaného souhlasu s odběrem biologického materiálu. Lidská krev byla odebrána do uzavřeného odběrového systému S-Monovette (2,7 ml zkumavka s K_2 EDTA, Sarstedt, Německo) a centrifugována 15 min při 2 200 g 20 °C. Plazma byla rozdělena do alikvotů po 0,5 ml a zamrazena do –80 °C pro následnou analýzu. Vzorky 10 pa-

Tab. 1. Základní charakteristika souboru.

	Počet	Procenta
Pacienti	18	100
věk, medián	67	
rozmezí	49–79	
Pohlaví	18	100
muži	13	72
ženy	5	28
Klinický stav podle Durie-Salmona	18	100
I	1	6
II	3	16
III	14	78
Typ paraproteinu	18	100
IgG	9	50
IgA	6	33
IgD	1	6
lehké řetězce	2	11
Aplikovaný léčebný režim	18	100
CVD-junior	9	50
CVD-senior	6	33
BDD	3	17
Léčebná odpověď	18	100
CR/sCR	1	1
VGPR	4	22
PR	1	6
SD	3	17
PG	6	33

CVD junior = cyklofosamid, bortezomib, dexametazon pro nemocné do věku 65 let, CVD senior = cyklofosamid, bortezomib, dexametazon pro nemocné nad 65 let, BDD = bortezomib (Velcade), dexametazon, doxorubicin, CR = kompletní remise s negativní imunofixací, sCR = stringent CR (normální výsledek vyšetření FLC v séru a nepřítomnost klonu plazmatických buněk), VGPR = velmi dobrá parciální remise (pokles M-proteinu ≥ 90 % vstupní hodnoty), PR = parciální remise (pokles M-proteinu ≥ 50 % vstupní hodnoty), SD = stabilizace onemocnění (změna hodnoty M-proteinu, resp. pokles či vzestup o méně než 25 % vstupní hodnoty), PG = progresse onemocnění (≥ 25 % nárůst původní hodnoty M-proteinu, vznik nových kostních ložisek, hyperkalcemie nebo jiné známky zhoršování stavu).

cientů byly použity pro srovnávací studii frakcionačních postupů, vzorky druhé skupiny 18 pacientů vybrané pro vlastní proteomickou analýzu byly pak zpracovány zvoleným postupem. Základní charakteristika těchto 18 pacientů, u kterých byla provedena srovnávací 2-DE analýza, je uvedena v tab. 1.

Frakcionace proteomu krevní plazmy

Po rozmrazení byla plazma centrifugována (5 min při 16 000 g, 20 °C) přes 0,22 μ m filtr (Agilent Technologies, USA). Frakce nízkoabundantních proteinů

10 vzorků krevní plazmy byly získány paralelně metodou ProteoMiner (Bio-Rad, USA) a metodou afinitní chromatografie na koloně MARS-6-Hu (4,6 $\times$ 100 mm; Agilent Technologies, USA). U obou metod bylo postupováno podle pokynů výrobce (obr. 1).

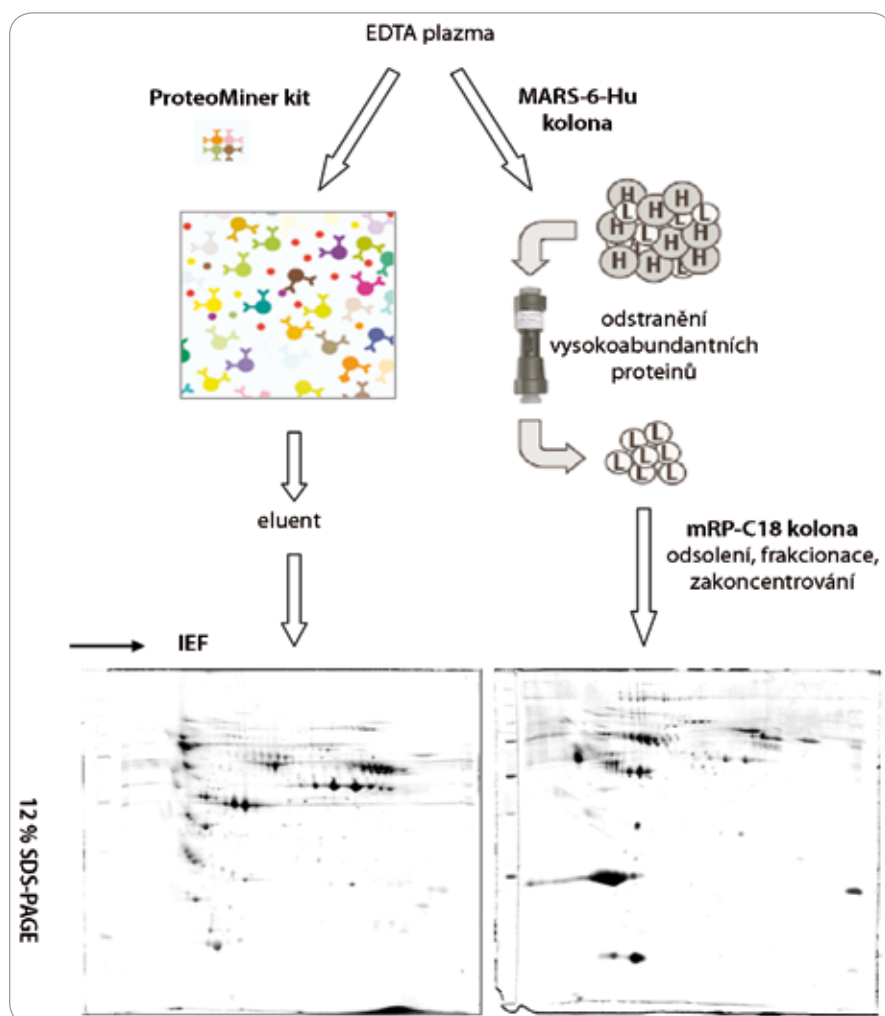
ProteoMiner

Alikvóty plazmy (1 ml od každého pacienta) byly pipetovány do ProteoMiner centrifugačních kolon a inkubovány 2 hod na rotátoru SB3 Stuart (BioCote, UK) při 20 °C. Po promytí ko-

lony (3 $\times$ 5 min) puforem obsahujícím 150 mmol/l NaCl, 10 mmol/l NaH₂PO₄ pH 7,4 (3 $\times$ 5 min, 1 ml pufru) byly frakce nízkoabundantních proteinů z kolony vymyty elučním puforem (Bio-Rad, USA) obsahujícím 8 mol/l močovinu a 2% 3-3[(3-cholamidopropyl)dimethylamonio]propan-1-sulfonát (CHAPS), 3 $\times$ 15 min při 750 rpm, 20 °C se 100 μ l pufru. Všechny 3 eluované frakce od každého pacienta byly spojeny do jedné frakce.

Metoda MARS (Multiple Affinity Removal System)

Metodou MARS bylo odstraněno celkem 6 vysokoabundantních proteinů lidské krevní plazmy: albumin, IgG, IgA, transferrin, alfa-1-antitrypsin a haptoglobin. Vzorek plazmy od každého pacienta byl zpracován paralelně dvakrát. Plazma byla 4 $\times$ naředěna v pufru A (Agilent Technologies, USA): 80 μ l plazmy + 240 μ l pufru A. Nízkoabundantní frakce proteinů byla získána promytím kolony puforem A při průtoku 0,5 ml/min a frakce vysokoabundantních proteinů byla získána promytím kolony puforem B při průtoku 1 ml/min (obr. 2). Jednotlivé frakce nízkoabundantních proteinů (500–600 μ l) byly odsoleny kapalinovou chromatografií na koloně mRP-C18 s makroporézní silikou (4,6 $\times$ 50 mm; Agilent Technologies, USA) při 80 °C a průtoku 0,75 ml/min. Mobilní fáze A obsahovala 0,1% (v/v) kyseliny trifluoroctovou (TFA, Sigma-Aldrich, USA) a 3% (v/v) acetonitril (ACN, Merck, Německo) ve vodě, mobilní fáze B pak 97% (v/v) ACN a 0,08% (v/v) TFA ve vodě. Gradientová eluce začínala na 10 % mobilní fáze B a lineárně rostla na 70 % mobilní fáze B v prvních 5 minutách. V průběhu následující jedné minuty obsah mobilní fáze B vzrostl na 100 % a na této hodnotě zůstal další 2 minuty. Poté následovala reekvilibrace kolony 10 % mobilní fáze B. Frakcionace byly provedeny na kapalinovém chromatografu od firmy Waters. Na vakuové odparce SpeedVac (Thermo Scientific, USA) byly získané frakce obsahující nízkoabundantní proteiny odpařeny a proteinové pelety byly rozpuštěny v 60 μ l IPG8 pufru obsahujícím 7 mol/l močovinu, 2 mol/l thiomočovinu, 4% CHAPS, 60 mmol/l dithiotreitol (DTT), 0,8% (v/v) amfolyt Pharmalyte pH



Obr. 1. Zjednodušený schematický postup paralelního zpracování vzorků krevní plazmy metodami ProteoMiner (Bio-Rad, USA) a MARS (Multiple Affinity Removal System, Agilent Technologies, USA).

Tab. 2. Přehled o počtu proteinových spotů na obrazech 2-DE map identifikovaných PDQuest programem.

Pacient číslo	Medián (rozpětí)	
	ProteoMiner (Bio-Rad)	MARS-6 (Agilent Technologies)
1	315 (308–321)	122 (121–123)
2	322 (314–330)	122 (117–126)
3	248 (246–249)	129 (126–132)
4	305 (299–311)	94 (83–104)
5	314 (308–319)	84 (73–95)
6	321 (319–322)	117 (117–117)
7	325 (319–331)	106 (105–106)
8	330 (321–331)	99 (97–101)
9	305 (288–322)	105 (104–106)
10	338 (331–344)	118 (118–118)
medián (rozpětí)	318 (248–338)	111 (84–129)
Wilcoxonův párový test	p = 0,005	

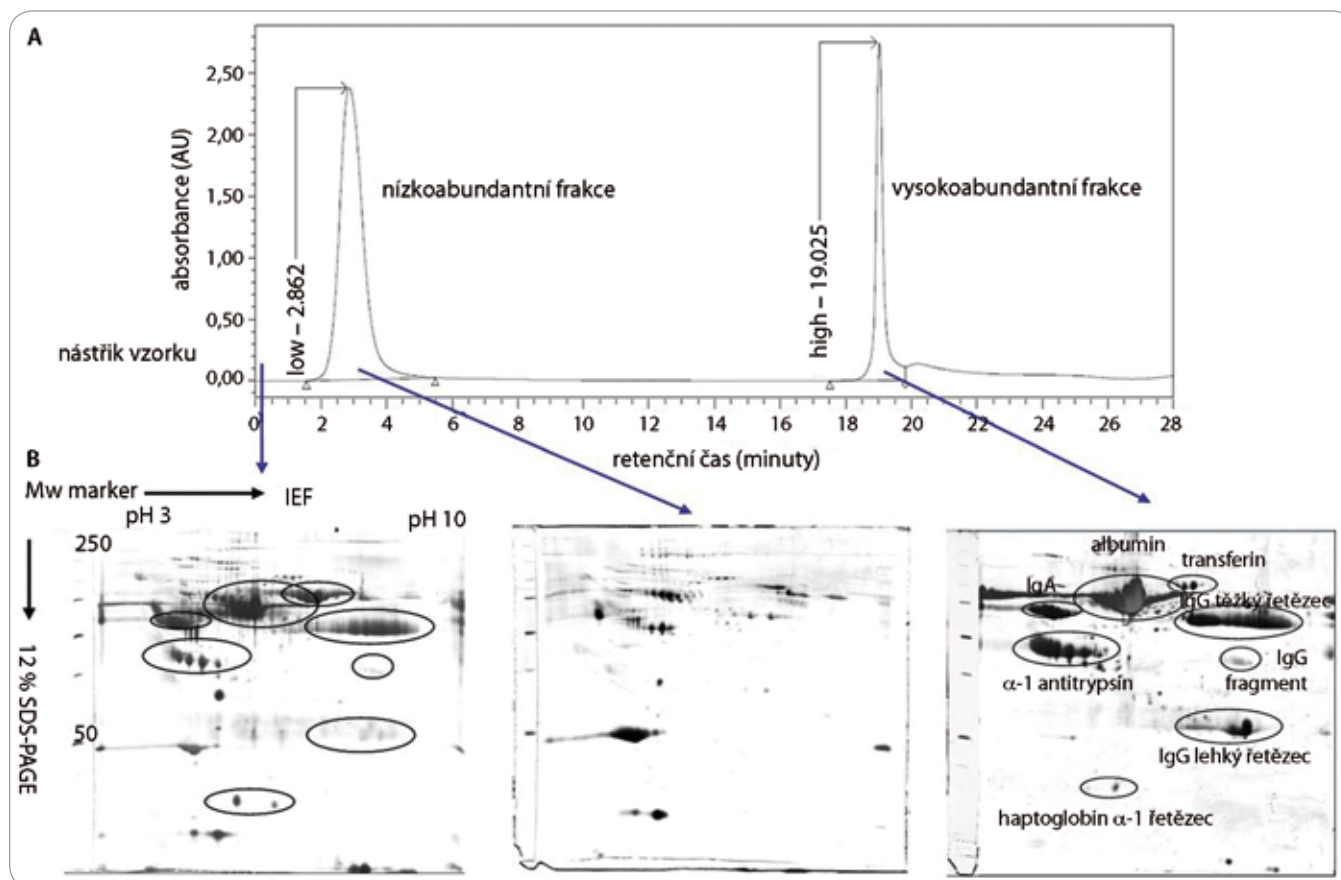
3–10, 0,003% (w/v) bromfenolovou modř (vše Sigma-Aldrich, USA). Celková koncentrace proteinů byla stanovena pomocí soupravy BioRad Protein Assay podle metody Bradfordové [26] na spektrofotometru SmartSpec Plus, s použitím standardu γ -globulinu (vše Bio-Rad, USA).

Dvourozměrná gelová elektroforéza (2-DE)

2-DE separace vzorku od každého pacienta byly prováděny v duplikátu. Proteiny krevní plazmy (100 μ g/315 μ l IPG8 pufru) byly nanášeny na komerčně dostupné proužky s imobilizovaným nelineárním pH gradientem (ReadyStrip IPG Strips o délce 18 cm, pH 3–10, Bio-Rad, USA). Přes noc probíhala pasivní rehydratace vzorku na zvolený proužek (16 hod, 20 °C). První rozměr 2-DE byl proveden na izoelektrickém fokuzátoru Protean IEF cell (Bio-Rad, USA) při teplotě 20 °C v následujících krocích: 1) 150 V, 30 min, 2) 1 500 V, 3 hod, 3) 3 500 V, 3 hod, 4) 5 000 V, 80 kVh, 5) 500 V, 24 hod. Po izoelektrické fokuzaci (IEF) byla při 20 °C provedena v IPG proužku 1) redukce proteinů 2% (w/v) DTT (10 min) a 2) alkylace proteinů 2,5% (w/v) jodacetamidem (IAA, Sigma-Aldrich, USA), 10 min, které byly rozpuštěny v ekvilibračním pufru obsahujícím 6 mol/l močovinu, 0,375 mol/l Tris(hydroxymethyl)-aminomethan pH 8,8 (Tris-HCl, Serva, USA), 2% (w/v) dodecylsulfát sodný (SDS, Serva, USA); 30% (v/v) glycerol. IPG proužek byl přenesen na 12% polyakrylamidový gel o rozměrech 18 $\times$ 20 cm s molekulovým standardem (Precision Plus Protein Standards, Bio-Rad, USA, 1 μ l standardu nanášeného na wicks) a zalit 1% agarózou (Fluka, USA). Elektroforéza probíhala v systému Protean Plus Dodeca Cell (Bio-Rad, USA) v elektroforetickém pufru obsahujícím 19,2 mmol/l glycín (Bio-Rad, USA), 19 mmol/l SDS, 2,5 mmol/l Tris-HCl pH 8,3 za konstantního napětí 50 V, 1 hod a následně 100 V, 17 hod (zdroj PowerPac Universal, Bio-Rad, USA). 2-DE nádoba byla chlazená na 10 °C (Julabo, Labortechnik, Německo).

Vizualizace 2-DE gelů a analýza obrazu

Gely byly fixovány 2 $\times$ 30 min ve fixačním pufru (200 ml/gel) obsahujícím 10% (v/v) ethanol a 7% (v/v) kyselinu octovou (vše



Obr. 2. Multiple Affinity Removal System (MARS) – metoda pro odstranění 6 vysokoabundantních proteinů krevní plazmy. (A) Chromatografický záznam eluce jednotlivých frakcí. (B) Reprezentativní 2-DE gely proteinů plné krevní plazmy (45 µg), nizkoabundantní (100 µg) a vysokoabundantní (350 µg) frakce proteinů krevní plazmy.

Penta, Česká republika). Separované proteiny byly v gelu vizualizovány fluorescenčním barvením Sypro Ruby (Bio-Rad, USA) a snímány na laserovém skeneru Typhoon™ FLA-7000 (Fuji Photo Film Co., Ltd., USA). Analýza obrazu 2-DE gelů byla provedena pomocí programu PDQuest 8. 0. 1 (Bio-Rad, USA). Při vyhodnocení byla provedena normalizace dat, která sloužila k vyrovnání intenzit jednotlivých gelů. Obraz tzv. Master gelu byl vytvořen jako syntetický obraz normalizovaných dat všech 36 2-DE gelů vytvořených z tzv. matchsetu. Pomocí analytických setů byly gely kvalitativně, kvantitativně a statisticky vyhodnoceny (Studentův t-test na hladině významnosti 0,05). Pomocí analýzy byly nalezeny rozdílové proteinové spoty, jejichž intenzita byla 2× nebo 4× snižena nebo zvýšená mezi skupinami pacientů citlivých a chemorezistentních na bortezomib. Zahrnuti jsou kvalitativní změny přesahující desetinásobek hodnoty pozadí.

Identifikace proteinů pomocí hmotnostní spektrometrie

Oblasti gelu obsahující rozdílně zastoupené proteiny mezi 2 skupinami pacientů byly vyřezány pomocí přístroje EXQuest™ Spot Cutter (Bio-Rad, USA). Po odbarvení pak byly proteiny v gelu proteolyticky naštěpeny trypsinem (Promega, USA). Vzniklá směs peptidů byla analyzována pomocí MALDI-MS, resp. MALDI-MS/MS, a v případě dosažení ne-signifikantního výsledku identifikace proteinu následně i kapalinovou chromatografií s tandemovou hmotnostní spektrometrií (LC-MS/MS).

Analýzy technikou MALDI-MS a MS/MS analýzy byly provedeny na přístroji Ultraflex III (Bruker Daltonik, Německo). Vzorek (1 µl) byl na vzorkovací desce AnchorChip smíchan s 0,6 µl roztoku matrice (2 mg/ml, kyselina α-kyano-4-hydroxyskořicová, Bruker Daltonik, Německo) ve směsi 2,5% TFA a 100% ACN, 1 : 2 v/v) [27].

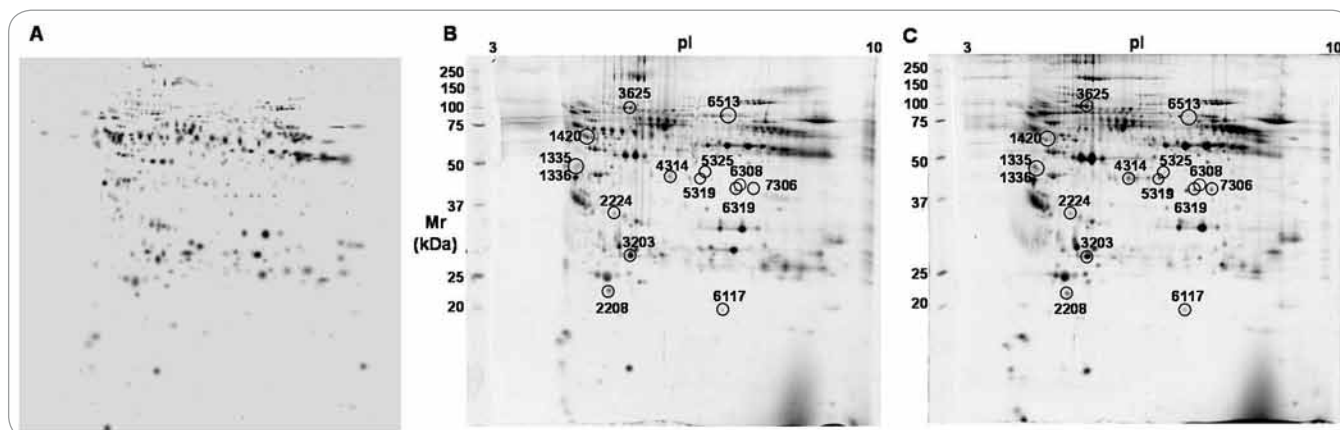
Analýzy tryptických digestů technikou LC-MS/MS byly provedeny na systému EASY-nLC (Proxeon, Thermo Scientific, USA) spojeném on-line s HCTultra PTM Discovery System (Bruker Daltonik, Německo) hmotnostním spektrometrem s iontovou pastí vybaveným nanosprejem. Po odsolení a prekoncentraci na předkoloně (Jupiter Proteo, 100 µm × 30 mm, Phenomenex, USA) byly vzorky separovány na kapilární koloně (X-Bridge BEH 130 C18, 100 µm × 100 mm, Waters, USA) pomocí 0,1% FA/ACN gradientu. Prekoncentrační a separační kolony použité k LC separaci byly plněny podle dříve popsaného postupu [28]. Hmotnostní spektrometr pracoval v pozitivním módu v m/z rozsahu 300–1 500 pro MS a 100–2 500 pro MS/MS spektra.

Ke zpracování MS a MS/MS dat byl použit prohledávací algoritmus MAS-COT 2.2 (MatrixScience, UK). Databázové hledání bylo provedeno proti

Tab. 3. Souhrn identifikovaných proteinových změn charakteristických mezi skupinami pacientů senzitivních a chemorezistentních na bortezomib.

Číslo ^a	Relativní změna exprese ^b	NCBI číslo	Název proteinu (zkratka genu)	Biologická funkce	MALDI-MS		MALDI-MS/MS		LC-MS/MS		Mr (kDa)	pI
					skóre ^c	% ^d	skóre ^c	% ^d	skóre ^c	% ^d		
1335	↑	190194	sérová paraoxonáza 1 (PON1)	metabolické procesy, procesy imunitního systému	82	26	72	4	190	23	37,8	5,0
1336	↑	190194	sérová paraoxonáza 1 (PON1)	metabolické procesy, procesy imunitního systému	ND	–	65	4	135	19	37,8	5,0
6513	↑	187655	komplement faktor B (CFB)	aktivace komplementu, procesy imunitního systému	46	2	127	9	205	3	99,2	6,2
1420	↑	177831	alfa 1-antitrypsin (SERPINA1)	koagulace krve, procesy imunitního systému	182	54	541	23	417	45	46,7	5,4
3625	↓	182439	fibrinogen gama řetězec (FGG)	koagulace krve, metabolismus, procesy imunitního systému	ND	–	ND	–	85	7	49,5	5,6
3203	↓	337758	sérový amyloid P (SAP)	procesy imunitního systému	112	30	448	29	518	29	25,4	6,1
2208	↓	18088326	retinol-vazebný protein 4 (RBP4)	transport	46	30	82	8	92	18	23,0	5,8
2224	↓	178853	apolipoprotein E (APOE)	metabolismus a transport lipidů	159	38	209	32	527	74	36,2	5,8
6117	↓	81175238	komplement faktor C4-A (fragment) (C4A)	aktivace komplementu	ND	–	ND	–	136	4	19,3	6,6
5325	↓	4503011	karboxypeptidáza N (CPN1)	metabolické procesy	108	31	25	3	143	14	52,3	6,9
4314	↓	183763	komplement faktoru H-příbuzný protein 1 (CFHR1)	aktivace komplementu	63	22	106	7	192	22	37,6	7,8
5319	↓	183763	komplement faktoru H-příbuzný protein 1 (CFHR1)	aktivace komplementu	63	19	81	3	240	25	37,6	7,8
6319	↓	148922168	komplement faktor C4-A (fragment) (C4A)	aktivace komplementu	ND	–	ND	–	112	1	18,8	6,8
6308	↓	183763	komplement faktoru H-příbuzný protein 1 (CFHR1)	aktivace komplementu	ND	–	127	9	303	24	37,6	7,8
7306	↓	183763	komplement faktoru H-příbuzný protein 1 (CFHR1)	aktivace komplementu	106	14	31	2	149	18	37,6	7,8

^aČísla proteinových spotů přiřazených z programu PDQuest, jejich pozice je zobrazena na obr. 3. ^bZvýšená (↑) nebo snižená (↓) relativní exprese proteinů mezi skupinami pacientů citlivých a rezistentních na bortezomib. ^cProteinové skóre (míra podobnosti se známým proteinem vypočítaná z MASCOT programu). ^dProcento pokrytí. Vypočítáno podle počtu aminokyselin známého proteinu z MASCOT programu. Molekulová hmotnost (Mr) a izoelektrický bod (pI) byly vypočítány podle zastoupení aminokyselin známého proteinu z programu MASCOT. MALDI-MS: desorpce/ionizace laserem za přítomnosti matrice s tandemovou hmotnostní spektrometrií. MALDI-MS/MS: desorpce/ionizace laserem za přítomnosti matrice s tandemovou hmotnostní spektrometrií. LC-MS/MS: kapalinová chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií, ND: žádná data.



Obr. 3. Ukázky záznamu 2-DE analýzy proteinů od pacientů nemocných mnohočetným myelomem po frakcionaci krevní plazmy metodou ProteoMiner. (A) Syntetický obraz 2-DE tzv. Master gel normalizovaných dat všech 36 2-DE gelů. (B) Reprezentativní 2-DE gel proteinů krevní plazmy pacienta citlivého na léčbu bortezomibem. (C) Reprezentativní 2-DE gel proteinů krevní plazmy pacienta rezistentního na léčbu bortezomibem.

NCBI databázi (neredundantní, taxonomie *Homo sapiens*). U peptidového mapování na základě MALDI-TOF MS dat byla nastavena tolerovaná chyba určení molekulové hmotnosti peptidu na 30 ppm, u MALDI-MS/MS dat pak na 0,5 Da. Při prohledávání ESI-MS/MS dat byla nastavena tolerance 0,5 Da pro MS i MS/MS data s korekcí na hmotnost prekurzorového iontu na jeden ^{13}C atom. Pro všechna hledání byla nastavena oxidace methioninu a karbamidometylace jako variabilní modifikace a jedno povolené vynechané štěpné místo pro trypsin.

Pro určení funkce identifikovaných proteinů byla využita databáze UniProt-KB/Swiss-Prot (<http://www.uniprot.org/>, [29]) a PANTHER klasifikační systém (<http://www.pantherdb.org/>, [30]).

Statistická analýza dat

Statisticky významný rozdíl mezi počtem proteinových spotů získaných metodami ProteoMiner a MARS-6-Hu byl určen Wilcoxonovým párovým testem na hladině významnosti 0,05 (program Statsoft Statistica 10.0).

Výsledky

V této práci jsme porovnali u 10 vzorků krevní plazmy dvě metody (MARS, ProteoMiner) umožňující odstranění vysokoabundantních proteinů krevní plazmy a získání obohacené frakce nízkoabundantních proteinů (obr. 1). Metodou MARS bylo odstraněno celkem 6 majoritních

proteinů krevní plazmy (obr. 2). Frakce nízkoabundantních proteinů získané oběma metodami byly poté separovány metodou 2-DE. U frakcí získaných metodou ProteoMiner bylo na 2-DE mapách detekováno o přibližně 200 proteinových spotů víc než u frakcí získaných metodou MARS, $p < 0,005$. Celkový přehled o počtu identifikovaných proteinových spotů na 2-DE gelech pro obě metody uvádí tab. 2. Na základě těchto výsledků byla metoda ProteoMiner vybrána pro další 2-DE analýzy vzorků krevní plazmy 18 pacientů nemocných MM. Rozdíly v proteinových mapách mezi skupinami pacientů citlivých a rezistentních na podání bortezomib byly určeny pomocí programu PDQuest. Celkem bylo nalezeno 15 rozdílových proteinových spotů (obr. 3), ve kterých bylo identifikováno MS technikami 10 proteinů (tab. 3). Tři proteiny vykazovaly signifikantně nižší hladinu proteinu v celé skupině 9 chemosenzitivních pacientů – sérový amyloid P (spot 3203), fibrinogen – gama řetězec (spot 3625), retinol-vazebný protein 4 (spot 2208). Dvě formy komplementu faktoru C4-A (spoty 6117, 6319) a apolipoprotein E (spot 2224) vykazovaly signifikantně nižší hladinu proteinu u skupiny 8, resp. 6 chemosenzitivních pacientů. U šesti z devíti chemosenzitivních pacientů byla pozorována signifikantně zvýšená exprese tří proteinů – dvě formy sérové paraoxonázy (spoty 1335, 1336), alfa-1-antitrypsin (spot 1420) a komplement faktor B (spot 6513). U celé skupiny 9 chemorezistentních pacientů byly

detekovány signifikantně zvýšené hladiny 2 proteinů: izoformy komplementu faktoru H – příbuzného proteinu 1 (spoty 4314, 5319, 6308, 7306) a karboxypeptidáza N (spot 5325).

Diskuze a závěr

Proteomické přístupy využívané při hledání nových biomarkerů krevní plazmy kombinují postupy založené na frakcionaci, separaci, detekci a identifikaci přítomných proteinů. Aby bylo možné detekovat nízkoabundantní proteiny krevní plazmy, je třeba nejdříve odstranit většinově zastoupené proteiny. K tomuto účelu je na trhu dostupných několik analytických metod [13,31,32]. V naší práci jsme se zaměřili na srovnání dvou prepurifikačních metod umožňujících detekci nízkoabundantních proteinů pomocí 2-DE. Použili jsme dvě afinitní metody: Multiple Affinity Removal System (MARS) a ProteoMiner. Metoda ProteoMiner představuje odlišný, nedepleční systém pro zkoncentrování méně zastoupených proteinů a oproti metodě MARS umožnila detekci přibližně trojnásobného počtu proteinových spotů na 2-DE gelech (318 vs 111 identifikovaných spotů, $p < 0,005$). Výhodami metody ProteoMiner jsou dobrá reprodukovatelnost, jednoduchost postupu a přímá kompatibilita s dalšími proteomickými metodami, jako jsou např. diferenční gelová elektroforéza (2D-DIGE) a desorpce/ionizace laserem z upravených povrchů (SELDI-TOF-MS) [33]. Bylo prokázáno, že

saturace kuliček vysokoabundantními proteiny neovlivňuje kvantifikaci obohacené frakce nízkoabundantních proteinů [34], proto jsme tuto metodu zvolili jako vhodnou prepurifikační metodu před 2-DE analýzou proteinů krevní plazmy.

Pomocí metod ProteoMiner/2-DE/MS byly identifikovány signifikantní změny v expresi proteinů mezi skupinami pacientů senzitivních a rezistentních na bortezomib. Identifikované proteiny patří především do skupiny běžně se vyskytujících proteinů, které se v plazmě nacházejí v poměrně vysoké koncentraci. Podle jejich specifické funkce se jedná o transportní proteiny (APOE, FGG, RBP4), metabolické proteiny (CPN1, PON1, CFHR1, C4A, CFB, SERPINA1), signální proteiny (FGG, C4A, CFHR1, CFB), proteiny aktivující komplementový systém (CFB, CFHR1, C4A), proteiny imunitní odpovědi (SAP, FGG, PON1) a proteiny aktivní při koagulaci krve (FGG, CFHR1).

U některých identifikovaných proteinů již byl popsán vztah k onemocněním nesusouvisejícím s mnohočetným myelomem. Aktivovaná komplementová kaskáda je mechanismem, který představuje prospěšnou obrannou reakci organismu, ale také může vyvolávat širokou škálu patologických reakcí od zánětu až po degenerativní onemocnění nebo k nim přispívat. Aktivace komplementu byla popsána např. u alergické reakce typu III, kdy je komplement aktivován imunokomplexy, u systémového lupus erythematos, u diabetes mellitus I. typu, u hemolytických anémií, revmatoidní artritidy a dny [35].

Alfa-1-antitrypsin je 52 kDa protein akutní fáze, typický serin proteázový inhibitor vyskytující se v plazmě o koncentraci 0,9–2,0 g/l. Protein je tvořen v játrech, odkud je uvolňován do krevního řečiště. Zabezpečuje ochranu organismu před účinky enzymů (elastázy a kolagenázy) uvolňovaných z bílých krvinek při zánětu. Vrozený defekt AAT způsobuje rozvoj plicního a jaterního postižení [36].

Sérová paraoxonáza 1 (PON1) je glykoprotein o molekulové hmotnosti 43 kDa, který je syntetizován v játrech a následně vyplavován do krevního řečiště, kde je asociován s lipoproteiny o vysoké hustotě (HDL) [37]. PON1 hraje významnou roli ve vzniku a rozvoji aterosklerotického postižení, diabetes mellitu

II. typu a jeho komplikací [38]. Řada asociačních studií prokázala vztah mezi polymorfizmy PON1 s neurodegenerativními onemocněními, zejména s Parkinsonovou a Alzheimerovou nemocí [39].

Retinol-vazebný protein 4 je významný klinický biomarker pro detekci inzulinové rezistence a diabetes mellitu II. typu [40]. Fibrinogen je glykoprotein o molekulové hmotnosti 340 kDa, který se běžně vyskytuje v krevní plazmě a je nezbytný ke správnému zajištění hemokoagulace. Jeho plazmatické koncentrace se zvyšují např. při zánětu, poškození tkání a při nádorových onemocněních. Apolipoprotein E je významný plazmatický lipoprotein zodpovědný za transport a metabolismus cholesterolu. Klinicky abnormální funkce ApoE je sdružena s mnoha onemocněními, jako je ateroskleróza a Alzheimerova nemoc [41].

Ačkoli použití metody ProteoMiner v kombinaci s 2-DE analýzou podstatně zvýšilo počet detekovaných proteinů ve srovnání s jinými komerčně dostupnými frakcionačními technikami, zvolený postup analýzy se ukázal jako nevhodný pro detailní studium mechanismu lékové rezistence v krevní plazmě pacientů nemocných MM. Ke studiu minoritních složek bude nutné využít vhodné víceetapové kombinace frakcionačních a separačních chromatografických technik s následnou citlivou hmotnostně spektrometrickou detekcí.

Poděkování

Děkuji Danuši Fridrichové za přípravu tryptických digestů.

Literatura

1. Ahn SM, Simpson RJ. Body fluid proteomics: Prospects for biomarker discovery. *Proteomics Clin Appl* 2007; 1(9): 1004–1015.
2. Apweiler R, Aslanidis C, Deufel T et al. Approaching clinical proteomics: current state and future fields of application in fluid proteomics. *Clin Chem Lab Med* 2009; 47(6): 724–744.
3. Anderson NL, Anderson NG. The human plasma proteome: history, character, and diagnostic prospects. *Mol Cell Proteomics* 2002; 1(11): 845–867.
4. Philips AV, Cooper TA. RNA processing and human disease. *Cell Mol Life Sci* 2000; 57(2): 235–249.
5. Mann M, Jensen ON. Proteomic analysis of post-translational modifications. *Nat Biotechnol* 2003; 21(3): 255–261.
6. O'Farrell PH. High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. *J Biol Chem* 1975; 250(10): 4007–4021.

7. Zelená J, Hájek R. Proteomické techniky a jejich aplikace u hematologických onemocnění. *Čas Lék Čes* 2007; 146(7): 586–592.
8. Potáčková A, Čumová J, Hájek R. Proteomická analýza a její využití ve výzkumu mnohočetného myelomu. *Klin Onkol* 2008; 21 (Suppl 1): 243–246.
9. Kim HJ, Kim MR, So EJ et al. Comparison of proteomes in various human plasma preparations by two-dimensional gel electrophoresis. *J Biochem Biophys Methods* 2007; 70(4): 619–625.
10. Kim MR, Kim CW. Human blood plasma preparation for two-dimensional gel electrophoresis. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2007; 849(1–2): 203–210.
11. Cho SY, Lee EY, Lee JS et al. Efficient prefractionation of low-abundance proteins in human plasma and construction of a two-dimensional map. *Proteomics* 2005; 5(13): 3386–3396.
12. Vasudev NS, Ferguson RE, Cairns DA et al. Serum biomarker discovery in renal cancer using 2-DE and prefractionation by immunodepletion and isoelectric focusing: increasing coverage or more of the same? *Proteomics* 2008; 8(23–24): 5074–5085.
13. Polaskova V, Kapur A, Khan A et al. High-abundance protein depletion: comparison of methods for human plasma biomarker discovery. *Electrophoresis* 2010; 31(3): 471–482.
14. Roche S, Tiers L, Provansal M et al. Depletion of one, six, twelve or twenty major blood proteins before proteomic analysis: the more the better? *J Proteomics* 2009; 72(6): 945–951.
15. Björnell K, Miliotis T, Davidsson P. Comparison of different depletion strategies for improved resolution in proteomic analysis of human serum samples. *Proteomics* 2005; 5(1): 307–317.
16. Echan LA, Tang HY, Ali-Khan N et al. Depletion of multiple high-abundance proteins improves protein profiling capacities of human serum and plasma. *Proteomics* 2005; 5(13): 3292–3303.
17. Magagnotti C, Fermo I, Carletti RM et al. Comparison of different depletion strategies for improving resolution of the human urine proteome. *Clin Chem Lab Med* 2010; 48(4): 531–535.
18. Yocum AK, Yu K, Oe T et al. Effect of immunoaffinity depletion of human serum during proteomic investigations. *J Proteome Res* 2005; 4(5): 1722–1731.
19. Brand J, Haslberger T, Zolg W et al. Depletion efficiency and recovery of trace markers from a multiparameter immunodepletion column. *Proteomics* 2006; 6(11): 3236–3242.
20. Bellei E, Bergamini S, Monari E et al. High-abundance proteins depletion for serum proteomic analysis: concomitant removal of non-targeted proteins. *Amino Acids* 2011; 40(1): 145–156.
21. Tu C, Rudnick PA, Martinez MY et al. Depletion of abundant plasma proteins and limitations of plasma proteomics. *J Proteome Res* 2010; 9(10): 4982–4991.
22. Thulasiraman V, Lin SH, Gheorghiu L et al. Reduction of the concentration difference of proteins in biological liquids using a library of combinatorial ligands. *Electrophoresis* 2005; 26(18): 3561–3571.
23. Righetti PG, Boschetti E, Lomas L et al. Protein Equalizer Technology: the quest for a „democratic proteome“. *Proteomics* 2006; 6(14): 3980–3992.
24. Boschetti E, Righetti PG. The ProteoMiner in the proteomic arena: a non-depleting tool for discovering low-abundance species. *J Proteomics* 2008; 7(3): 255–264.
25. Keidel EM, Ribitsch D, Lottspeich F. Equalizer technology – Equal rights for disparate beads. *Proteomics* 2010; 10(11): 2089–2098.
26. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976; 72: 248–254.
27. Havlis J, Thomas H, Seib M et al. Fast-response proteomics by accelerated in-gel digestion of proteins. *Anal Chem* 2003; 75(6): 1300–1306.

28. Planeta J, Karasek P, Vejrosta J. Development of packed capillary columns using carbon dioxide slurries. *J Sep Sci* 2003; 26: 525–530.
29. Apweiler R, Martin MJ, O'Donovan C et al. The universal protein resource (UniProt) in 2010. *Nucleic Acids Res* 2010; 38: D142–D148.
30. Mi H, Lazareva-Ulitsky B, Loo R et al. The PANTHER database of protein families, subfamilies, functions and pathways. *Nucleic Acids Res* 2005; 33: D284–D288.
31. Tirumalai RS, Chan KC, Prieto DA et al. Characterization of the low molecular weight human serum proteome. *Mol Cell Proteomics* 2003; 2(10): 1096–1103.
32. Fang X, Zhang WW. Affinity separation and enrichment methods in proteomic analysis. *J Proteomics* 2008; 71(3): 284–303.
33. Sihlbom C, Kanmert I, Bahr H et al. Evaluation of the combination of bead technology with SELDI-TOF-MS and 2-D DIGE for detection of plasma proteins. *J Proteome Res* 2008; 7(9): 4191–4198.
34. Hartwig S, Czibere A, Kotzka J et al. Combinatorial hexapeptide ligand libraries (ProteoMiner™): an innovative fractionation tool for differential quantitative clinical proteomics. *Arch Physiol Biochem* 2009; 115(3): 155–160.
35. Porcel JM, Ordi J, Castro-Salomo A et al. The value of complement activation products in the assessment of systemic lupus erythematosus flares. *Clin Immunol Immunopathol* 1995; 74(3): 283–288.
36. American Thoracic Society, European Respiratory Society. American Thoracic Society/European Respiratory Society Statement: standards for the diagnosis and management of individuals with alpha-1 antitrypsin deficiency. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 168(7): 818–900.
37. Durrington PN, Mackness B, Mackness MI. Paraoxonase and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21(4): 473–480.
38. Flekač M, Škrha J, Novotný Z. Faktory ovlivňující aktivitu a koncentraci antioxidantního enzymu paraoxonáza 1. *Klin Biochem Metab* 2006; 14(35): 33–39.
39. Goswami B, Tayal D, Gupta N et al. Paraoxonase: a multifaceted biomolecule. *Clin Chim Acta* 2009; 410(1–2): 1–12.
40. Graham TE, Yang Q, Blüher M et al. Retinol-binding protein 4 and insulin resistance in lean, obese, and diabetic subjects. *N Engl J Med* 2006; 354(24): 2552–2563.
41. Hofman A, Ott A, Breteler MM et al. Atherosclerosis, apolipoprotein E, and prevalence of dementia and Alzheimer's disease in the Rotterdam Study. *Lancet* 1997; 349(9046): 151–154.

Identifikácia molekulárnych markerov u detí s akútnou myeloblastovou leukémiou (AML)

Identification of Molecular Markers in Children with Acute Myeloid Leukemia (AML)

Ilenčíková D.¹, Sýkora J.², Mikulášová Z.², Repiská V.³

¹ 2. Detská klinika, LF UK a DFNSP, Bratislava, Slovenská republika

² Oddelenie onkologickej genetiky, Národný onkologický ústav, Bratislava, Slovenská republika

³ Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky, LF UK a UNB, Bratislava, Slovenská republika

Súhrn

Východiská: AML je agresívne, fenotypovo a geneticky heterogénne klonálne ochorenie krvotvorných progenitorových buniek s veľkou molekulárnou variabilitou. Nová klasifikácia WHO 2008 delí de novo AML podľa cytogenetických a molekulárnych prognostických a prediktívnych markerov. V poslednej dobe je stále väčšia možnosť určiť podskupinu rizikových pacientov so zlou prognózou medzi tými s normálnym karyotypom. Cieľom našej štúdie bolo zistiť prognosticky významné molekulárne markery u detí s AML na stratifikáciu pacientov s normálnym karyotypom a na sledovanie ochorenia podľa genetického nálezu. **Súbor pacientov a metódy:** V rokoch 2008–2010 sme analyzovali vzorky kostnej drene a periférnej krvi u 20 detí s de novo AML konvenčnou cytogenetickou analýzou, fluorescenčnou in situ hybridizáciou a molekulovou analýzou. Molekulárna analýza bola vykonaná na úrovni cDNA restrikčnou analýzou PCR produktov (*FLT3-TKD*), konvenčnou PCR (*MLL-PTD*, *NPM1mut*, *FLT3-ITD*) a kvantifikačnou RT-PCR (expresia fúzných génov, génov *BAALC* a *WT1*). **Výsledky:** Vzorky 20 detí s AML boli analyzované využitím konvenčnej cytogenetiky, FISH a molekulovo-genetickými metódami. Abnormálny karyotyp bol zistený u 13 pacientov (65 %). Ďalšia analýza ukázala *FLT3-ITD* v 5/20 (25 %), *FLT3-TKD* v 3/20 (15 %), *NPM1mut* 2/20 (10 %) a *MLL-PTD* v 1/20 (5 %), nadmernej expresie *WT1* génu v 15/20 (75 %) a nadmernej expresie *BAALC* v 13/20 (65 %) pacientov. **Záver:** Široký cytogenetický a molekulárny skrining pomohol nájsť aspoň jeden genetický marker u všetkých 20 pacientov pre ďalšie sledovanie a stratifikáciu rizika detí s AML. Na progresiu ochorenia umreli 4/20 (20 %) detí.

Kľúčové slová

akútna myeloidná leukémia – genetické metódy – mutačný skrining *FLT3* – *NPM1* a *MLL* – expresia *WT1* a *BAALC*

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. Denisa Ilenčíková, PhD.

2. Detská klinika LF UK

a DFNSP Bratislava

Limbová 1

833 40 Bratislava

Slovenská republika

e-mail: denisa.ilencikova@dfnsp.sk

Obdrženo/Submitted: 10. 5. 2011

Přijato/Accepted: 22. 11. 2011

Summary

Backgrounds: AML is an aggressive, phenotypically and genetically heterogeneous clonal disease of hematopoietic progenitor cells with a great molecular variability. New WHO classification 2008 divides de novo AML according to cytogenetic and molecular prognostic and predictive markers. Recently, it is increasingly possible to identify a subgroup of poorer prognosis patients among those with normal karyotype AML. The aim of our study was to identify prognostically important molecular markers in children with AML, to stratify patients with normal karyotype and to monitor the disease according to the genetic findings. **Material and Methods:** In 2008–2010, we analyzed bone marrow and peripheral blood samples of 20 children with de novo AML by conventional cytogenetic analysis, fluorescence in situ hybridisation and molecular diagnostics. The molecular analysis was performed on the cDNA level, with the restriction analysis of PCR products (*FLT3-TKD*), conventional PCR (*MLL-PTD*, *NPM1mut*, *FLT3-ITD*) and quantification RT-PCR method (expression of fusion transcripts, *BAALC*, *WT1*). **Results:** Samples from 20 children with AML were analyzed using the conventional cytogenetics, FISH and molecular methods. Abnormal karyotype was identified in 13 patients (65%). Further analysis revealed *FLT3-ITD* in 5/20 (25%), *FLT3-TKD* in 3/20 (15%), *NPM1mut* in 2/20 (10%) and *MLL-PTD* in 1/20 (5%), overexpression of *WT1* gene in 15/20 (75%) and overexpression of *BAALC* in 13/20 (65%) patients. **Conclusion:** Wide cytogenetic and molecular screening helped to find at least one genetic marker in all 20 patients for later follow-up and risk stratification. 4/20 (20%) patients died of the disease progression.

Key words

acute myeloid leukemia – genetic methods – mutation screening of *FLT3* – *NPM1* and *MLL* – *WT1* and *BAALC* expression

Východiská

Akútna myeloblastová leukémia je veľmi agresívne, fenotypicky a geneticky heterogénne klonálne ochorenie s veľkou variabilitou patogenézy na cytogenetickej, ako aj na molekulárnej úrovni. AML je charakteristická malígnou transformáciou myeloidnej línie bielych krviniek a predstavuje 2–4 % všetkých malígnych. Jej incidencia je 2–3/100 000 obyvateľov a zvyšuje sa vekom (v skupine nad 65 rokov je incidencia 15–27/100 000 obyvateľov) a je mierne vyššia u mužov ako u žien [1]. Príčina vzniku nie je doteraz dostatočne ozrejmeneá. Predpokladá sa, že ionizujúce žiarenie, rôzne chemické látky (benzén, organické rozpúšťadlá, organické farbivá, herbicidy a pesticidy), fajčenie a z fyzikálnych vplyvov napríklad elektromagnetické polia sa uplatňujú ako podporné faktory pri leukemogénze. Z liekov majú významnú úlohu predovšetkým cytostatiká, z nich hlavne alkylačné látky a inhibítory topozomerázy II. Predpoklad, že genetická predispozícia zohráva dôležitú úlohu v patogenéze AML, potvrdzuje vyšší výskyt AML v spojení s rôznymi vrodenými genetickými poruchami – Bloomov syndróm, Downov syndróm, Klinefelterov syndróm, ataxia teleangiectasia, xeroderma pigmentosum a ďalšie. Dôležitú úlohu zohrávajú aj imunologické defekty, prípadne vírusy. Malígna transformácia vzniká vo včasnem štádiu myelocytových prekurzorov [2]. V roku 2008 revidovala Svetová zdravotnícka organizácia klasifikáciu myeloidných neoplázií

a akútnych leukémií. Klasifikácia využíva všetky dostupné poznatky – morfológické, cytochemické, imunofenotypizáciu, genetické a klinické vlastnosti ochorení. Pre AML platia tieto skupiny uvedené v tab. 1 [3].

Pre potreby presnej klasifikácie biologicky rozdielnych podtypov AML využívame morfológické, cytochemické me-

tódy, imunofenotypizáciu a genetické metódy [2,4].

Genetické metódy používané v diagnostike AML

V diagnostike AML sa stále viac využívajú cytogenetické metódy a metódy molekulovo-genetickej analýzy. V súčasnosti sa najviac využíva kombinácia

Tab. 1. Klasifikácia myeloidných neoplázií a akútnych leukémií podľa Svetovej zdravotníckej organizácie z roku 2008.

1. AML s opakovanými cytogenetickými translokáciami:

AML s t(8; 21)(q22;22); RUNX1-RUNX1T1

AML s inv(16)(p13.1q22) alebo t(16; 16)(p13.1;q22); CBFβ/MYH11

akútna promyelocytová leukémia (APL) s t(15;17)(q22;q12); PML-RARA

AML s t(9;11)(p22;q23); MLLT3-MLL

AML s inv(3)(q21q26.2) alebo t(3;3)(q21;q26.2); RPN1-EVI1

AML (megakaryoblastická) s t(1;22)(p13;q13); RBM15-MKL1

2. AML asociovaná s myelodysplastickými zmenami

3. Myeloidné neoplázie spôsobené liečbou (therapy related)

4. AML bez inej kategorizácie

AML minimálne diferencovaná

AML bez vyzrievania (without maturation)

AML s vyzrievaním (with maturation)

akútna myelomonocytová leukémia

akútna monoblastická a monocytová leukémia

akútna erytrocytová (erythroid) leukémia

akútna megakaryocytová leukémia

akútna bazofilná (basophilic) leukémia

akútna panmyelóza s myelofibrózou

5. Myeloidný sarkóm

6. Myeloidné proliferácie asociované s Downovým syndrómom

7. Blastická plazmocytová neoplázia vlasatých buniek

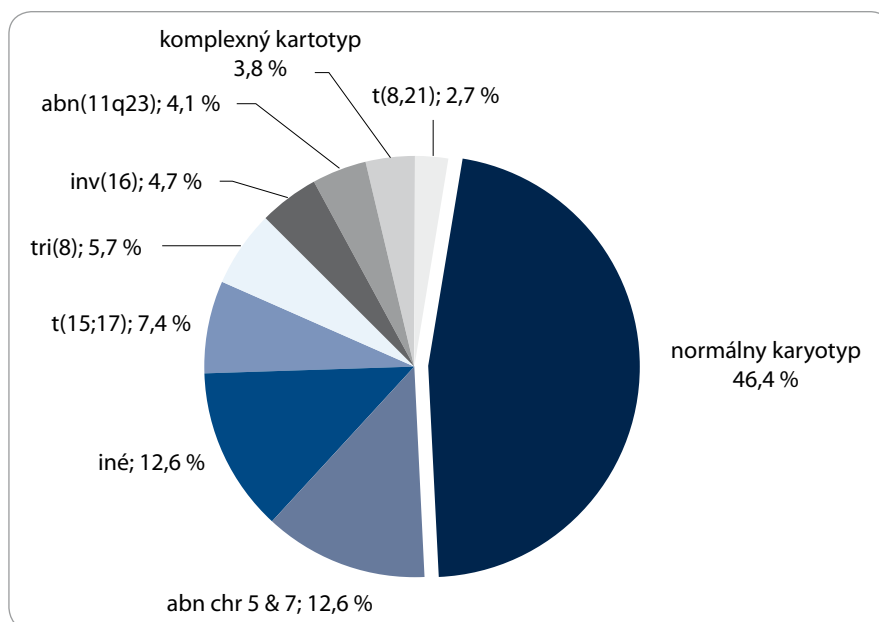
klasickej a molekulárnej cytogenetiky (FISH) a z metód molekulárnej genetiky PCR (polymerázová reťazová reakcia) a jej modifikácie.

Klasická cytogenetika slúži na stanovenie celkového karyotypového obrazu ochorenia a monitorovanie priebehu choroby. Poskytuje celkový prehľad o kvalitatívnych a kvantitatívnych zmenách v karyotype. **Fluorescenčná in situ hybridizácia (FISH)** patrí k metódam molekulovej cytogenetiky a umožňuje detegovať špecifické nukleotidové sekvencie s rozsahom od jednej po niekoľko sto kilobáz. Využitím špecifických sond sa dá identifikovať počet chromozómov, jednotlivé chromozómy alebo iba niektoré oblasti chromozómov, prípadne len špecifické lokusy [5,6]. **PCR** patrí k metódam molekulárnej genetiky a umožňuje amplifikáciu špecifických úsekov DNA in vitro [7,8]. Dovoľuje amplifikáciu aj malého množstva DNA. V súčasnej dobe sa používa variant PCR umožňujúci priamu kvantifikáciu PCR-produktu v priebehu reakcie, a to „real-time PCR“. Kvantifikácia množstva molekúl nukleových kyselín je dôležitá pri detailnom štúdiu gémovej expresie. Napríklad, real-time PCR môže byť použitá k detekcii a kvantifikácii fúzneho génu, produktu chromozómových translokácií. Kvantitatívne stanovenie fúzneho génu vo vyšetrovanej vzorke sa využíva na určenie minimálneho reziduálneho ochorenia (MRD) alebo progresie, či relapsu ochorenia [9]. Ďalším variantom PCR je reverzná transkriptázová PCR (RT-PCR). Je vhodná, pokiaľ nie je známa vnútorná organizácia exónov a intrónov v géne.

Cytogenetický a molekulárny nález u pacientov s AML

V čase diagnózy sa u 55–60 % pacientov s AML zisťujú klonálne chromozómové aberácie spojené s rôznou prognózou. Podľa cytogenetického nálezu môžeme chromozómové aberácie rozdeliť do 3 skupín:

1. **s priaznivou prognózou** – t(8;21), inv(16), t(15;17),
2. **so strednou prognózou** – normálny karyotyp, del(7q), del(9q), t(9;11), del(11q), del(20q), +8, +11, +13, +21,
3. **s nepriaznivou prognózou** – komplexný karyotyp (≥ 3 aberácie),



Graf 1. Percentuálne zastúpenie chromozómových aberácií u pacientov s AML.

inv(3)/t(3;3), -7, -5, del(5q), t(6;9), t(6;11), t(11;19).

Zastúpenie jednotlivých chromozómových aberácií je znázornené v grafe 1. Približne 40–45 % pacientov nemá pri vyšetrení konvečnou cytogenetikou žiadnu chromozómovú aberáciu. U takmer 80 % pacientov s normálnym karyotypom bola v publikovaných multicentrických štúdiách dokázaná prítomnosť mutácie v minimálne jednom z nasledovných génov: *NPM1*, *CEBPA*, *MLL*, *FLT3* a *NRAS* [12]. Na základe týchto poznatkov sa v súčasnosti zameriava veľká pozornosť na vyšetrenie mutačného stavu hore uvedených génov a študuje sa ich prognostický význam. Významné prognostické ukazovatele boli rozdelené do 3 skupín:

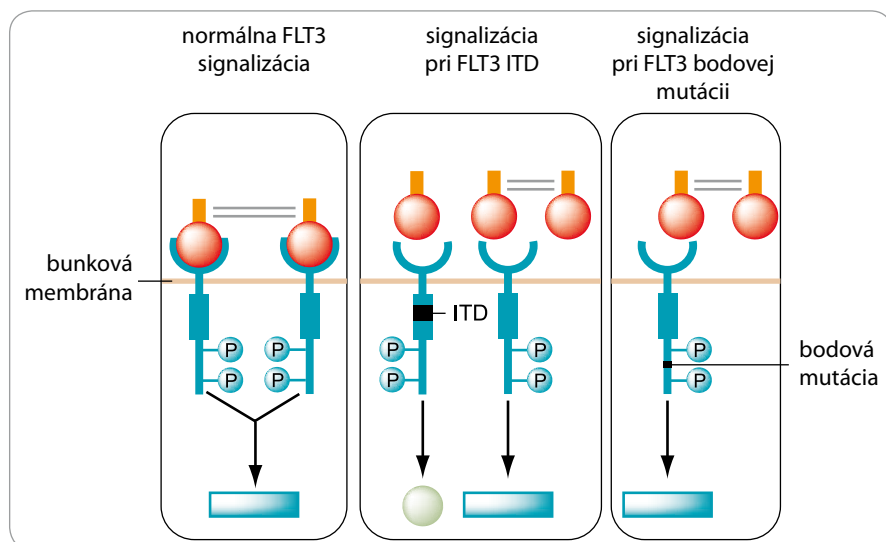
1. mutácie (*FLT3 ITD*, *FLT3 D835*, *Ras*) aktivujúce signálne dráhy, čím dochádza k zvýšeniu proliferácie a inhibícia apoptózy buniek kostnej drene,
2. mutácie (*MLL TD*, *NPM1*, *CEBPA*) ovplyvňujúce procesy transkripcie, čo vedie k oslabeniu diferenciácie buniek,
3. zvýšená expresia génov *WT1*, *BAALC* a *ERG* (ETS-related gene).

Mimoriadny prognostický význam nadobudli zvlášť genotypy asociované s priaznivou prognózou: *NPM1* a *CEBPA*.

S nepriaznivou prognózou sú často spájané mutované gény *MLL-ITD* a *FLT3-ITD*.

Charakteristika molekulovo-genetických markerov

FLT3 – FMS-like tyrozin kináza 3 – je transmembránový proteín. Gén pre tento proteín je lokalizovaný na 13q12. Receptor génu je exprimovaný na hemopoetických progenitorových bunkách a hrá dôležitú úlohu v prežívaní a diferenciácii kmeňových buniek. Doposiaľ boli identifikované dva dôležité typy mutácií *FLT3* génu – vnútorná tandemová duplikácia (internal tandem duplication = *ITD*) a bodová mutácia kyseliny asparágovej *D835*. Pri *FLT3 ITD* dochádza k duplikácii gémovej sekvencie. Dĺžka aj pozícia sekvencie varíruje od 18 do 100 bp. Vyskytuje sa u 15 % detských AML pacientov [12]. V dôsledku duplikácie nastáva konstitutívna aktivácia *FLT3* receptora, čím dochádza k poruche regulácie proliferácie buniek. Je spojená s nepriaznivou prognózou. U *FLT3 TKD D835* dochádza k bodovej mutácii kyseliny asparágovej *D835* v exóne 20 v tyrozínovej doméne receptora. To vedie ku konstitutívnej aktivácii nezávislej na naviazaní liganda (obr. 1). Mutácia je asociovaná s dobrou prognózou. Zisťuje sa u 5–10 % detských pacientov s AML [13]. *NPM1* = Nucleophosmin (nucleolar phosphoprotein B23, numatrin) je gén lokalizovaný



Obr 1. Signalizácia FLT3 – normálna, pri FLT3 ITD a pri FLT3 bodovej mutácii.

na 5q35 [16]. Fosfoproteín zabezpečuje transport ribozomálnych proteínov cez jadrovú membránu. Mutácie sa zisťujú v exóne 12. Viac ako 95 % mutácií predstavuje inzercia o dĺžke 4bp. Incidencia u detských pacientov s AML predstavuje 2–6 % [14]. *NPM1* mutácie korelujú s prítomnosťou *FLT3-ITD* a *FLT3-TKD* mutáciami. *NPM1* mutácie sú spojené s priaznivou prognózou, pokiaľ sa vyskytujú bez *FLT3-ITD*. *MLL* = mixed-lineage leukemia, gén je lokalizovaný v chromozómovom prúžku 11q23. *MLL* proteín sa uplatňuje ako pozitívny regulátor exprese génov počas skorého embryonálneho vývoja a hematopoézy. Parciálna tandemová duplikácia *MLL* génu býva lokalizovaná vo vnútornej časti génu *MLL* a zaberá exóny 2–6 alebo exóny 2–8. Frekvencia výskytu u detí s AML je zhruba 2,5 % [13]. Aberácie génu *MLL* predstavujú nepriaznivý prognostický faktor. **NADEXPRESIA** *WT1* slúži ako nešpecifický nezávislý faktor. *WT1* (Wilms tumor 1) gén je lokalizovaný v chromozómovom prúžku 11p13. Kóduje zinkový prst DNA viažuceho proteínu. *WT1* gén sa vyznačuje funkčnou dualitou – pôsobí ako tumorsupresorový gén, aj ako onkogén. Nadexpresia v rôznych tkanivách je asociovaná so zvýšenou proliferáciou (testes, ovária, slezina). Za nadexpresiu sa považuje, ak hodnota exprese presiahne 100-násobne jej fyziologickú hodnotu. U detských AML pacientov sa nadexpresia génu *WT1* vyskytuje u 78,3 % pacientov [15]. Expre-

sia *WT1* sa môže použiť na sledovanie priebehu ochorenia a stanovenia MRD u pacientov s AML. U detských pacientov sa zisťuje v 12 % prípadov [14]. **NADEXPRESIA** *BAALC* slúži ako nešpecifický prognostický faktor. Gén *BAALC* (brain and acute leukemia cytoplasmic) je lokalizovaný v chromozómovom prúžku 8q22.3. Exprimuje sa hlavne na tkanivách odvodených z neuroektodermu a na prekursoroch hematopoetických buniek. Naopak, nenachádza sa v zrelej kostnej dreni a cirkulujúcich bielych krvinkách. Za nadexpresiu sa považuje, ak hodnota exprese 100-násobne presiahne jej fyziologickú hodnotu. Expresia *BAALC* sa môže použiť na monitoring MRD u pacientov s AML.

Cieľom využitia genetických metód v diagnostike AML ochorenia je najst genetický marker charakterizujúci klonový vývoj leukémie. V mnohých prípadoch pomáhajú špecifické cytogenetické markery v spresnení diagnózy (stanovení podtypu AML na základe špecifických chromozómových translokácií), vyjadreniu sa k prognóze ochorenia, monitorovaniu odpovede pacienta na špecifickú liečbu, sledovaniu minimálnej reziduálnej choroby a potransplantačného priebehu ochorenia. V súčasnosti sa do popredia dostáva snaha identifikovať prognosticky významné molekulové markery, ktoré by umožnili stratifikovať pacientov s normálnym karyotypom bez cytogenetického nálezu

do prognosticky užších skupín. Zavedenie diagnostiky genetických markerov môže pomôcť identifikovať u každého pacienta aspoň jeden cytogenetický alebo molekulárny marker na monitorovanie priebehu ochorenia, na predikciu včasného relapsu, alebo na sledovanie efektívnosti terapie. Cieľom predkladanej práce bolo zistiť incidenciu jednotlivých genetických markerov u detských AML pacientov na Slovensku. Ďalej skríňovať mutácie v génoch *FLT3*, *NPM1*, *MLL* metodikami PCR a stanoviť hladinu exprese génov *BAALC* a *WT1* pomocou kvantitatívnej real-time RT-PCR a sledovať celkové prežívanie detských pacientov vo vzťahu ku genetickému nálezu.

Metódy

Na Oddelení onkologickej genetiky Národného onkologického ústavu v Bratislave sme v rokoch 2008–2010 u detí s AML vyšetrili vzorky kostnej drene a periférnej krvi metódou konvenčnej a molekulárnej cytogenetiky (FISH) a molekulovou RNA/DNA diagnostikou (RT-PCR). Odoberané vzorky sme za účelom cytogenetického vyšetrenia spracovali 24-hodinovou alebo 72-hodinovou kultiváciou, pri teplote 37 °C v 10 ml MarrowGrow kultivačného média. Množstvo vzorky pridanej do média sme vypočítali podľa vzorca 10/počet leukocytov v 1 ml = množstvo vzorky v ml. Po 24-hodinovej kultivácii sme do kultivačnej nádoby pridali cytostatikum vinkristín alebo po 72 hod roztok kolcemidu a nechali sme pôsobiť v termostate pri 37 °C 10 min. Následne sme ich centrifugovali. Po centrifugácii sme roztok odsali a ponechali iba sediment, ktorý sme resuspendovali v 4 ml hypotonického roztoku (0,075 M KCl) a skúmavku sme týmto roztokom doplnili do výsledného objemu 8 ml. Nasledovala inkubácia 30 min pri 37 °C a opätovná centrifugácia. Po kvapkách a za nepretržitého trepania sme k sedimentu pridávali Carnoyov fixačný roztok. Materiál sme ďalej inkubovali pri laboratórnej teplote 30 min (pri 24-hodinovej kultivácii) alebo 60 min (pri 72-hodinovej kultivácii) a následne sme scentrifugovali. Tento postup sme zopakovali aspoň trikrát, avšak už bez inkubácie. Na záver sme sediment ešte resuspendovali vo fixačnom roztoku a nakvapkali na suché

Tab. 2. Cytogenetické a molekulárne nálezy v korelácii s prežívaním u detí s akútnou myeloblastovou leukémiou.

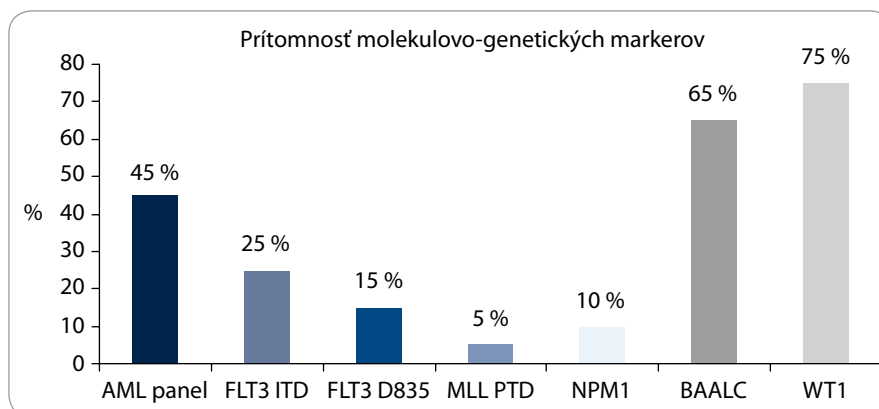
ID	Pohlavie/rok nar.	Diagnóza	FAB	Molekulovo-genetické markery						Cytogenetika		FISH	Prežívanie10/10
				AML panel	NPM1	MLL PTD	FLT3 ITD	FLT3 ITD	BAALC	WT1			
1.	Ž/2001	17. 1. 2007 relaps 13. 5. 2008	M2	aml1/eto	neg.	neg.	neg.	neg.	poz.	poz.	46,XX,t(8;21)(q22;q22)[6]	aml1/eto	2. CR 23. 10. 2008 24. 9. 2008 AloTKD
2.	Ž/2002	11. 4. 2008	M4	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	poz.	poz.	46,XX[8]	neg.	1. CR 24. 6. 2008
3.	M/1996	12. 8. 2007 relaps 18. 2. 2009	M4/M2	aml1/eto	neg.	neg.	neg.	neg.	poz.	poz.	46,XX,t(8;21)(q22;q22)[8]	aml1/eto	2. CR 23. 7. 2009
4.	M/2001	11. 8. 2008	M2	aml1/eto	neg.	neg.	neg.	neg.	poz.	poz.	46,XX,t(8;21)(q22;q22),-del(9)(q21;q22)[20]	aml1/eto	1. CR 16. 9. 2008
5.	M/1996	11. 8. 2008 relaps 6. 5. 2009	M5b	neg.	neg.	neg.	poz.	neg.	poz.	poz.	47,XY,add(5)(qter)+m[15]	3x cep 8	exitus 18. 9. 2009
6.	Ž/1992	14. 2. 2006	M2	neg.	poz.	neg.	poz.	neg.	neg.	poz.	46,XX[3]	neg.	1. CR 21. 11. 2006
7.	M/1999	21. 2. 2009	M1	neg.	poz.	neg.	poz.	neg.	poz.	neg.	46,XX[20]	neg.	1. CR 29. 4. 2009
8.	M/2000	4. 3. 2009	M3	pml/rara	neg.	neg.	neg.	poz.	poz.	neg.	46,XY,del(q21;q32),t(15;17)(q22;q21)[3]	pml/rara	Alo TKD 30. 9. 2009
9.	M/1993	27. 4. 2009	M1-M2	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	poz.	poz.	46,XY[20]	neg.	1. CR 24. 9. 2008
10.	Ž/1991	9. 1. 2009	Mo	neg.	neg.	neg.	poz.	neg.	poz.	poz.	4n-6n[12]	polyploidia potvrdená	1. CR 12. 5. 2009
11.	M/1994	26. 8. 2008	M5	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	poz.	poz.	46,XY,del(2)(q21)[15]	neg.	exitus 28. 4. 2008
12.	M/1999	11. 3. 2009	M3	pml/rara	neg.	neg.	neg.	neg.	poz.	poz.	46,XY,t(15;17)(q22;q21)[17]	pml/rara	1. CR 12. 5. 2007
13.	M/1993	4. 10. 2006 relaps 9. 1. 2007	M4/M5	mll/af6	neg.	neg.	neg.	poz.	poz.	neg.	45,XY,-4,der(7)t(4;7)(q12;q11)[3]/45,XY,-4,t(6;11)(q27;q23),der(7)t(4;7)(q12;q11)[17]	mll, del17q31, del12p13	exitus 28. 4. 2008
14.	M/2006	15. 2. 2007	M5	mll/ube4a	neg.	neg.	neg.	poz.	neg.	neg.	47,XY,t(3;11)(p13;q23),-der(19)t(11;19)(q23;p13.3),der19t(11;19)(q23;p13.3)[15]	mll 4x 11q23, del 1q23, +19	1. CR 12. 5. 2007
15.	M/1996	12. 1. 2006 relaps 2. 5. 2007	M5	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	poz.	46,XY[2]	neg.	exitus 15. 5. 2008
16.	M/1990	13. 11. 2006 relaps 30. 12. 2008	M1/M2	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	poz.	46,XY[8]	neg.	1. CR 18. 4. 2007 Alo TKD 2. CR 4. 2. 2009
17.	Ž/1991	10. 1. 2006 relaps 20. 11. 2006	M4	neg.	neg.	poz.	poz.	neg.	neg.	poz.	-	neg.	1. CR 20. 4. 2006
18.	M/2005	4. 5. 2006	M1	mll/sept6	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	46,XY,t(11;7)(q24;q23)[7]	mll	1. CR 17. 8. 2006
19.	M/1994	17. 5. 2006	M4	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	poz.	46,XY,t(6;9)(p23;q34)[4]	neg.	Alo TKD 19. 6. 2007, 2. CR 22. 5. 2007
20.	M/1989	13. 6. 2006	M4	cbfb/myh	neg.	neg.	neg.	neg.	poz.	poz.	46,XY,inv(16)(p13;q22)[2]	cbfb	exitus 2006

namrazené podložné sklá (-22 °C), ktoré sme ponechali na vzduchu do vysušenia. Jedno sklo sme využili pre FISH a druhé sa zafarbilo pre potreby konvenčnej cytogenetiky [2]. Pri vyšetrení FISH metódou sme na identifikáciu aberácií použili fluorescenčne značené sondy diagnostikujúce prestavby charakteristické pre AML – *MLL*, *C-MYC*, *BCR/ABL*, *RARA*, *ETV6(TEL)*, *AML1/ETO*, *CBFB*. Preparáty pripravené 24/72-hodinovou kultivá-

ciou sme prezerali pod svetelným mikroskopom pri 100-násobnom zväčšení – kontrolovali sme kvalitu, hustotu a čistotu skiel a ďalšími postupmi pripravili tak, aby ich bolo možné priamo hodnotiť pod fluorescenčným mikroskopom pri 1 000-násobnom zväčšení s vhodnými filtrami podľa použitej sondy. Na identifikáciu molekulovo-genetických markerov charakteristických pre AML ochorenie sme použili nasledujúce gény

BCR/ABL, *CBFB/MYH*, *AML1/ETO*, *PML/RARA-bcr1,2,3*, *FLT3-ITD* a *D835*, *MLL PTD*, *NPM1*, expresia génov *BAALC* a *WT1*. Izoláciu celkovej RNA sme realizovali pomocou trizolu, podľa protokolu odporúčaného výrobcom. Koncentráciu a čistotu RNA sme zisťovali spektrofotometrickým meraním pri vlnovej dĺžke 260 nm a 280 nm použitím prístroja eppendorf BioPhotometer. Izolovanú RNA sme uschovali pri -20 °C. Pri syntéze

cDNA sme vychádzali z 1 000 µg RNA/reakciu. Vypočítaný objem RNA sme nariedili vodou do výsledného objemu 11 µl. Pridali sme 1 µl primerov tzv. náhodných hexamérov. Reakčnú zmes sme inkubovali 5 minút pri 70 °C. Potom sme vzorky 5 min chladili pri 4 °C. Hneď po schladení sme pridali 4 µl 5× reakčného pufru, 2 µl dNTP a 1 µl RNáza inhibítora. Po krátkom zamiešaní jednotlivých vzoriek sme ich preniesli do prístroja Gene Amp® PCR System 9700 (Applied Biosystems), v ktorom prebiehal prepis RNA do cDNA pri teplotnom profile: 25 °C – 15 min; 42 °C – 60 min; 70 °C – 10 min; 4 °C – podľa potreby. Pri 25 °C sme po 5 minútach prebiehajúceho cyklu pridali 1 µl reverznej transkriptázy. Po ukončení prepisu sme produkt zriedili s vodou v pomere 1 : 1 a uskladnili pri –20 °C. Na identifikáciu jednotlivých molekulovo-genetických markerov sme ďalej použili metódu RT-PCR. Postupovali sme podľa protokolov odporúčaných výrobcom pre dané markery. Podľa týchto protokolov sme pripravili reakčné zmesi modifikované pre každú zisťovanú anomáliu. Každá zmes obsahovala mix enzýmov potrebných pre priebeh PCR reakcie, začiatkové a koncové primery, vodu bez nukleáz a cDNA ako produkt reverznej transkripcie. RT-PCR prebiehali podľa teplotných profilov opäť prispôbenných pre daný marker. Na identifikáciu falošne pozitívnych a falošne negatívnych výsledkov RT-PCR reakcie sme spolu s vyšetrovanými vzorkami analyzovali pozitívnu kontrolu PK (pozitívny pacient) a negatívnu kontrolu NK (voda bez nukleáz). Získané PCR produkty sme analyzovali elektroforézou v agarózovom géli. V niektorých prípadoch, ako napríklad pri detekcii mutácie *FLT3 D835*,



Graf 2. Zastúpenie molekulovo-genetických markerov u všetkých pacientov.

sme museli produkt PCR ďalej identifikovať pomocou restriktívnej analýzy. Reakčné médium tvorili produkt PCR reakcie, Buffer B2, enzým *ECOR V* a voda bez nukleáz. Následná PCR prebiehala podľa teplotného profilu odporúčaného výrobcom. Produkty restriktívnej analýzy sme hodnotili elektroforézou v agarózovom géli. Elektroforetická separácia produktov PCR prebiehala v 2% alebo 5% agaróze v tlmivom roztoku TBE pri jednosmernom elektrickom prúde s napätím 120 V po dobu 120 min, respektíve 30 min. Spolu s PCR produktmi sme vždy pustili aj pozitívnu kontrolu, negatívnu kontrolu a vodu.

Výsledky

Súbor pacientov tvorí 20 detí s AML (do dovŕšenia 18. roku života), ktoré boli v období rokov 2008–2010 vyšetrené na Oddelení onkologickej genetiky Národného onkologického ústavu (tab. 2). Súbor zahŕňa 5 dievčat a 15 chlapcov. Do súboru neboli zaradení 4 AML pacienti s Downovým syndrómom. Priemerný vek pacientov v čase stanovenia diagnózy bol 11 rokov. Najmladší pa-

cient bol v čase stanovenia diagnózy vo veku 1 roku a najstarší 18 rokov. V čase stanovenia diagnózy boli pacienti zaradení do príslušných FAB skupín. Najviac ich bolo v M4 (6 detí, 30 %) a najmenej v M0 (1 dieťa, 5 %) skupine podľa FAB klasifikácie.

Výsledky cytogenetického vyšetrenia

Pri cytogenetickom vyšetrení bol normálny karyotyp zistený u 6/20 pacientov. U 13/20 pacientov boli detekované kvalitatívne alebo kvantitatívne zmeny karyotypu. U 1/20 pacienta nebolo možné karyotyp vyšetriť. U 6/13 pacientov (46 %) s abnormálnym karyotypom boli detegované chromozómové aberácie asociované so zlou prognózou, u 4 pacientov (31 %) so strednou prognózou, a len u 3 pacientov (23 %) sme zistili karyotyp s aberáciami s dobrou prognózou (tab. 2).

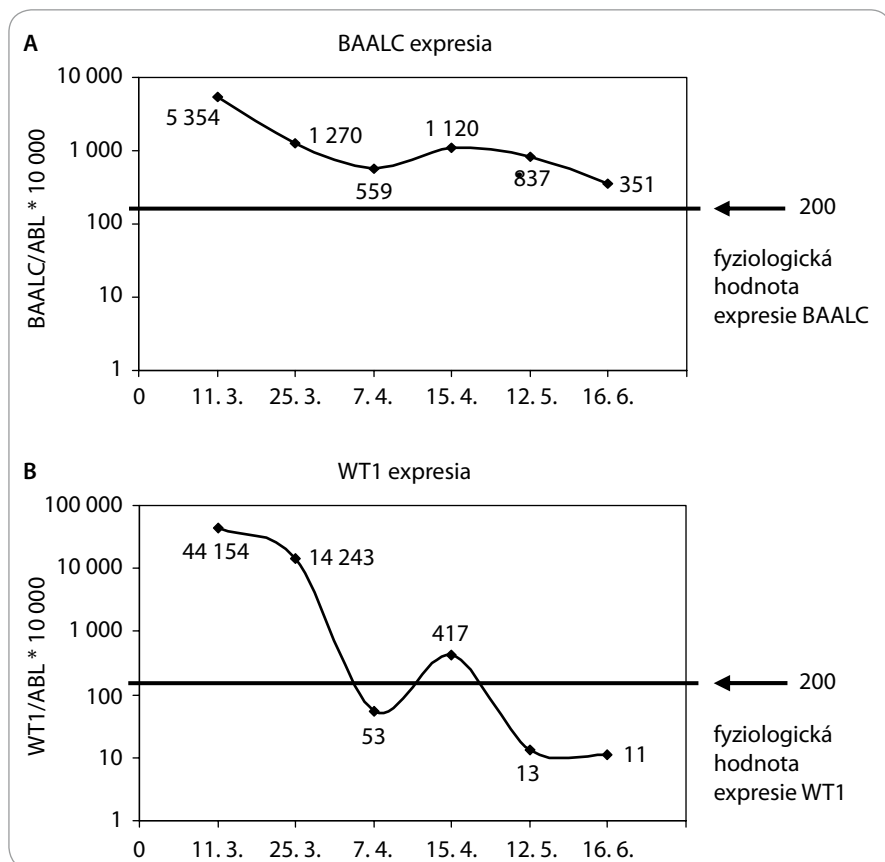
Výsledky molekulovo-genetického vyšetrenia zobrazuje tab. 3 a graf 2 a poukazujú na to, že jednotlivé molekulovo-genetické markery sa vyskytovali u pacientov s rôznou frekvenciou. Zmeny v AML paneli boli detekované

Tab. 3. Korelácia molekulovo-genetických nálezov s klinickým priebehom počas liečby pacienta s AML-M3.

Vzorka (dátum prijatia, stav pacienta)	WT1 expresia	FLT3 ITD	FLT3 D835	BAALC expresia	MLL TD	NPM1
11. 3. 2009 neliečený	44 154	neg.	neg.	5 354	neg.	neg.
25. 3. 2009 indukcia	14 243	neg.	neg.	1 270	neg.	neg.
7. 4. 2009 27. deň po indukcii	53	–	–	559	–	–
15. 4. 2009 35. deň po indukcii	417	–	–	1 120	–	–
12. 5. 2009 1. CR	13	–	–	837	–	–
16. 6. 2009 1. CR	11	–	–	351	–	–

u 9 pacientov z 20 (45 %). Najpočetnejšie boli zastúpené *AML/ETO* v 3 prípadoch a *MLL*, taktiež v 3 prípadoch. U 2 pacientov bol potvrdený fúzny gén *PML/RARA*. U ďalších pacientov sa vyšetrovaním metódou FISH vyskytol len jeden z nasledovaných genetických markerov: *cep8*, *del17q31*, *del12p13*, *del11q23*, *CBFB* a *polyploidia*. Markery asociované so zlou prognózou, ako mutácia *FLT3 ITD* a *MLL PTD/MLL translokácie*, boli zistené u 9/20 pacientov (45 %), pričom 5/20 mali mutáciu *FLT3 ITD* a 4/20 *MLL PTD/MLL translokácie*, z toho *MLL PTD* sme zistili u 1 pacienta. Markery asociované s dobrou prognózou, mutácia *FLT3 D835* a *NPM1*, boli detegované u 5/20 (25 %), z toho mutácia *FLT3 D835* u 5/20 pacientov (15 %) a *NPM1* u 2/20 pacientov (10 %). Zvýšené expresie *WT1* génu a *BAALC* génu patria medzi prognosticky nezávislé markery. Nárast expresie niektorého z génov bol prítomný u 18/20 pacientov, t. j. u 90 % pacientov. U viac ako polovice týchto pacientov sa vyskytla nadexpresia u oboch génov súčasne. Nadexpresiu sme hodnotili nárast expresie o 100 % a viac oproti fyziologickej hodnote expresie. Za zvýšenú expresiu sme označili nárast expresie o 10 % až 100 % voči fyziologickej úrovni. Nárast expresie do 10 % sa klasifikuje ako mierne zvýšená expresia.

Sledovanie expresie génov *WT1* a *BAALC* u detí s AML počas liečby demonštrujeme na príklade 9-ročného chlapca s diagnózou AML-M3, cytogenetickým nálezom 46,XY,t(15;17)(q22;q32) a FISH nálezom s 83,5 % jadierkami s prestavbou *PML/RARA* a kvalitatívnym potvrdením fúzneho génu *PML/RARA* s miestom scelenia bcr3.



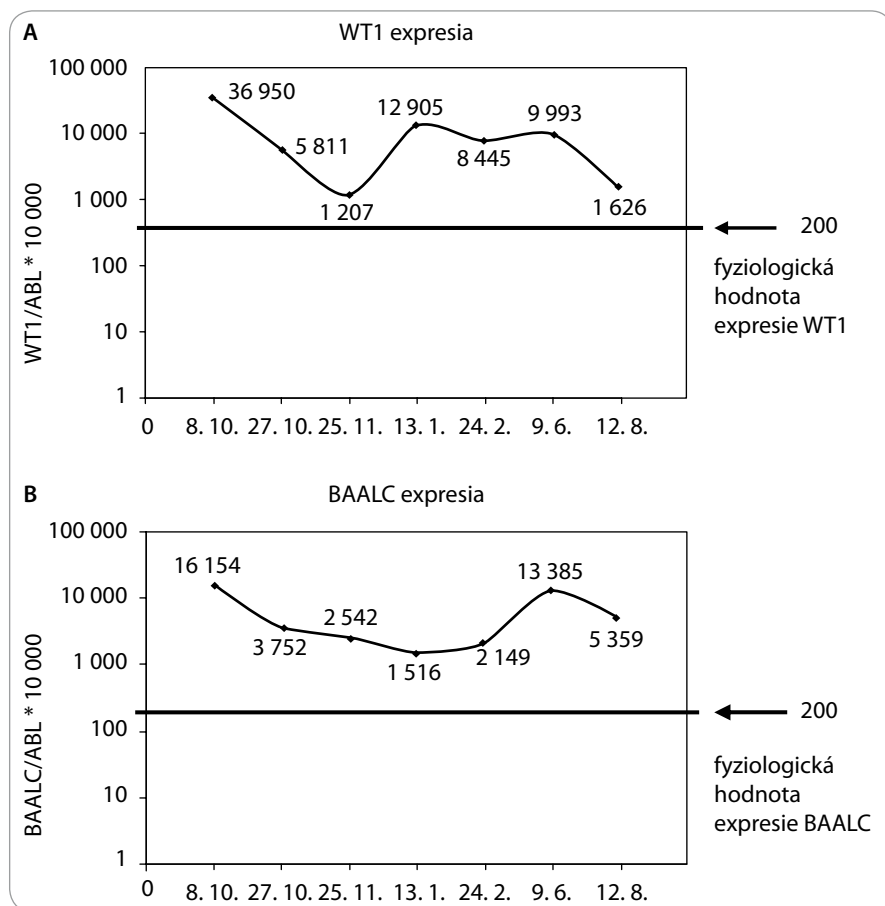
Graf 3. Zmena expresie génu BAALC (A) a WT (B) v reálnom čase počas liečby pacienta s AML-M3.

V čase diagnózy 11. 3. 2009 sme zistili nadexpresiu génov *WT1* a *BAALC* bez mutácie v génoch *FLT3 ITD*, *FLT3 D835*, *MLL TD* a *NPM1*. Počas špecifickej liečby pre AML pacientov sme po indukcií v 35. deň liečby zistili výrazný pokles expresie génu *WT1* a *BAALC* (tab. 4, graf 3). Po 2 mesiacoch nastala 1. klinická remisia (1. CR) a pokles hladiny expresie *WT1* génu na fyziologickú hodnotu a pretrvávanie zvýšenej expresie u génu

BAALC. U druhého pacienta, 12-ročného chlapca s AML-M5 a cytogenetickým nálezom 47,XY,add(5)(qter),+m[15], FISH vyšetrením s 35 % vyšetrenými jadrami s trizómiou chromozómu 8 sme metódou molekulovo-genetickej diagnostiky vylúčili prítomnosť translokácií charakteristických pre AML. V čase diagnózy 8. 10. 2008 sme zistili nadexpresiu génov *WT1* a *BAALC* s mutáciou v géne *FLT3 ITD*. Mutácie v génoch, *FLT3 D835*, *MLL TD*

Tab. 4. Korelácia molekulovo-genetických nálezov s klinickým priebehom počas liečby pacienta s AML-M5.

Vzorka (dátum prijatia, stav pacienta)	WT1 expresia	FLT3 ITD	FLT3 D835	BAALC expresia	MLL TD	NPM1
8. 10. 2008 ešte neliečený	36 950	poz.	neg.	16 154	neg.	neg.
27. 10. 2008 15. deň liečby	5 811	neg.	-----	3 752	----	-----
25. 11. 2008 1. CR	1 207	neg.	-----	2 542	----	-----
13. 1. 2009 relaps	12 905	poz.	-----	1 516	----	-----
24. 2. 2009 relaps	8 443	poz.	-----	2 149	----	-----
9. 6. 2009 relaps	9 993	poz.	-----	13 385	----	-----
12. 8. 2009 relaps	1 626	poz.	-----	5 359	----	-----



Graf 4. Zmena expresie génu WT1 (A) a BAALC (B) v reálnom čase počas liečby pacienta s AML-M5.

a *NPM1* sme vylúčili. Počas špecifickej liečby pre AML pacientov sme po indukcii v 15. deň liečby zistili výrazný pokles expresie génu *WT1* a *BAALC* a elimináciu nádorových buniek s *FLT3 ITD* (tab. 5 a graf 4). Po 35 dňoch nastala 1. klinická remisia (1. CR) a výrazný pokles hladiny expresie *WT1* a *BAALC* génov bez dosiahnutia fyziologickej hodnoty. Po 2 mesiacoch narástla hladina expresie oboch génov *WT1* na 10-násobnú hodnotu, pričom bol zaznamenaný relaps ochorenia na hematologickej úrovni. Hladina expresie génu *BAALC* stúpila 2-násobne a bol potvrdený klon s mutáciou *FLT3 ITD*. Napriek špecifickej liečbe hladina expresie oboch génov narastala a pacient po stanovení relapsu ochorenia po 8 mesiacoch ochoreniu podľahol. Výskyt molekulových markerov v súbore poukazuje na to, že u viac ako polovice pacientov (11/20, 55 %) bola zistená prítomnosť až 3 molekulovo-genetických markerov. U 6 pacientov (30 %) to boli

2 markery a u 3 pacientov (15 %) 1 marker. Pri porovnaní prítomnosti molekulových markerov u pacientov bez prítomnosti *BCR/ABL*, *CBFB/MYH*, *AML1/ETO*, *PML/RARA-bcr1,2,3* sme zistili súčasný výskyt 3 ďalších molekulových markerov typu *FLT3-ITD* a *D835*, *MLL PTD*, *NPM1*, expresie génov *BAALC* a *WT1* u 5/20 pacientov (45 %). U rovnakého počtu pacientov (5/11) sme zistili súčasný výskyt 2 zo sady týchto ďalších markerov. V jednom prípade bol prítomný len jeden z týchto markerov.

Diskusia

U AML boli doposiaľ identifikované mnohonásobné chromozómové a génové aberácie, korelujúce s biologickými a klinickými vlastnosťami ochorenia [13]. Z klinického hľadiska predstavujú jednotlivé chromozómové aberácie dôležitý prognostický a terapeutický faktor, napomáhajúci stanoviť optimálnu terapiu a efektívne ju modifikovať v ďalšom

priebehu liečby. V tejto štúdii sme sa zaoberali zostavením súboru detských pacientov s AML a sledovaním výskytu genetických aberácií. V našom súbore bola najpočetnejšou skupinou skupina pacientov s AML-M4, ktorá tvorila až 30 % všetkých detských pacientov s AML. V literatúre sa uvádza najviac zastúpená skupina AML M0-M2, ktorá tvorí viac ako 40 %. Aj v prezentovanom súbore sa nachádza 45 % pacientov s morfológiou AML M0-M2, čo sa zhoduje s literárnym údajom [18]. Metódou konvenčnej cytogenetiky sme u 65 % detských pacientov s AML vyšetrili chromozómové aberácie a normálny karyotyp u 35 % detí s AML. V literatúre sa často uvádza výskyt približne 50 % pacientov s normálnym karyotypom bez chromozómových aberácií. V našom súbore sa podarilo vyšetriť väčší počet, čo možno pripísať výbornej kvalite štandardného vyšetrovacieho postupu pri kultivácii a spracovaní materiálu. Podľa genetického nálezu sme mohli AML pacientov zaradiť do prognostických skupín. Do prvej skupiny patrilo 23 % pacientov s dobrou prognózou, 31 % so strednou a 46 % so zlou prognózou. Teda u 54 % pacientov predpokladáme priaznivý priebeh ochorenia pri špecifickej liečbe. Ako v literatúre, tak aj v našom súbore sme zistili, že väčšina pacientov umiera rýchlo po stanovení diagnózy (do 2–3 rokov). Preto sa vyvíja snaha u pacientov bez nálezu chromozómových aberácií alebo u tých s priaznivou a strednou prognózou hľadať ďalšie prognostické genetické ukazovatele, ktoré by pomohli stratifikovať takýchto pacientov do užších prognostických skupín. Z tohto dôvodu sa zvyšuje záujem o molekulovo-genetické markery, ktoré by mohli napomôcť v tejto stratifikácii. Do dnešných dní boli v cytogeneticky normálnych myeloblastových bunkách identifikované mutácie viacerých génov. K takýmto mutáciám patria interná tandemová duplikácia a bodová mutácia v tyrozín kinázovej doméne *FLT3* génu, parciálna tandemová duplikácia *MLL* génu, mutácie v génoch *CEPBA*, *NMP1*, *NRAS*, ako aj zvýšená expresia *BAALC* a *WT1* génu. Na Oddelení onkologickej genetiky NOÚ bolo v poslednom období zavedené vyšetovanie mutácií *FLT3 ITD* a *D835*, *MLL PTD*, *NPM1* a expresie génov

BAALC a *WT1*. Jednotlivé molekulovo-genetické markery sa vyskytovali u našich pacientov s rôznou frekvenciou. Metódami molekulárnej genetiky sme zachytili molekulovo-genetické markery asociované so zlou prognózou, t. j. mutácia *FLT3 ITD* a *MLL PTD*, 6/20 pacientov (30 %). Prítomnosť mutácie *FLT3 ITD* sme zistili u 5 detí (25 %) – troch dievčat a troch chlapcov. V literatúre sa incidencia mutácie *FLT3 ITD* uvádza u asi 15 % detských pacientov s AML [15]. V našom súbore bola incidencia vyššia u dievčat ako u chlapcov (3 : 2/dievčatá : chlapci). U 2 *FLT3 ITD* pozitívnych pacientov sme zistili normálny karyotyp, u dvoch sme zistili prítomné chromozómové aberácie. U jedného pacienta nebolo možné karyotyp vyšetriť. V 1 prípade chlapec s touto mutáciou exitoval. U tohto pacienta sme detegovali chromozómové aberácie asociované so zlou prognózou. *FLT3 ITD* mutácie sa nachádzajú často spolu s mutáciou v géne *NPM1*. V našom súbore sme túto koreláciu zachytili u 2/5 pacientov. O výskyte mutácie *MLL PTD* sa veľa nevie. V našom súbore sme túto aberáciu zachytili len u jednej pacientky (5 %). V literatúre sa výskyt pohybuje okolo 2,5 % [14]. U našej pacientky bola zároveň prítomná mutácia *FLT3 ITD* a zvýšená expresia *WT1* génu, pričom karyotyp nebolo možné vyšetriť. Molekulovo-genetické markery asociované s dobrou prognózou, t. j. bodová mutácia *FLT3 D835* a *NPM1*, sme detegovali v 5/20 prípadoch (25 %). Bodovú mutáciu *FLT3 D835* sme zistili u 3 detí (15 %). Je to o niečo málo viac, ako sa uvádza v literatúre (5–10 %) [12]. V nami sledovanom súbore všetci *FLT3 D835* pozitívni pacienti boli chlapci. U 2 pacientov bol normálny cytogenetický nález a nadexpresia *WT1* génu. Jeden z týchto chlapcov exitoval. U tretieho chlapca sme zistili chromozómovú aberáciu spojenú so strednou prognózou. Mutáciu *NPM1* sme zachytili u 2/20 pacientov (10 %). V literatúre sa uvádza výskyt u detských pacientov 2–6 % [13]. Aj keď je mutácia *NPM1* asociovaná s dobrou prognózou, u oboch pacientov sme súčasne zistili aj mutáciu *FLT3 ITD*, ktorá je naopak spojená so zlou prognózou. Obaja pacienti mali normálny cytogenetický nález. U jedného chlapca sme zis-

tili nadexpresiu *BAALC* génu a druhého nadexpresiu *WT1* génu. U všetkých AML detských pacientov sme mohli po dosiahnutí cytogenetickej remisie sledovať minimálne jeden molekulový marker. Týmto sme dosiahli precízne sledovanie minimálnej reziduálnej choroby a možnosť zistenia včasného relapsu. Zvýšená expresia *WT1* génu a *BAALC* génu patria medzi prognosticky nezávislé markery. Nárast expresie niektorého z génov bol prítomný u 18/20 pacientov, t. j. u 90 % pacientov. Pri korelácii hladiny expresie génov *WT1* a *BAALC* s klinickým priebehom počas liečby sme zistili, že hladina expresie génu *WT1* úzko korelovala s dosiahnutím kompletnej remisie ochorenia, čo sa prejavilo poklesom hladiny expresie na úroveň fyziologickej hodnoty. Táto zhoda sa prejavila rovnako aj u pacienta s relapsom, pričom pri klinickom stanovení relapsu, hladina expresie bola zistená so 100 % nárastom. Sledovaním korelácie génu *BAALC* s klinickým priebehom u oboch pacientov sme zistili diskrepanciu, pri stanovení kompletnej remisie bola hladina expresie *BAALC* génu zvýšená. Rovnako u druhého sledovaného pacienta sme pri relapse zaznamenali mierne zvýšenú expresiu génu *BAALC*, pričom expresia génu *WT1* bola 100% zvýšená. Z uvedeného vyvodzujeme záver, že sledovanie expresie génu *WT1* je citlivejšie pre stanovenie kompletnej remisie, ako aj včasného relapsu. Odporúčame ho využívať v klinickej onkologickej praxi. Nadexpresiu *WT1* génu sme zistili u 11/20 pacientov (55 %). V literatúre sa táto hodnota pohybuje okolo 78 % pacientov [18]. U 15 % pacientov bola zvýšená expresia a u 5 % mierne zvýšená expresia. Ostatní pacienti nemali zvýšené hodnoty expresie *WT1* génu. Nadexpresiu *BAALC* génu sme zachytili u 4/20 pacientov (20 %) a zvýšenú expresiu u 45 %. U ostatných pacientov sme namerali fyziologické hladiny expresie *BAALC* génu. 4 pacienti z vyšetrovaného súboru exitovali. Časový interval od stanovenia diagnózy po exitus bol v rozmedzí 0–2 roky. U jedného z týchto pacientov bol prítomný normálny cytogenetický nález a mutácia *FLT3 D835*, ktorá je asociovaná s dobrou prognózou. Tento prípad poukazuje na to, že je potrebné hľadať nové markery, ktoré by

nám pomohli ešte presnejšie stratifikovať pacientov. Markery spájané s dobrou prognózou ešte nezaručujú prognosticky lepší priebeh ochorenia. Podarilo sa nám identifikovať prídavné molekulárne zmeny, ktoré v skupine pacientov s normálnym karyotypom umožnia ich presnejšiu stratifikáciu do prognostických podskupín a umožnia sledovať hladinu MRD. U každého jedného pacienta v súbore sme identifikovali aspoň jeden genetický marker.

Záver

Kombináciou metód klasickej cytogenetiky, FISH a špecifických PCR, RT-PCR metód je možné zistiť široké spektrum genetických aberácií u detských pacientov s AML. Zavádzanie ďalších molekulových markerov v diagnostike AML ochorenia umožňuje rozšíriť spektrum genetických markerov charakterizujúcich klonový vývoj leukémie. V mnohých prípadoch umožňujú ďalšie molekulové markery *FLT3-ITD* a *D835*, *MLL PTD*, *NPM1* lepšie vyjadrenie sa k prognóze ochorenia, monitorovanie odpovede pacienta na špecifickú liečbu, sledovanie minimálnej reziduálnej choroby a potransplantačného priebehu ochorenia. V súčasnosti sa do popredia dostáva snaha identifikovať tieto prognosticky významné molekulové markery za účelom lepšej stratifikácie pacientov s normálnym karyotypom bez cytogenetického nálezu do prognosticky užších skupín. Rovnako zavedenie diagnostiky genetických markerov môže pomôcť identifikovať u každého pacienta aspoň jeden cytogenetický alebo molekulárny marker na monitorovanie priebehu ochorenia, na predikciu včasného relapsu, alebo na sledovanie efektívnosti terapie.

Literatúra

1. Kubisz P et al. Hematológia a transfuziológia. 1. vyd. Bratislava, Praha: Grada 2006.
2. Nováková P, Ilénčíková D. Genetické metódy v onkológii. Onkologia 2010; 5(2): 59–63.
3. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. Blood 2009; 114(5): 937–951.
4. Kaušitz J et al. Onkológia. 1. vyd. Bratislava: VEDA 2003.
5. Sršeň Š, Sršňová K. Základy klinickej genetiky a jej molekulárna podstata. 4. vyd. Martin: Osveta 2005.
6. Vojtašák K et al. Vybrané kapitoly z lekárskej biológie a humánnej genetiky. 1. vyd. Bratislava: Univerzita Komenského 2003.

7. Remick DG, Kunkel SL, Holbrook EA et al. Theory and applications of the polymerase chain reaction. *Am J Clin Pathol* 1990; 93 (4 Suppl 1): S49–S54.
8. Templeton NS. The polymerase chain reaction. History, methods, and applications. *Diagn Mol Pathol* 1992; 1(1): 58–72.
9. Valasek MA, Repa JJ. The power of real-time PCR. *Adv Physiol Educ* 2005; 29(3): 151–159.
10. Estey E, Döhner H. Acute myeloid leukaemia. *Lancet* 2006; 368(9550): 1894–1907.
11. Krauter J, Wagner K, Schäfer I et al. Prognostic factors in adult patients up to 60 years with AML and translocations of chromosome band 11q23: individual patient data-based meta-analysis of the German AML Intergroup. *J Clin Oncol* 2009; 27(18): 3000–3006.
12. Meshinchi S, Alonzo TA, Stirewalt DL et al. Clinical implications of *FLT3* mutations in pediatric AML. *Blood* 2006; 108(12): 3654–3661.
13. Reneville A, Roumier C, Biggio V et al. Cooperating gene mutations in acute myeloid leukemia: a review of the literature. *Leukemia* 2008; 22(5): 915–931.
14. Balgobind BV, Hollink IH, Reinhardt D et al. Low frequency of *MLL*-partial tandem duplications in paediatric acute myeloid leukaemia using MLPA as a novel DNA screenings technique. *Eur J Cancer* 2010; 46(10): 1892–1899.
15. Hollink IH, van den Heuvel-Eibrink MM, Zimmermann M et al. Clinical relevance of Wilms tumor 1 gene mutations in childhood acute myeloid leukemia. *Blood* 2009; 113(23): 5951–5960.
16. Hollink IH, Zwaan CM, Zimmermann M et al. Favorable prognostic impact of *NPM1* gene mutations in childhood acute myeloid leukemia, with emphasis on cytogenetically normal AML. *Leukemia* 2009; 23(2): 262–270.
17. Blaise A et al. *WT1* Overexpression after Induction Therapy in Children AML is Associated with Higher Risk of Relapse. *Blood ASH Annual Meeting* 2004; 104: Abstract 2998.
18. Leukaemia & lymphoma research. Available from: <http://www.llresearch.org.uk/en/1/infdispataml.html>.

Utilisation of Electrical Impedance Tomography in Breast Cancer Diagnosis

Využitie elektroimpedančnej tomografie v diagnostike karcinómu prsníka

Raneta O.¹, Ondruš D.¹, Bella V.²

¹ 1st Department of Oncology, Faculty of Medicine, Comenius University, St. Elisabeth Cancer Institute, Bratislava, Slovak Republic

² Out Patient Department of Mammology, St. Elisabeth Cancer Institute, Bratislava, Slovak Republic

Summary

Backgrounds: Breast cancer presents a serious medical and social problem worldwide. Early detection is key to effective breast cancer treatment. Therefore, scientists are consistently looking for new diagnostic techniques that would be more efficient, easy to use and safe for the patient. The main task of this study was to evaluate the feasibility of a novel low-cost non-invasive technique called electrical impedance tomography (EIT) and to determine whether EIT can qualitatively supplement the existing traditional imaging techniques in the process of breast cancer diagnostics. **Patients and Methods:** Randomly selected patients with mammographic and/or sonographic abnormalities were involved into the study. In total, 808 patients aged 18–94 (mean 54) years participated in the survey. Exclusion criteria involved previous breast surgery, breast core biopsy or fine needle aspiration within the last 1 and 3 months, respectively. Furthermore, patients with implanted electrically powered devices (cardioverter, pacemaker) and patients previously treated by chemo-radiotherapy were also excluded. The EIT examination was performed using the electrical impedance computer mammograph MEIK developed by the Institute of Radio Engineering and Electronics, Russian Academy of Sciences. **Results:** The following results were obtained: sensitivity of EIT was 87%, X-ray mammography (MMG) 89% and ultrasonography (USG) 91%; specificity of EIT was 85%, MMG 91% and USG 84%. Negative predictive value (NPV) of all three modalities showed nearly equal values, with slight advantage of the USG. MMG had the highest positive predictive (PPV) value (83%), EIT had the lowest (63%). Sensitivity increased to 96% and 98%, respectively, when combinations EIT + MMG and EIT + USG were used. The specificity increased to 79% for EIT + MMG and 71% for EIT + USG. EIT + MMG and EIT + USG NPV remained the same. PPV was 65% and 58%, respectively for the EIT + MMG and EIT + USG combination. **Conclusion:** Our study findings are comparable to those of other similar studies. Although the EIT is a promising method and deserves close attention of specialists, it cannot replace MMG and/or USG examination as it does not provide information on structural changes to the breast. It can, however, provide very useful additional information about metabolic processes in the body. But in order to show its full potential some improvements should be held.

Key words

breast cancer – electrical impedance tomography – mammography – ultrasonography – diagnostics

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.



Olga Raneta, MD.

1st Department of Oncology
Faculty of Medicine
Comenius University
St. Elisabeth Cancer Institute
Heydukova 10
812 50 Bratislava
Slovak Republic
e-mail: olga_raneta@hotmail.com

Obdrženo/Submitted: 10. 5. 2011

Přijato/Accepted: 12. 10. 2011

Súhrn

Výhodiská: Rakovina prsníka predstavuje celosvetovo závažný zdravotný a sociálny problém. Včasná diagnostika je kľúčom k úspechu liečby tejto malignity. Hlavnou úlohou tejto štúdie bolo zhodnotiť možnosti novej lacnej neinvazívnej techniky, tzv. elektroimpedančnej tomografie (EIT), a určiť, či implementácia EIT môže kvalitatívne doplniť existujúce klasické zobrazovacie metódy v procese diagnostiky karcinómu prsníka. **Materiál a metódy:** Do štúdie boli zaradené náhodne vybrané pacientky z tých, ktoré mali podozrivé mamografické a/alebo sonografické nálezy. Celkovo sa štúdie zúčastnilo 808 pacientok vo veku 18–94 rokov (priemer 54). Kritériá na vylúčenie zo štúdie boli: predchádzajúce operácie na prsníkoch, core-cut biopsia alebo punkčná aspiračná biopsia počas posledných 1 a 3 mesiacov. Najviac boli vylúčené pacientky s implantovaným kardiostimulátorom a pacientky, ktoré pred tým podstúpili rádioterapiu a/alebo chemoterapiu. EIT vyšetrenie bolo vykonané pomocou elektroimpedančného mamografu MEIK, ktorý bol vyvinutý v Ústave rádiotechniky a elektroniky Ruskej akadémie vied. **Výsledky:** Sensitivita EIT bola 87 %, mamografie (MMG) 89 %, sonografie (USG) 91 %, špecificita EIT bola 85 %, MMG 91% a USG 84 %. Negatívna prediktívna hodnota (NPV) všetkých troch metód preukázala takmer rovnaké hodnoty, s miernou výhodou USG. Najvyššiu pozitívnu prediktívnu hodnotu (PPV) ukázala MMG (83 %), najnižšiu EIT (63 %). V kombinácii EIT + MMG a EIT + USG citlivosť sa zvýšila do 96 %, resp. 98 %. Špecificita EIT + MMG dosiahla 79 % a EIT + USG 71 %. NPV pre EIT + MMG a EIT + USG ukázala rovnaké hodnoty. PPV pre kombináciu EIT + MMG bola 65 % a pre kombináciu EIT+USG 58 %. **Záver:** Výsledky našej štúdie sú veľmi podobné výsledkom získaným v predchádzajúcich analogických štúdiách. Je zrejmé, že EIT je sľubná metóda a zaslúži si pozornosť odborníkov, ale je taktiež zrejmé, že nemôže nahradiť MMG a/alebo USG, pretože neposkytuje informáciu o štruktúrnych zmenách v prsníku. Môže však poskytnúť užitočné informácie o metabolických procesoch v tele. Na to, aby vyšetrenie EIT preukázalo svoj plný potenciál, sú potrebné určité zlepšenia.

Kľúčové slová

karcinóm prsníka – elektroimpedančná tomografia – mamografia – sonografia – diagnostika

Introduction

Breast cancer remains a serious medical and social problem in many developed countries, but in recent years, its incidence has begun to increase also in the developing countries. On a global scale it is the 2nd most common cancer at all and is the 5th most common cancer-related death in both sexes [1,2].

Study of early diagnosis of malignant tumors showed the necessity for screening programs, whose main task would be to identify the disease before the onset of symptoms about which the patient subsequently would need a medical care.

Currently, instrumental methods of breast disease diagnostics can be divided into two groups. To the first group belong X-ray mammography (MMG) and ultrasonography (USG). These methods are based on a study of the mammary gland anatomy. They determine the presence or absence of the pathology in the organ's structure.

To the second group belong diagnostic methods, based on physiology, on the peculiarities of metabolism in breast tissues in norm and pathology. These methods include electrical impedance tomography (EIT).

The EIT is an imaging technology aiming at exploiting the difference in the passive electrical properties (impe-

dance) of living tissues in order to generate a tomographic image. EIT and its employment in biology and medicine has been intensively investigated for nearly 20 years, but it became just recently implemented as a useful tool in the health care praxis including breast cancer detection [3]. The principle of EIT is based on the different electrical storage potential of normal and pathologically altered tissues allowing to image differences in the tissue conductivity and permittivity inferred from the body surface electrical measurements. In praxis, small currents are applied to

a part of the subject's body through conducting electrodes attached to the skin and the resulting electrical potentials are measured and visualized. Since breast cancer show increased electrical conductivity and permittivity values that the surrounding normal tissue [4–7], EIT became a sensitive perspective imaging technology in the breast cancer detection.

Materials and Methods

Patients

Randomly selected patients from those with mammographic and/or sonogra-

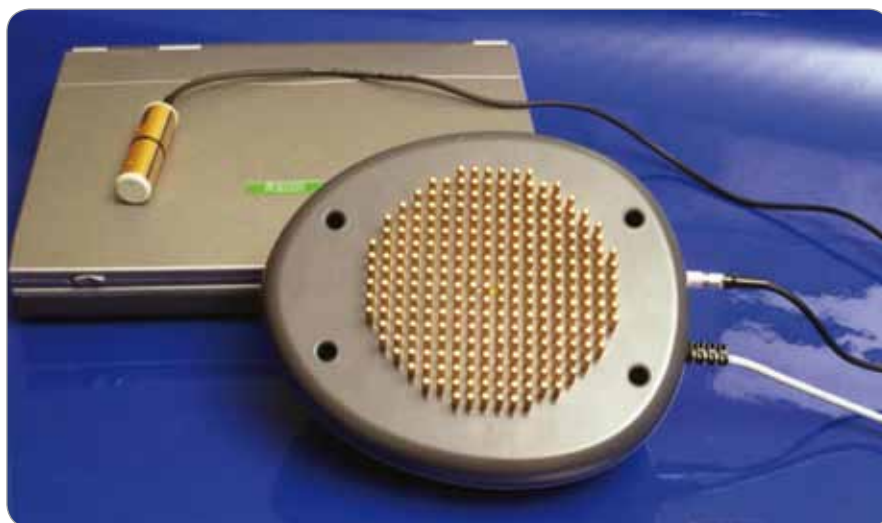


Fig 1. Electrical impedance mammograph MEIK.

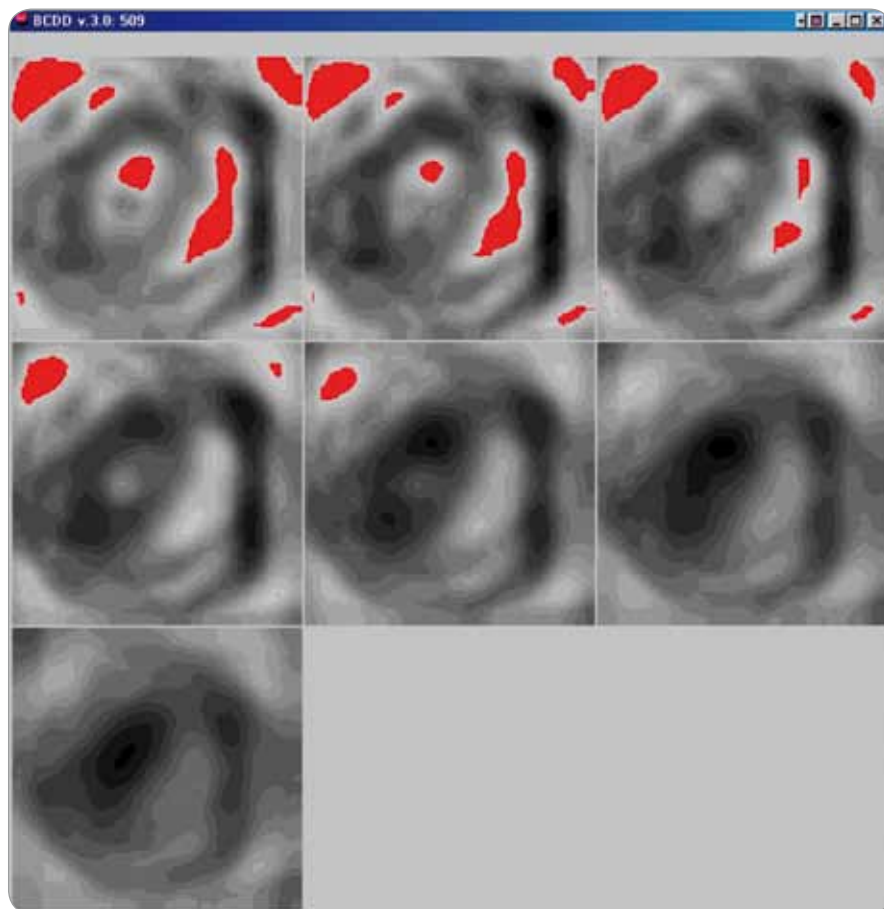


Fig. 2. Electrical impedance tomogram of the left mammary gland. A 51-year-old patient. Postmenopause – 1 year. Focal changes in the lower-lateral quadrant.

phic abnormalities were involved into the study. In total, 808 patients aged 18–94 (mean 54) years signed informational agreement and participated in the survey. Exclusion criteria involved previous breast surgery, breast core biopsy or fine needle aspiration within the last 1 and 3 months, respectively. Furthermore, patients with implanted electrically powered devices (cardioverter, pacemaker) and patients previously treated by chemo-radiotherapy were also not involved.

EIT imaging

The EIT examination was performed by means of the electrical impedance computer mammograph MEIK (Fig. 1) developed by the Institute of Radio Engineering and Electronics, Russian academy of sciences. Patients during the examination were in the supine position. Before current application, the examined breast was moistened by water. By means of

one out of 256 electrodes of the matrix, weak alternative current (0.5 mA) with a frequency of 50 kHz was applied to the inspected breast and subsequently the surface distribution of electric potentials were recorded and the signals were re-worked to electronic impedance images. The breast has been scanned every 8 mm with the depth of 8 cm.

In the EIT images, the impedance (tissue conductivity) is reflected by differences in shades of gray scale with smooth transition from dark (hyper-impedance) to light (hypo-impedance) areas. It is known that benign tumours develop from the tissue elements of an unaffected breast, hence there is no difference in electrical properties of tissue of a healthy breast and benign tumours. That's why benign tumours of small size (less than 1 cm), as a rule, are not visualized on the electrical impedance tomograms. Tumours over 1 cm, primarily cystic lesions are shown as hyper-impe-

dance areas with electrical conductivity below 0.95 conventional units. Its value is similar to the electrical conductivity of the normal glandular tissue of the breast. Focal changes presented in the EIT images in form of light hypo-impedance spots with electrical conductivity exceeding 0.95 conventional units appear in the probable place of the malignant tumour location (Fig. 2).

Results

In our study 808 women were involved. Subsequently, benign changes of mammary glands were identified in 622 of the patients and breast cancer – in 184. Benign diseases were as follows: mastopathy in 410 (66%), fibroadenoma in 133 (21%), hyperplasia/metaplasia in 8 (1.2%), cystic lesions in 49 (8%), adenosis in 12 (2%), lipoma in 10 (1.6%) patients. From the malignant lesions were identified: 14 (8%) with ductal carcinoma in situ, 145 (79%) with invasive ductal carcinoma, 16 (9%) with invasive lobular carcinoma, 6 (3%) with mucinoid adenocarcinoma, three (1.6%) with invasive tubular carcinoma.

In total 808 EIT, 657 MMG and 571 USG investigations were analyzed. In 116 cases (14%) EIT showed a false diagnosis. At the MMG and USG false diagnosis was established in 62 (9%) and 77 (13%) cases, respectively. The fraction of false diagnoses in benign diseases was as follows: for EIT – 92 (15%) for MMG – 43 (9%), USG – 63 (15%). Among the malignant lesions the share of false diagnoses was: for the EIT – 24 (13%) for MMG – 19 (12%), USG – 14 (9%). The distribution of false diagnoses of individual pathology is presented in tab. 1.

Additionally, we analysed the false-negative EIT results in correlation with the clinical stage of the process. 20 false diagnoses of invasive ductal carcinoma were distributed according to the following stages: 11 (55%) cases were in T0–T1 stage; 7 (35%) cases – in T2 stage; two (10%) cases – in T3 stage. False-negative diagnoses of invasive lobular carcinoma (one case) and mucinoid adenocarcinoma (one case) also were in T1 stage. All cancers in T4 stage (5 cases) were diagnosed correctly. Thus, the dependence of the EIT sensi-

Tab. 1. Results of MG, USG and EIT examination related to histopathology results.

Histopathologic diagnosis	EIT results	MMG results	USG results
Total number of patients examined	808	657	571
Number of correct diagnoses	692	595	494
	532 – benign pathology	434 – benign pathology	344 – benign pathology
	160 – malignant pathology	161 – malignant pathology	150 – malignant pathology
Number of incorrect diagnoses	116	62	77
	92 – benign pathology	43 – benign pathology	63 – benign pathology
	hyperplasia/metaplasia – 3 from 8 (62%)	hyperplasia/metaplasia – 2 from 7 (71%)	hyperplasia/metaplasia – 2 from 5 (60%)
	fibroadenoma – 20 from 133 (85%)	fibroadenoma – 14 from 162 (91%)	fibroadenoma – 34 from 107 (68%)
	mastopathy – 59 from 410 (86%)	mastopathy – 19 from 256 (92%)	mastopathy – 19 from 245 (92%)
	cysts – 5 from 49 (89%)	cysts – 5 from 36 (86%)	cysts – 2 from 30 (93%)
	adenosis – 2 from 12 (83%)	adenosis – 2 from 7 (71%)	adenosis – 5 from 11 (55%)
	lipoma – 3 from 10 (70%)	lipoma – 1 from 9 (89%)	lipoma – 1 from 9 (89%)
	24 – malignant pathology	19 – malignant pathology	14 – malignant pathology
	ductal carcinoma in situ – 2 from 14 (86%)	ductal carcinoma in situ – 3 from 14 (79%)	ductal carcinoma in situ – 1 from 8 (87%)
	invasive ductal carcinoma – 20 from 145 (86%)	invasive ductal carcinoma – 12 from 122 (90%)	invasive ductal carcinoma – 11 from 118 (91%)
	invasive lobular carcinoma – 1 from 16 (93%)	invasive lobular carcinoma – 3 from 17 (82%)	invasive lobular carcinoma – 1 from 11 (91%)
	mucinoid adenocarcinoma – 1 from 6 (83%)	mucinoid adenocarcinoma – 1 from 6 (83%)	mucinoid adenocarcinoma – 1 from 4 (75%)
	invasive tubular carcinoma – 0 from 3*	invasive tubular carcinoma – 0 from 3*	invasive tubular carcinoma – 0 from 3*

* not counted because of insufficient number of data

tivity from the stage of the disease was clearly defined.

The results of our study showed that the sensitivity of the EIT (87%) was lower than of MMG (89%) and USG (91%), but this difference is insignificant. The specificity of the EIT and USG showed almost

equal values (85% and 84%, respectively) and specificity of MMG reached 91%.

Negative predictive value (NPV) of all three modalities showed nearly equal values, with slight advantage of the USG. The highest positive predictive value (PPV) had MMG (83%), the lowest – EIT

(63%). In combinations EIT + MMG and EIT + USG sensitivity increased to 96% and 98%, respectively. The specificity of EIT + MMG amounted to 79% and of EIT + USG – to 71%. NPV of EIT + MMG and EIT + USG showed equal values. PPV in combination EIT + MMG was 65%, and in combination EIT + USG – 58% (Tab. 2).

Tab. 2. Statistical data for EIT, MG, USG alone and in combination EIT + MG and EIT + USG.

	EIT	MMG	USG	EIT + MMG	EIT + USG
Sensitivity	87%	89%	91%	96%	98%
Specificity	85%	91%	84%	79%	71%
PPV	63%	83%	70%	65%	58%
NPV	96%	94%	97%	99%	99%

Discussion

MMG screening is currently considered the best method available for mass screening in the early detection of breast cancer [8]. Systematic MMG screening in women aged 50–69 years can reduce mortality rates up to 30% [9]. Sensitivity and specificity of MMG is in direct dependence on

breast density, which limits its use at a young age [10,11]. MMG is accompanied by some inconveniences. It requires a special spacious room, has a high cost of maintenance and requires breast compression, which causes discomfort to the patient. Furthermore, examination of the patient is accompanied by radiation, which causes a lot of concerns about scientists [12,13]. In addition, MMG examination performed repeatedly by regular check-ups is leading to onset of psychosocial distress, anxio-depressive syndrome and emotional, cognitive and functional disorders mainly due to fear from cancer detection and progression [14,15].

USG examination is typically used as an auxiliary method after performed MMG or clinical breast examination. It is suitable to examine the young and the pregnant women and to guide biopsies [16]. But a big disadvantage of this method is that it is totally machine- and operator-dependent method [17].

MMG and USG report about the structural changes – about the size of the tumor, its localization, the presence of microcalcifications, and so on. EIT gives to the doctor additional information about the physiological processes taking place in the breast, the presence of metabolic changes in the tissue, disrupting of the electrical properties of the cells. This information can be very valuable, especially between rounds of screening, that last from 12 to 24 months, i.e. rather long period of time.

It is known that the percentage of breast cancer detected between rounds of screening (so-called interval cancers), is an important indicator of its effectiveness. In England, MMG has been held for nearly 30 years, and involves more than 75% of invited women. The Advisory Committee on Breast Cancer Screening conduct the study in which 1,000 women participated. For 10 years these women took part in screening, which revealed 36 cancers: 20 – during screening examinations and 16 – between rounds of screening. Thus, the proportion of interval cancers in England was 33% of all diagnosed cancers [18]. Comparable data were also obtained

in other countries [19–21]. Particularly high rate of interval cancer was in the age group 40–49 years, reaching according to the Swedish trials 65.7% [22]. Our study showed that the combined use of MMG and EIT considerably reduces false-negative results and leads the sensitivity to 96%, and in the combination EIT + USG the sensitivity increases to 98%.

Taking into account these data, as well as the fact that this technology is non-invasive and free of radiation, we consider it appropriate to use EIT for preventive check-ups of the female population between rounds of screening in order to isolate patients at risk; in examination of pregnant and lactating women and women with high risk of carcinogenesis (BRCA1, BRCA2 genes) and as an additional method in the algorithm of complex breast cancer diagnostics, including and in young women. However, it should keep in mind that the young woman's breast has a rich vascularization and therefore a higher electrical conductivity of the tissue, which may affect the outcome of the study. Tofts et al [23] proved, that highly vascularized tumors are characterised by a significantly increased permeability. Therefore a higher vascularization might lead to an increased conductance because of the higher permeability of the cell membranes and thereby increase the number of false-positive results. In turn, Stojadinovic et al [24] presented preliminary results on the use of EIT for the early detection of breast cancer in young women. They stated that EIT appears promising for early detection of breast cancer, and identification of young women at increased risk for having the disease at the time of screening.

The results of our study have shown that EIT deserves the close attention and is a promising method, but in order to show its full potential some improvements should be held. A major shortcoming of this technique is poor differentiation among various benign tumors, and in some cases, the separation of malignant tumours from benign lesions. More data are required to better categorize the information contained in EIT images.

Conclusion

The findings of our study are very similar to data from previous analogous studies. Obviously, the EIT has several advantages and deserves the close attention of specialists, but it cannot replace MMG or USG, because it does not give the information about the structural changes of the breast, which is extremely necessary to the doctor. However, it can provide additional very useful information about the metabolic processes in the body. This information can often be decisive in elaboration of the treatment strategies and in the management of the patient. Although this technology will probably never become the gold standard that MMG is today, further clinical study may lead to EIT being replaced from category "an controversial experimental modality" to category "an acceptable and widely used adjunct modality".

References

1. Ondrusova M. Breast cancer epidemiology. *Onkológia* 2009; 4(2): 72–75.
2. Plesko I. Current global and local knowledge and problems of epidemiology of malignant tumors. *Onkológia* 2006; 1(1): 8–13.
3. Hope TA, Iles SE. Technology review: the use of electrical impedance scanning in the detection of breast cancer. *Breast Cancer Res* 2004; 6(2): 69–74.
4. Surowiec AJ, Stuchly SS, Barr JB et al. Dielectric properties of breast carcinoma and the surrounding tissues. *IEEE Trans Biomed Eng* 1988; 35(4): 257–263.
5. Jossinet J. The impedivity of freshly excised human breast tissue. *Physiol Meas* 1998; 19(1): 61–75.
6. Singh B, Smith CW, Hughes R. In vivo dielectric spectrometer. *Med Biol Comput* 1979; 17(1): 45–60.
7. Jossinet J. Variability of impedivity in normal and pathological breast tissue. *Med Biol Eng Comput* 1996; 34(5): 346–350.
8. Prasad SN, Houserova D, Campbell J. Breast imaging using 3D electrical impedance tomography. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2008; 152(1): 151–154.
9. Lehotská V, Příkazská M. Mammography – importance, possibilities, technical trends, current situation and perspective. *Onkológia* 2006; 1(1): 19–21.
10. Mushlin AI, Kouides RW, Shapiro DE. Estimating the accuracy of screening mammography: a meta-analysis. *Am J Prev Med* 1998; 14(2): 143–153.
11. Carney PA, Miglioretti DL, Yankaskas BC et al. Individual and combined effects of age, breast density, and hormone replacement therapy use on the accuracy of screening mammography. *Ann Intern Med* 2003; 138(3): 168–175.
12. Armstrong K, Moye E, Williams S et al. Screening mammography in women 40 to 49 years of age: a systematic review for the American College of Physicians. *Ann Intern Med* 2007; 146(7): 516–526.
13. Mettler FA, Upton AC, Kelsey CA et al. Benefits versus risks from mammography: a critical reassessment. *Cancer* 1996; 77(5): 903–909.
14. Bencova V, Svec J, Bella V. The role of psychosocial oncology in the health care of breast cancer survivors. *Bratisl Lek Listy* 2009; 110(6): 374.

15. Bencova, V, Mrazova A, Svec J. Psychosocial morbidity – an unfilled gap in the undergraduate courses of medicine and nursing. *Clin Social Work* 2010; 1–2: 38–42.
16. Sehgal CM, Weinstein SP, Arger PH et al. A review of breast ultrasound. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2006; 11(2): 113–123.
17. Nover AB, Jagtap S, Anjum W et al. Modern breast cancer detection: a technological review. *Int J Biomed Imaging* 2009; 2009: 902326.
18. NHS Cancer Screening Programmes. Screening for Breast Cancer in England: Past and Future. NHSBSP Publication No 61; c2006-02 [updated 2006 February; cited 2011 Aug 9]. Available from: <http://www.cancerscreening.nhs.uk/breastscreen/publications/nhsbsp61.html>.
19. Shapiro S. Evidence on screening for breast cancer from a randomized trial. *Cancer* 1977; 39 (Suppl 6): 2772–2782.
20. Frisell J, Glas U, Hellström L et al. Randomized mammographic screening for breast cancer in Stockholm. Design, first round results and comparisons. *Breast Cancer Res Treat* 1986; 8(1): 45–54.
21. Frisell J, Eklund G, Hellström L et al. Analysis of interval breast carcinomas in a randomized screening trial in Stockholm. *Breast Cancer Res Treat* 1987; 9(3): 219–225.
22. Tabár L, Fagerberg G, Duffy SW et al. Update of the Swedish two-county program of mammographic screening for breast cancer. *Radiol Clin North Am* 1992; 30(1): 187–210.
23. Tofts PS, Berkowitz B, Schnall MD. Quantitative analysis of dynamic Gd-DTPA enhancement in breast tumors using a permeability model. *Magn Reson Med* 1995; 33(4): 564–568.
24. Stojadinovic A, Nissan A, Gallimidi Z et al. Electrical impedance scanning for the early detection of breast cancer in young women: preliminary results of a multicenter prospective clinical trial. *J Clin Oncol* 2005; 23(12): 2703–2715.

Výskyt malignit a dispenzarizace dárců krvetvorných buněk – výsledky sledování Hematologicko-onkologického oddělení FN Plzeň a Českého národního registru dárců dřeně

The Incidence of Malignancies and Surveillance of Hematopoietic Stem Cells Donors – the Results of the Haemato-Oncology Department University Hospital in Plzen (Pilsen) and Czech National Marrow Donors Registry Observation

Vokurka S., Koza V., Jungová A., Navrátilová J., Svoboda T., Jindra P., Steinerová K., Hrabětová M., Výrutová R., Novák L.

Hematologicko-onkologické oddělení, FN Plzeň

Souhrn

Východiska: Růstový faktor granulopoézy filgrastim je využíván jako mobilizační prostředek před odběry periferních krvetvorných buněk a vedou se polemiky o riziku rozvoje hematologických malignit. Analyzovali jsme výskyt malignit a systém dispenzarizace dárců po odběrech krvetvorných buněk. **Soubor pacientů a metody:** Prospektivní sledování příbuzenských dárců Hematologicko-onkologického oddělení FN Plzeň a nepříbuzenských dárců Českého národního registru dárců dřeně (ČNRDD) v období 2001–2010. **Výsledky:** U 344 dárců ČNRDD při sledování 753 osobo-let byl zastižen pouze rozvoj chronické lymfatické leukemie u jednoho dárce kostní dřeně 6 let po odběru s tím, že retrospektivně byl klon leukemie prokázán analýzou DNA ve vzorku krve dárce již v době před odběrem dřeně. U 84 příbuzenských dárců periferních krvetvorných buněk při sledování 337 osobo-let byly zastiženy akutní myeloidní leukemie, non-hodgkinský lymfom, karcinom ledviny a kolorekta. Korespondující incidence hematologických malignit zde byla 593 případů, přičemž očekávaná incidence byla 143/100 000. Věk příbuzenských dárců byl signifikantně vyšší: 48 (16–75) vs 31 (20–42) let, ($p < 0,0001$). Významně více nedispenzarizovaných dárců bylo příbuzenských i při aktivním systému poodběrového sledování: 32 % vs 3 % ($p < 0,0001$). **Závěr:** Výskyt malignit u dárců krvetvorných buněk lze přirozeně předpokládat s tím, že u příbuzenských dárců je riziko vyšší s ohledem na jejich obecně vyšší věk. U příbuzenských dárců je nutné počítat také s obecně vyšším rizikem hematologických malignit při rodinném výskytu. Vliv filgrastimu na vývoj hematologických malignit vyžaduje další analýzy a není zatím evidentní. Spolupráce s příbuzenskými dárci v rámci dispenzarizace je omezená.

Klíčová slova

filgrastim – incidence – dárci tkání – leukemie myeloidní akutní – lymfom

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

Obdrženo/Submitted: 30. 6. 2011

Přijato/Accepted: 23. 8. 2011

Summary

Backgrounds: Granulopoiesis colony-stimulating factor filgrastim is used to mobilize peripheral stem cells but there are concerns regarding an elevated risk of haematological malignancies. We analyzed the incidence of malignancies and the system of haematopoietic stem cells donor surveillance. **Patients and Methods:** prospective observation of sibling donors of the Haemato-Oncology Department University Hospital in Plzeň (Pilsen) and of unrelated donors of the Czech National Marrow Donors Registry (CNMDR) in 2001–2010. **Results:** No malignancy was observed in a group of 344 unrelated CNMDR donors, providing 753 person-years; one case of chronic lymphocytic leukaemia manifested 6 years after bone marrow donation, with leukaemia clone retrospectively detected by DNA analysis in blood samples taken prior to the marrow donation. Acute myeloid leukaemia, non-Hodgkin lymphoma, renal and colorectal carcinoma were observed in a group of 84 peripheral stem cells sibling donors, providing 337 person-years observation. The respective incidence of the two haematologic malignancies was 593 cases and the expected incidence rate was 143 per 100,000. The sibling (related) donors age was significantly higher: 48 (16–75) vs. 31 (20–42) years, ($p < 0.0001$). Significantly more lost-to-follow-up donors were among the related donors (32% vs. 3%, $p < 0.0001$), even though active surveillance system was implemented. **Conclusion:** The development of malignancies in hematopoietic stem cells donors can naturally be expected. Related (sibling) donors are at higher risk because of their generally older age, and higher susceptibility to haematological malignancies developed within the family. The contribution of filgrastim exposure needs to be further investigated. The follow-up cooperation with related (sibling) donors is limited.

Key words

filgrastim – incidence – grafts donors – acute myeloid leukaemia – lymphoma

Úvod

Alogenní transplantace krvetvorných buněk jsou významnou součástí léčby hematologických malignit a akutních leukemií především. U dospělých pacientů jsou jako hlavní štěpy krvetvorných buněk využívány kostní dřeň (KD), která se odebrává dárčům v celkové anestezii z lopaty kosti kyčelní, a dále periferní krvetvorné buňky (PKB), které se odebírají dárčům prostřednictvím leukaferézy z periferní krve po předchozí stimulaci filgrastimem – růstovým faktorem granulopoézy (G-CSF, granulocyte colony-stimulating factor, Neupogen®). V souvislosti s používáním filgrastimu se objevují polemiky o možném zvýšeném riziku rozvoje hematologických malignit. Bylo zjištěno, že krátkodobá aplikace G-CSF dárčům indukovala chromozomální tetraploidii v malé části zralých myeloidních buněk v krvi [1], genetické alterace v lymfocytech [2] a aneuploidii [3]. V roce 2006 publikoval Bennett et al [4] dva případy rozvoje akutní myeloidní leukemie (AML) u příbuzenských dárců PKB, jejichž sourozenci trpěli rovněž AML, ze souboru 200 dárců stimulovaných filgrastimem. V rozsáhlé retrospektivní analýze EBMT – the European Group for Blood and Marrow Transplantation – bylo u dárců zastiženo 20 hematologických malignit (392/100 000), z nichž 8 bylo po dárčovství KD a 12 po dárčovství PKB, přičemž zjištěná incidence nepřekročila incidenci v běžné populaci v odpovídající věkové skupině,

a z nepříbuzenských dárců došlo k rozvoji AML pouze u jednoho dárce KD [5]. Mezi 4 015 dárci PKB amerického registru NMDP – National Marrow Donor Program – bylo zaznamenáno 20 případů malignit bez případu leukemie nebo lymfomu [6] a bez incidencí převyšujících běžný výskyt v populaci.

Rozhodli jsme se analyzovat výsledky dispenzarizace a výskyt malignit po odběrech krvetvorných buněk u příbuzenských dárců Hematologicko-onkologického oddělení (HOO) FN Plzeň a porovnat je s nepříbuzenskými dárci Českého národního registru dárců dřeně (ČNRDD).

Metodika a soubor

Analýza dat získaných prospektivně v období 1/2001–12/2010 v rámci dispenzarizace příbuzenských (sourozeneckých) dárců krvetvorných buněk HOO a nepříbuzenských dárců registru ČNRDD.

Odběr krvetvorných buněk všech dárců probíhal v odběrovém centru HOO FN Plzeň vždy po předchozím informovaném souhlasu a lékařském vyšetření dárce a po stanovení jeho způsobilosti a únosnosti k dárčovství a odběru podle platných právních norem ČR [7] a doporučení a standard WMDA – World Marrow Donors Association [8] a JACIE/EBMT – Joint Accreditation Committee-ISCT and European Group for Blood and Marrow Transplantation [9]. Péče o dárce v rámci HOO a ČNRDD a bezpečnost me-

dicínské a laboratorní praxe rovněž odrážely nároky legislativy ČR a požadavky WMDA a JACIE/EBMT.

Kostní dřeň (KD) byla odebrána dárčům v celkové anestezii na chirurgickém operačním sále z lopaty kosti kyčelní v množství nepřekračujícím objem 20 ml kostní dřeně a krve na 1 kg hmotnosti dárce, maximálně však 1 500 ml (předem byl dárčům zajištěn odběr autotransfúze). Periferní krvetvorné buňky (PKB) byly odebírány dárčům leukaferézou z periferní krve cestou dialyzační kanyly zavedené do femorální žíly nebo cestou periferních žil po předchozí stimulaci filgrastimem (Neupogen inj., fa Amgen) v dávce 10 µg/kg/den s.c. po dobu pěti dní před odběrem.

Po odběru byli všichni dárči poučeni o systému poodběrové dispenzarizace ve spolupráci s jednotlivými dárčovskými centry ČNRDD, HOO FN Plzeň nebo se svými praktickými lékaři podle místa bydliště a byli poučeni o vhodnosti dodržení pravidelných kontrol zdravotního stavu v základních intervalech 1 týden, 1 měsíc, 6 měsíců a 1 rok po odběru (dárči KD alespoň v intervalu 6 měsíců a 1 rok). V rámci ČNRDD bylo od roku 2005 doplněno další sledování dárců v intervalu jednoho roku po celkovou dobu 5 let. Původní systém pasivního sledování byl od roku 2003 v ČNRDD a od roku 2008 na HOO nahrazen systémem aktivním, kdy regionální dárčovská centra ČNRDD, respektive transplantační koordinátor HOO, aktivně

Tab. 1. Statistické analýzy efektivity dispenzarizace dárců a věku.

ČNRDD dárci bez dispenzarizace: pasivní vs aktivní sledování dárců	13/43 (42 %) vs 8/317 (3 %)	p < 0,0001
příbuzenská dárci HOO bez dispenzarizace: pasivní vs aktivní sledování dárců	68/105 (65 %) vs 11/34 (32 %)	p = 0,0013
dárci bez dispenzarizace při aktivním sledování: nepříbuzní ČNRDD vs příbuzenská HOO	8/317 (3 %) vs 11/34 (32 %)	p < 0,0001
věk dárců KD vs. PKB, medián:		
ČNRDD	29 (21–42) vs 31 (20–42)	p = 0,775
HOO	34 (16–59) vs 50 (16–75)	p < 0,0001

sledují plánované termíny návštěv a dár-
cům je v případě potřeby připomínají.
Příbuzenským dárčům HOO byl v roce
2009 navíc odeslán specifický dotaz-
ník pro doplnění informací o aktuálním
zdravotním stavu.

Porovnání charakteristik souborů bylo
provedeno s využitím programu Graph-
Pad InStat a byly použity základní sta-
tistické testy Fisher's exact two-tailed
test pro kategoriální data a unpaired
t-test pro data kontinuální. Rozdíly mezi
skupinami byly testovány na hladině vý-
znamnosti 95 % a hodnoty $p < 0,05$ byly
považovány za statisticky významné.

Výsledky

V období 2001–2010 bylo do dispenza-
rizace zařazeno 137 příbuzenských dárců
(45 % žen) HOO FN Plzeň, přičemž dárců
KD bylo 12 s mediánem věku 33 (16–59)
let a dárců PKB bylo 125 s mediánem
věku 50 (16–75) let. Průběh plánované
dispenzarizace nebyl dodržen z důvodu
nezájmu nebo odmítnutí u 7/12 (58 %)
dárců KD a 41/125 (33 %) dárců PKB. Po
doplňujícím přičtení dalších dárců, kteří
ještě navíc odpověděli na retrospektivní
dotazník o zdravotním stavu z roku 2009,
byly údaje o poodběrovém zdravotním
stavu dostupné u 23 dárců KD a 84 dárců
PKB, s celkovým mediánem doby sledo-
vání 6 (1–13) let, což souhrnně odpoví-
dalo hodnotě 199 osobo-let sledování
ve skupině dárců KD a 337 osobo-let
u PKB příbuzenských dárců.

V období 2001–2010 bylo do krátko-
dobé jednoleté dispenzarizace zařazeno
360 dárců ČNRDD (29 % žen), přičemž
dárců KD bylo 172 s mediánem věku
29 (19–54) let a dárců PKB 188 s mediá-
nem věku 31 (19–55) let. Do dlouhodobé

5leté dispenzarizace bylo zařazeno cel-
kem 127 KD a 121 PKB dárců. Dispenza-
rizace nebyla realizována u 6/172 (3,5 %)
dárců KD a 10/188 (5 %) PKB. Celkem
byly údaje o poodběrovém sledování
zdravotního stavu dostupné u 166 KD
a 178 PKB dárců, s celkovým mediánem
doby sledování 3 (1–5) let, což souhrnně
odpovídalo hodnotě sledování 309 oso-
bo-let ve skupině dárců KD a 444 osobo-
let u PKB nepříbuzenských dárců.

Statisticky signifikantně více nedis-
penzarizovaných dárců bylo při původ-
ním pasivním systému poodběrového
sledování dárců ve srovnání s aktuál-
ním systémem aktivním, a to jak v rámci
ČNRDD, tak i HOO. Současně bylo také
statisticky signifikantně více nedispen-
zarizovaných dárců ve skupině příbu-
zenských i při zajištěném aktivním sy-
stému poodběrového sledování. Přesné
údaje jsou pro přehlednost uvedeny
v tab. 1.

Při srovnání příbuzenských vs nepří-
buzenských dárců registru byl statis-
ticky významný rozdíl v mediánu věku
[48 (16–75) vs 31 (20–42) let, $p < 0,0001$]
a také v zastoupení žen dárkyň (45 % vs
29 %, $p < 0,0001$).

Ve skupině nepříbuzenských dárců
ČNRDD nebyl během sledování zasti-
žen žádný rozvoj malignity kromě pří-
padu dárce KD, u kterého došlo za šest
let po odběru k manifestaci chronické
lymfocytární leukemie (CLL), přičemž
retrospektivní analýzou DNA byla pro-
kázána přítomnost populace klonu
CLL ve vzorcích krve dárce již v období
před odběrem kostní dřeně (P. Jindra –
osobní sdělení), a tento případ nelze
tedy dávat do souvislosti s dárčovstvím.
Žádná malignita nebyla pozorována ani

v malé skupině 23 příbuzenských dárců
KD.

Ve skupině 84 příbuzenských PKB
dárců, respektive 337 osobo-let sledo-
vání s mediánem věku 50 (16–75) let byl
zastižen případ AML, non-hodgkinského
lymfomu (periferní T-lymfom), karci-
nomu ledviny a kolorekta. Korespon-
dující incidence dvou hematologických
malignit v této skupině dárců vztažená
na 100 000 osobo-let byla 593 případů,
přičemž očekávaná incidence (současně
onemocnění AML a non-hodgkinského
lymfomu) je 143/100 000 v bělošské po-
pulaci věku 20–75 let podle údajů Natio-
nal Cancer Institute registru SEER [10].
Bližší údaje o hematologických maligni-
tách, příbuzenském dárce a příjemci jsou
uvedeny v tab. 2, přesnější klinicko-pa-
tologické údaje o dvou výše uvedených
nehematologických malignitách nejsou
k dispozici s ohledem na retrospektivní
a dotazníkový charakter informace o je-
jich výskytu.

Diskuze

V souvislosti s používáním filgrastimu –
růstového faktoru granulopoézy (G-CSF,
granulocyte colony-stimulating fac-
tor, Neupogen®) – se objevují polemiky
o potenciálním riziku rozvoje hemato-
logických malignit. Dosavadní pozorování
dokládají výskyt hematologických i ne-
hematologických nádorových onemoc-
nění jak u dárců PKB, tak i KD, přičemž
zřetelně více u dárců příbuzenských,
nicméně bez prokazatelné souvislosti
s vlastním aktem dárčovství, respektive
s aplikací filgrastimu v rámci přípravy
k odběru PKB [4–6]. Za bezpečné je po-
važováno také podávání filgrastimu při
mobilizaci krvetvorných buněk periferní

Tab. 2. Hematologické malignity, dárci a příjemci.

Dárce	Malignita	Příjemce	Poznámky
P. V. 1945, muž, 58 let	2 roky po odběru PKB: AML s víceliniovou dysplazií, s parciální tandemovou duplikací MLL genu, t(11;17) pozitivní, rezistentní na indukční chemoterapii ("7+3": arabinosid, idarubicin). Nyní žije 3 roky po nepřibuzenské alogenní transplantaci PKB, dobrá kvalita života, AML v kompletní remisi.	sestra, C. R. 1939, 66 let, polycytemia vera v blastické transformaci Zemřela na infekční komplikace 2 měsíce po transplantaci.	Parciální tandemová duplikace MLL genu (MLL-PTD) retrospektivně prokázána ve vzorku krve dárce sestry před transplantací. Vzorky krve dárce k retrospektivní detekci MLL-PTD v době dárčovství již nebyly k dispozici.
J. F. 1948, muž, 60 let	7 let po odběru PKB: periferní T-lymfom, klin. st. IV.B (kostní dřeň, játra, uzliny, hydrothorax a ascites), rezistentní na indukční chemoterapii CHOP-21 Zemřel během „salvage“ chemoterapie na infekční komplikace a intrakraniální krvácení.	bratr, J. F. 1945, 56 let, chronická myeloidní leukemie, akcelerovaná fáze Zemřel na infekční komplikace 3 měsíce po transplantaci.	–

krve přímo u pacientů s akutní myeloidní leukemií [11].

Provedli jsme analýzu nepřibuzenských dárců z registru ČNRDD a dárců příbuzenských (sourozeneckých) z našeho pracoviště HOO FN Plzeň. Výsledky sledování je však nutné interpretovat s přihlédnutím k několika zásadním okolnostem. Soubory dárců jsou především poměrně malé a v případě dárců příbuzenských byla významná nedostupnost v poodběrovém sledování. Ve srovnání s výsledky ČNRDD je patrné, že i přes zavedení aktivního systému sledování na HOO je účast příbuzenských dárců na poodběrovém sledování značně problematická a zatížená jejich nechtů spolupracovat, převážně z psycho-sociálních důvodů, které bude vhodné samostatně sledovat a vyhodnotit.

Dalším významným faktorem, který přispívá ke zvýšenému výskytu malignit ve skupině příbuzenských dárců, je jistě také jejich vyšší věk, který souvisí s vyšším věkem jejich transplantovaných sourozenců a preferencí štěpů PKB v léčbě těchto starších pacientů, kde jsou intenzivní předtransplantační přípravné režimy nahrazeny režimy s redukovanou toxicitou (např. protokol Flu/Mel s fludarabinem a melfalanem). Přirozeně lze očekávat, že ve starší věkové skupině dárců bude i vyšší zachyt případných malignit, jak dokládají analýzy dat onkologických registrů [10,16] a českého registru akutních leukemií ALERT [12], kde

je incidence akutních leukemií ve starší populaci několikanásobná ve srovnání s mladými jedinci. Při hodnocení výsledků našeho pozorování je nutné přihlédnout také k faktu, že sourozenci pacientů s hematologickými malignitami mají rovněž 2–5násobně vyšší riziko rozvoje stejného onemocnění než běžná populace [13–15], což by nejspíše odpovídalo i poměru námi zjištěné incidence s údaji očekávané incidence v populaci (593 vs 143/100 000).

Závěr

Výskyt hematologických a nehematologických malignit u dárců krevetvorných buněk lze přirozeně předpokládat s tím, že u příbuzenských dárců je riziko onemocnění vyšší s ohledem na jejich obecně vyšší věk a současně i fakt určité genetické rodinné zátěže. Vliv filgrastimu na vývoj hematologických malignit vyžaduje další analýzy, pro které bude nutné zajistit aktivní sledování na velmi početných skupinách dárců KD a PKB, příbuzenských i nepřibuzenských. K naplnění tohoto cíle bude potřebná mezinárodní spolupráce, prospektivní definované sledování a dlouhodobá dispenzarizace dárců, která je však zřetelně zatížena omezenou spoluprací ze strany příbuzenských dárců.

Poděkování

Dárcovská centra Českého národního registru dárců dřeně: Transfuzní oddě-

lení a krevní banka FN Brno, Transfuzní oddělení nemocnice České Budějovice, Transfuzní oddělení FN Hradec Králové, Transfuzní oddělení nemocnice Liberec, Transfuzní oddělení nemocnice Most, Imunologický ústav FN a LF UP Olomouc, Transfuzní oddělení Ostrava, Hematologicko-onkologické oddělení Plzeň, Oddělení hematologie, biochemie a krevní transfuze ÚVN Střešovice Praha, Transfuzní oddělení Masarykovy nemocnice Ústí nad Labem.

Literatura

- Kaplinsky C, Trakhtenbrot L, Hardan I et al. Tetraploid myeloid cells in donors of peripheral blood stem cells treated with rhG-CSF. *Bone Marrow Transplant* 2003; 32(1): 31–34.
- Nagler A, Korenstein-Ilan A, Amiel A et al. Granulocyte colony-stimulating factor generates epigenetic and genetic alterations in lymphocytes of normal volunteer donors of stem cells. *Exp Hematol* 2004; 32(1): 122–130.
- Marmier-Savet C, Larosa F, Legrand F et al. G-CSF-induced aneuploidy does not affect CD34+ cells and does not require cell division. *Blood* 2010; 115(4): 910–911.
- Bennett CL, Evens AM, Andritsos LA et al. Haematological malignancies developing in previously healthy individuals who received haematopoietic growth factors: report from the Research on Adverse Drug Events and Reports (RADAR) project. *Br J Haematol* 2006; 135(5): 642–650.
- Halter J, Kodera Y, Ispizua AU et al. Severe events in donors after allogeneic hematopoietic stem cell donation. *Haematologica* 2009; 94(1): 94–101.
- Confer DL, Miller JP. Long-term safety of filgrastim (rhG-CSF) administration. *Br J Haematol* 2007; 137(1): 77–78.
- Nařízení vlády, kterým se provádí zákon č. 285/2002 Sb., o darování, odběrech a transplantacích tkání a orgánů a o změně některých zákonů (transplantační zákon), č. 436/2002 Sb. a Vyhláška Ministerstva zdravotnictví, kterou se stanoví bližší podmínky posuzování zdravotní způsobilosti a rozsah vyšetření žijícího nebo zemřelého

dárce tkání nebo orgánů pro účely transplantací (vyhláška o zdravotní způsobilosti dárce tkání a orgánů pro účely transplantací), č. 437/2002 Sb.

8. The World Marrow Donor Association (WMDA). Worldmarrow.org. Last update: 2011 June 06, cited 2011 June 23. Available from: <http://www.worldmarrow.org/>.

9. The Joint Accreditation Committee-ISCT (Europe) & EBMT (JACIE-EBMT). Jacie.org. Last update: 2011 June 22, cited 2011 June 25. Available from: <http://www.jacie.org/>.

10. The Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program of the National Cancer Institute, Cancer

statistics, Database: Incidence – SEER 17 (2000–2008). Last update 2011 May 5, cited 2011 June 16. Available from: <http://www.seer.cancer.gov/>.

11. Doubek M, Mayer J. Filgrastim a akutní myeloidní leukemie. Klin Onkol 2003; 16(4): 161–167.

12. Indrák K, Papájk T, Faber E et al. Kritická analýza dat o akutních a chronických leukémiích v Národním onkologickém registru České republiky. Klin Onkol 2007; 20 (Suppl 1): 132–141.

13. Pottern LM, Linet M, Blair A et al. Familial cancers associated with subtypes of leukemia and non-Hodgkin's lymphoma. Leuk Res 1991; 15(5): 305–314.

14. Segel GB, Lichtman MA. Familial (inherited) leukemia, lymphoma, and myeloma: an overview. Blood Cells Mol Dis 2004; 32(1): 246–261.

15. Wang SS, Slager SL, Brennan P et al. Family history of hematopoietic malignancies and risk of non-Hodgkin lymphoma (NHL): a pooled analysis of 10 211 cases and 11 905 controls from the International Lymphoma Epidemiology Consortium (InterLymph). Blood 2007; 109(8): 3479–3488.

16. Dušek L, Mužík J, Gelnarová E et al. Incidence a mortalita nádorových onemocnění v České republice. Klin Onkol 2010; 23(5): 311–324.

Šestileté sledování pacienta s mnohočetnou angiomatózou postihující skelet, břišní i hrudní dutinu a stěnu trávicí trubice

Six-year Follow-up of a Patient with Multiple Angiomas Involving Skeleton, Thoracic and Abdominal Cavities and the Gut Wall

Adam Z.¹, Matýšková M.¹, Tomáška M.¹, Řehák Z.², Koukalová R.², Křikavová L.³, Pour L.¹, Krejčí M.¹, Szturz P.¹, Zahradová L.¹, Mechl M.³, Moulis M.⁴, Vaníček J.⁵, Neuman Č.⁶, Navrátil M.¹, Veselý K.⁷, Hájek R.¹, Mayer J.¹

¹ Interní hematologická klinika, LF MU a FN Brno

² PET CT oddělení, Masarykův onkologický ústav, Brno

³ Radiologická klinika, LF MU a FN Brno

⁴ Ústav patologické anatomie, LF MU a FN Brno

⁵ Klinika zobrazovacích metod, LF MU a FN u sv. Anny Brno

⁶ Chirurgická klinika, LF MU a FN Brno

⁷ I. patologicko-anatomický ústav, LF MU a FN u sv. Anny Brno

Souhrn

Východiska: Mnohočetná angiomatóza je raritní onemocnění s postižením více orgánů a tkání angiomatózními útvary s rizikem smrtelného krvácení. **Popis případu:** V popisovaném případě byly postiženy kosti, pleurální i peritoneální dutina a trávicí trubice. Pacient dlouhodobě dostává zoledronát, již po druhé dávce zoledronátu vymizely bolesti kostní. Účinnost antiangiogenních léků jsme hodnotili dle CT a MRI zobrazení. Protože angiomatózní proliferace je spojena s chronickou diseminovanou intravaskulární koagulací (DIC) a anemizací, hodnotíme léčebnou odpověď také dle krevního obrazu a dle koncentrace fibrinogenu, D-dimerů a průkazu solubilních fibrinových monomerů. **Výsledky:** Před léčbou byly hodnoty D-dimerů vyšší než 20 µg/ml, fibrinogen 1,4 g/l a byly přítomné solubilní fibrinové monomery. Při léčbě interferonem alfa 6 mil. j. 3× týdně s redukcí dávky po 10 měsících se zvýšil medián koncentrace fibrinogenu na 1,5 (1,2–2,0) g/l, poklesl medián hodnoty D-dimerů na 17,2 (13,4–20,0) µg/ml, stále byly přítomné fibrinové monomery. Při terapii thalidomidem (100 mg/den) poklesl medián D-dimerů na 6,07 (4,71–10,21) µg/ml a zvýšil se medián hodnoty fibrinogenu na 1,9 g/l, solubilní fibrinové monomery nebyly průkazné. Dle CT zobrazení se výrazně zmenšily angiomatózní masy. Progredující neuropatie byla důvodem pro snížení dávky thalidomidu na 50 mg/den, při níž se ale zvýšily D-dimery. Při podávání lenalidomidu 10 mg/den se zvýšil medián koncentrace D-dimerů na 10,8 (8,8–17,35) µg/ml a poklesla hodnota hemoglobinu na medián 124 (117–135) g/l. Opět byl pozitivní průkaz solubilních fibrinových monomerů. Při léčbě kombinací thalidomidu (50 mg denně) a lenalidomidu (10 mg 1.–21. den ve 28denních cyklech) byl pacient stabilní po dobu 9 měsíců. Medián koncentrace hemoglobinu se zvýšil na 131 (84–141) g/l a snížil se medián hodnoty D-dimerů na 9,3 (8,0–17) µg/ml. **Závěr:** Thalidomid 100 mg/den stabilizoval mnohočetnou angiomatózu lépe než interferon alfa. Thalidomid 50 mg/den již neudržel stabilitu nemoci. Lenalidomid v dávce 10 mg byl excelentně tolerován, ale tato dávka nedostačovala pro udržení stabilně nízkých hodnot D-dimerů a normální koncentrace hemoglobinu. Kombinace lenalidomidu v dávce 10 mg a thalidomidu v dávce 50 mg stabilizovala stav po dobu 9 měsíců. Při použití thalidomidu a lenalidomidu se sčítá antiangiogenní účinek. Díky odlišnosti nežádoucích účinků obou léků je tolerance této kombinace dobrá.

Klíčová slova

angiomatosis – zoledronát – thalidomid – interferon alfa – lenalidomid – diseminovaná intravaskulární koagulace

Tato publikace vznikla v rámci aktivit následujících grantů: grantu IGA ČR NT 12215-4 a dále pak grantů MŠMT MSM0021622434, LC06027 a grantů IGA MZd ČR NT11154, NT12130, NT12215, NS10408 a výzkumného záměru MZd ČR FUNDIN MZ0M0U2005.

This publication was prepared as a part of the Internal Grant Agency of the CR grants NT 12215-4, the Ministry of Education, Youth and Sports of the CR grants MSM0021622434, LC06027 and the Ministry of Health of the Czech Republic's Internal Grant Agency grants IGA MZd ČR NT11154, NT12130, NT12215, NS10408 and research programme FUNDIN MZ0M0U2005.

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

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

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

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



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

Obdrženo/Submitted: 29. 11. 2010

Přijato/Accepted: 3. 7. 2011

Summary

Backgrounds: Multiple angiomatosis is a rare disease causing angiomatous lesions in multiple organs and tissues with a risk of life-threatening haemorrhage. **Observation:** A young man was diagnosed with multiple angiomatosis at the age of 28 after two years of back and abdominal pain. Laparotomy revealed multiple spongy lesions mostly within the retroperitoneal space. Also, an involvement of the gut wall, bones and mediastinum was evident. After 6 years of treatment, the disease has been stabilized. Bone pain ceased with a significant contribution of zoledronate. Using CT and MR imaging, the effectiveness of antiangiogenic drugs was evaluated. Furthermore, treatment response was evaluated using laboratory values for coagulation and blood count, as angiomatous proliferation is known to be associated with disseminated intravascular coagulation and anaemia. **Results:** Baseline laboratory examination revealed elevated D-dimer (more than 20 µg/mL), low fibrinogen (1.4 g/L), and the presence of fibrin monomers. After treatment with 6 mil. IU of interferon-alpha thrice weekly, there was only partial improvement in D-dimer (17.2 µg/mL) and fibrinogen (1.5 g/L) concentrations but fibrin monomers remained positive. After thalidomide (100 mg daily), D-dimer decreased to 6.1 µg/mL and fibrinogen levels increased to 1.9 g/L with the disappearance of fibrin monomers. CT scanning showed significant regression of angiomatous lesions. Progressive neuropathy was the reason to lower the dose of thalidomide by half and this caused D-dimer to rise again. Switching to lenalidomide 10 mg daily led to an increase in D-dimer to 10.8 µg/mL and decrease in haemoglobin concentration to 124 g/L. Fibrin monomers became positive again. Combined therapy with thalidomide (50 mg/day) and lenalidomide (10 mg days 1–21 in 28-day cycles) has led to stabilisation of the disease. Median concentration of haemoglobin increased to 131 (84–141) g/L. The median of D-dimer decreased to 9.3 (8.0–17) µg/mL. **Conclusion:** Thalidomide in the dose of 100 mg daily led to better stabilisation of the disease than interferon-alpha. However, lowering the dose because of adverse effects failed to be effective sufficiently. Lenalidomide 10 mg daily was well-tolerated but insufficient to improve D-dimer and haemoglobin concentrations. Therefore, for further treatment we have decided to use the combination of lenalidomide and thalidomide in doses of 10 mg and 50 mg, respectively because both drugs have desirable antiangiogenic activities with different adverse effect profiles. On this therapy, the patient's disease has been stable for 9 months.

Key words

angiomatosis – zoledronate – thalidomide – interferon alpha – lenalidomide – disseminated intravascular coagulation

Úvod

Vaskulární neoplazie zahrnují heterogenní skupinu cévních proliferací skládajících se z endoteliálních buněk, hladké svaloviny a pericytů, které dohromady vytvářejí ložiska arteriálních, kapilárních, venózních nebo lymfatických cest, tak jak je uvádí tab. 1. Do skupiny s agresivnějším chováním patří vzácné případy takzvané angiomatózy, což je klinický i patologicko-anatomický termín pro velké neohraničené a někdy i vícečetné hemangiomy tvořící cévní tumory, které prorůstají orgány a tkáněmi a postupně progredují. Ačkoliv gastrointestinální angiomatóza je obvykle benigní, přesto může být příčinou náhlého úmrtí způsobeného nezastavitelným krvácením nebo střevní obstrukcí.

Následujícím popisem případu chceme upozornit na tyto vzácné a obtížně diagnostikovatelné případy. Symptomy angiomatózy lze přirovnat k chameleonovi, neboť se liší dle toho, který orgán je postižen. Relativně konstantním příznakem provázejícím angiomatózu většího rozsahu je chronická stabilní diseminovaná intravaskulární koagulace s nízkou koncentrací fibrinogenu, zvýšenými D-dimery a případně s protaženými koagulačními časy a sní-

ženým počtem trombocytů, obvykle bez zřetelných krvácivých projevů. Pokud tento typ koagulopatie zjistíme, je nutno v první radě pomýšlet na cévní neoplazie.

Popis případu

Klinický průběh a výsledky vyšetření

S mnohočetnou angiomatózou jsme se setkali u mladého muže, narozeného roku 1977. Stručně shrneme jeho anamnézu: V osmi letech prodělal nekomplikovanou apendektomii. V roce 1992 (15 let) vznikla náhle hydrokéla ve varleti vlevo a o rok později vpravo, řešena chirurgicky. Pak se mu vedlo opět dobře. První problémy související s angiomatózou se objevily v dubnu 2003 (26 let). Začal pociťovat bolesti v bederní páteři, zprvu jen při námaze, později i v klidu. Původ bolestí byl zprvu vysvětlován sportem, byly provedeny „opichy“ a rehabilitační léčba, vše bez efektu. Když se tato obvyklá léčba bolestí zad minula účinkem, byl odeslán na rentgenový snímek páteře, na němž byl abnormální nález hodnocený jako kostní dysplazie nebo Pagetova choroba. A s tímto podezřením, plynoucím z rentgenového snímku, byl poslán na ortopedickou kliniku. V roce 2003 vyslovili radiodiagnos-

tici na základě MRI páteře podezření na vícečetnou kostní formu angiomatózy (obr. 1–3). Bylo to poprvé, kdy se v dokumentaci nemocného objevil termín angiomatóza. Pro nejasný obraz na snímku páteře a pánve byla provedena první excize a histologické vyšetření kosti, bez jasného závěru. S cílem ověřit toto podezření byla provedena v říjnu 2003 angiografie tepen v oblasti pánve, která neprokázala nic patologického, a nepotvrdila tedy podezření plynoucí z MRI obrazu skeletu.

V prosinci 2003 byla provedena punkce pánve pod CT kontrolou ze suspektního ložiska, bez jednoznačného diagnostického závěru. Nejasné kostní postižení, které způsobovalo bolesti, zůstávalo pořád bez jasného pojmenování.

V únoru 2004 provedli ortopedové další excizi z lopaty kosti kyčelní. Výsledek histologie byl zavádějící, vzorek byl hodnocen jako fibróza kostní dřeni, a vzniklo tak podezření na primární myelofibrózu.

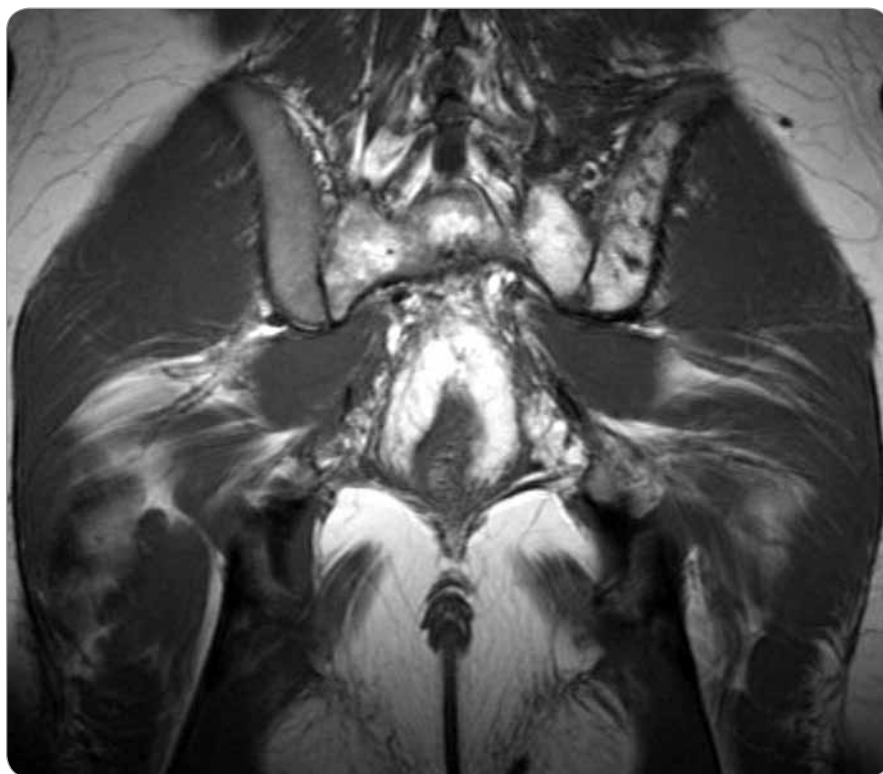
Vyslovené podezření na myelofibrózu bylo důvodem, proč byl pacient poslán na Interní hematologickou kliniku v Brně. V březnu 2004 byla provedena standardní vyšetření prováděná pro diagnostiku myelofibrózy, která však



Obr. 1. T2 vážený obraz, sagitální obraz bederní páteře. V oblasti obratlových těl je patrná nehomogenně skvrnitá struktura s převažujícím vyšším signálem, který svědčí pro patologickou infiltraci kostní dřeně.



Obr. 2. T1 vážený obraz, sagitální obraz bederní páteře. Nehomogenní signál z kostní dřeně obratlových těl s převažujícími okrsky nízkých intenzit ve srovnání s intenzitami meziobratlových plotének, které svědčí pro abnormální strukturu kostní dřeně. Páteřní kanál je volný.



Obr. 3. T2 vážený obraz, koronární obraz sakroiliakálního skloubení. Patrná je infiltrace kosti křížové (nehomogenně zvýšený signál) a dále též ilické kosti přilehlé sakroiliakálnímu skloubení vlevo.

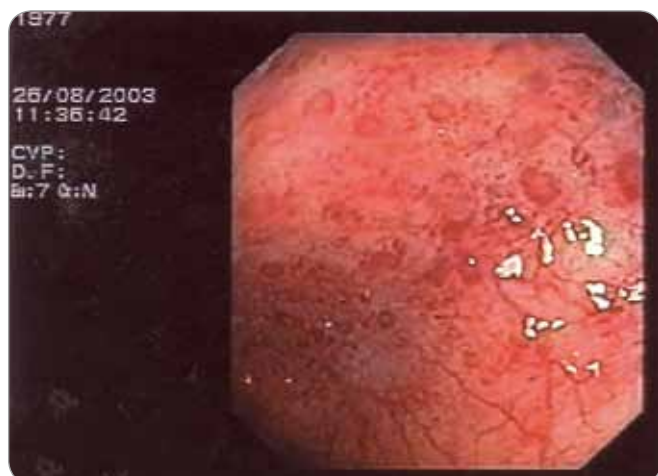
tuto nemoc nepotvrdila. Hodnoty krevního obrazu, koagulace a fibrinogenu byly zcela v normě. Aspirační hodnocení kostní dřeně ze sternální punkce (myelogram) bylo bez patologie. Hematologické vyšetření bylo ukončeno v květnu 2004 se závěrem: „myelofibróza ani jiné krevní onemocnění nepotvrzeno“.

Vzhledem k tomu, že současně s bolestmi v zádech se objevily nespecifické tlakové bolesti v oblasti břišní dutiny, začal mladý muž docházet na gastroenterologické pracoviště. Byly provedeny opakované kolonoskopie, první 20. 5. 2003. V oblasti levého tračníku byly patrné červené makuly s centrálním projasněním. V terminálním ileu pouze nodulární hyperplazie. První histologie při kolonoskopii byla odebrána v roce 2003. Závěr zněl: Mírná folikulární lymfoidní hyperplazie s lehce nadlimítní zánětlivou celulizací. Dále provedena gastrokopie bez jasně patologického makroskopického a mikroskopického nálezu. Nález na střevě přináší obr. 4 a 5.

Počátkem roku 2005 došlo ke zhoršení zdravotního stavu, bolesti v zádech se zhoršovaly, objevily se otoky nohou a sideropenická anémie.

V květnu 2005 byl přijat na naše pracoviště se závažnou anémií vyžadující transfuze. Dalším překvapivým nálezem byla hypoproteinemie. Okultní krvácení nebylo potvrzeno, vstřebávací křivka železa byla normální, a tak začala léčba preparáty železa. Proteinurie nebyla potvrzena, a proto se předpokládaly ztráty bílkovin zažívacím traktem. Opakovala se kolonoskopie se závěrem: „Obraz lehké nodulární hyperplazie na céku, v colon descendens pod lienální flexurou byl popsán okrsek skvrnité hyperemie o průměru 3 cm. V sigmoideu drobná aftózní ložiska s hyperemickým lemem. Histologicky opět nespecifické změny.“

Pro nejasný stav byla v květnu 2005 odebrána uzlina z třísla. Ta však nevysvětlnila nejasný nález na CT břišní dutiny z května 2005 (obr. 6, 7, 12, 13), a proto byla v květnu 2005 provedena laparotomie. Po otevření dutiny břišní byl překvapující nález velkých heman-
giomatózních uzlů v oblasti mezenteria a retroperitonea. Potíže nemocného shrnuje tab. 1.



Obr. 4. Nález na střevě při kolonoskopii.



Obr. 5. Nález na střevě při kolonoskopii.

Tab. 1. Příznaky angiomatózy u popisovaného pacienta.

příznaky hemangiomatózy	jasná či pravděpodobná příčina potíží
bolesti v bederní páteři	narušení struktury obratle hemangiomatózní hmotou
nespecifické bolesti dutiny břišní	angiomatózní hmoty v dutině břišní a ve stěně žaludku a střev
sideropenická anémie	ztráty krve krvácejícími angiomatózními útvary ve střevě
hypoproteinemie	zřejmě ztráty bílkovin angiomatózními útvary ve střevě

Operační nález z probatorní laparotomie

Peritoneální dutina bez výpotku. Revize tenkých kliček: asi do poloviny orálního jejunu patrná atypická struktura, zesílená granulovaná stěna, další tenké střevo normálního charakteru. Provedena enterotomie a odběr stěny v celé síle na histologii. Mezenterium příslušné takto změněnému střevu je zesílené, hmatné uzliny a houbovitá tkáň s dilatovanými cévami.

Revize podjaterní krajiny: celá stěna žlučníku prorostlá vaskulární tkání, ligamentum hepatoduodenale infiltrované, patrná dilatovaná cévní pletěň. Játra palpačně i vizuálně bez patologií, slezina normální velikosti a struktury.

Maximum změn nacházíme v retroperitoneu, z něhož se vyklenuje tkáň houbovitě struktury, ze které prosvítají uzly charakteru hemangiomů a procházející cévy průměru 0,5–1,0 cm. Tyto změny sestupují až k ilickým svazkům. Dále je jimi prostoupeno téměř celé mesokolon. Volný úsek jen od hepatické flexury do poloviny příčného tračníku. Směrem k lienální flexuře cévní změny patrné i při okraji střeva. Meso-

sigma již celé prostoupené, nedovoluje manipulaci se střevem, ale přesto patrné cévní malformace i na stěně břišní směrem k lopatě kosti kyčelní. Za vzestupným tračníkem hmatná stejná tkáň jako v retroperitoneu.

Žaludek bez výraznějších patologií, v oblasti pyloru až k duodenu začínají obdobné patologické změny s dilatovanými žilami. Nad žaludkem v retroperitoneu stejný nález angiomatózy. Odběr histologie z retroperitonea hrozí exsanguinací, a proto neproveden. Odebrána část tkáně, adheze mezi žlučníkem a duodenem, kterým probíhá dilatovaná céva. Dále na stěně pyloru zvoleno jedno místo s dilatovanou cévou a mezi stehy byla provedena excize. Došlo k masivnímu arteriálnímu krvácení. Stavěno prošívací stehy žaludku. Od dalších odběrů ustoupeno, kontrola hemostázy, drén k pyloru, sutura laparotomie. Operační diagnóza: angiomatosis retroperitonei, vesicae feleae a mesocoli.

Shrnutí všech biopsických vyšetření

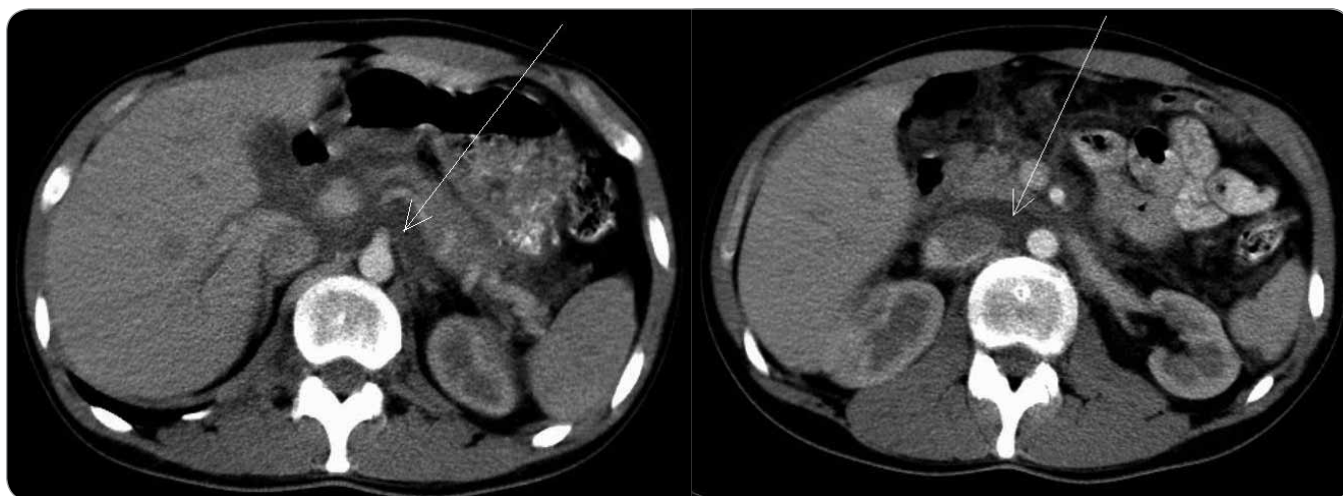
U daného pacienta byla histologicky vyšetřena excize stěny žaludku s přiléhajícími měkkými tkáněmi, provedena

biopsie levé kosti kyčelní, biopsie tříselné uzliny, opakovaně trepanobiopsie z kosti kyčelní a opakovaně mikroexcize ze sliznice duodena.

Diagnostická byla excize stěny žaludku, provedená při explorativní laparotomii. Histologicky nalezena vaskulární proliferace postihující stěnu žaludku a přiléhající měkké tkáně. Ložisko bylo tvořeno spleť krevních cév různého charakteru a kalibru: cévy byly venózního nebo kapilárního typu, přítomny i kavernózní prostory, vše náhodně roztroušené. Ojedinele zastiženy byly také typické klastry malých cév, radiálně vycházejících z centrálně lokalizované větší žíly. V korelaci s klinickým nálezem byla stanovena diagnóza angiomatózy.

Stejná vaskulární proliferace byla zjištěna i v oblasti intertrabekulárních prostorů spongiózní kosti, získané biopsií levé kosti kyčelní. V této lokalizaci byla proliferace provázena sekundární myelofibrózou.

V tříselné uzlině nalezena jako následek cirkulačních změn tzv. vaskulární transformace sinusů, morfologicky neodlišitelná od angiomatózy.



Obr. 6, 7. CT vyšetření břicha po intravenózní aplikaci jodové kontrastní látky ze dne 9. 5. 2005 – před zahájením léčby. Šipka ukazuje na patologickou infiltraci v retroperitoneu, která je hypodenzní a postkontrastně se nesytí.

V opakovaných trepanobiopsiích z kosti kyčelní a v opakovaných mikroexcizích sliznice duodena nebyly nalezeny žádné patognomické změny ve vztahu k angiomatóze.

Léčba

Vstupní CT obraz před léčbou dokumentují obr. 6, 7, 12, 13. Ta byla zahájena 23. června 2005 interferonem alfa (Introna) a zoledronátem (Zometa). Pacient má po celou dobu normální funkci ledvin, takže nebylo nutné podle ní upravovat dávky léků.

Zoledronát

Indikací pro léčbu zoledronátem byly osteolytické destrukce kostí způsobené

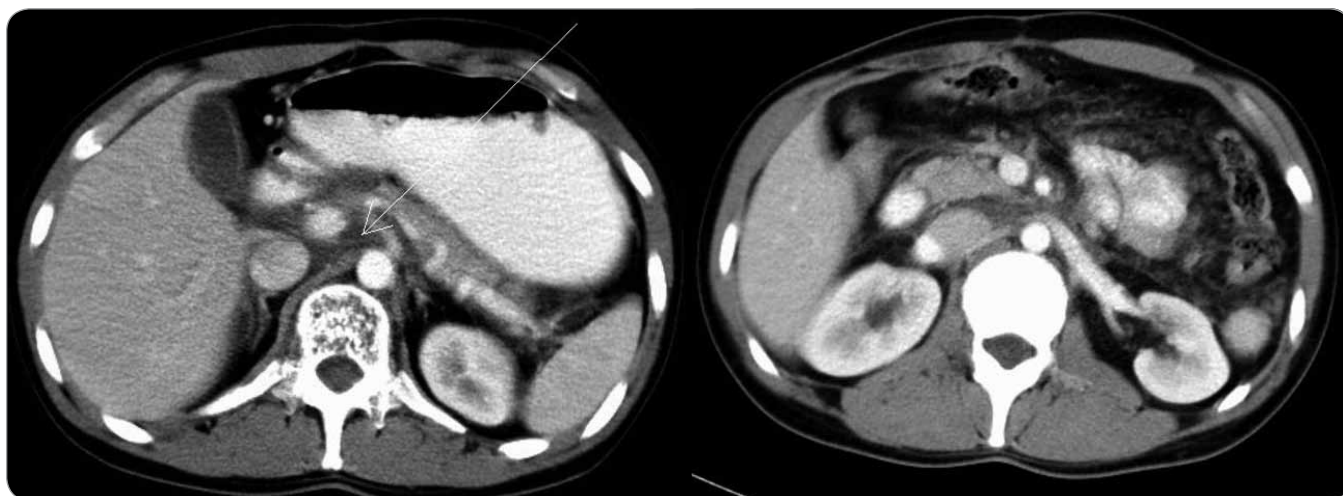
angiomatózními hmotami. Zoledronát byl po celou dobu podáván ve standardní dávce 4 mg nitrožilní infuzí v intervalech 28 týdnů po dobu prvních čtyř let. Od pátého roku jsme změnilí dávkování na 1× za 2 měsíce. Bolesti kostí vymizely po 2 měsících léčby zoledronátem a po dobu 5 let jsme nepozorovali žádné nežádoucí účinky zoledronátu.

Interferon alfa

Interferon alfa (Introna) byl zpočátku podáván v dávce 6 milionů jednotek 3× týdně. Po prvních potížích byla tato dávka interferonu alfa tolerována po několik měsíců relativně dobře, ale s postupem času se intenzita nežádoucích účinků (nechuť k jídlu, fatigue, deprese)

zintenzivnila natolik, že po 10 měsících bylo nutné dávku interferonu alfa snížit na 3 miliony jednotek 3× týdně. Tuto dávku interferonu nemocný snášel zpočátku dobře, ale s postupem času se i tato dávka ukázala jako problematická a zatěžující (tab. 2).

V průběhu léčby, v září 2005, se objevila život ohrožující hematemeza. Mladý muž byl přijat na jednotku intenzivní péče. Konzervativní léčba nevedla k zastavení krvácení, proto bylo přistoupeno k angiografii a embolizaci žaludeční tepny. První MRI vyšetření mediastina bylo provedeno 26. 8. 2005 (obr. 14, 15) a první kontrolní CT vyšetření dne 17. 10. 2005 s nálezem mírné regrese patologické infiltrace (obr. 8, 9).



Obr. 8, 9. CT vyšetření břicha po intravenózní aplikaci jodové kontrastní látky ze dne 17. 10. 2005 – po zahájení léčby. Patrna je regrese retroperitoneální infiltrace (šipka), která se zmenšila z hlediska objemu, její denzity však zůstávají nezměněné.

Tab. 2. Hodnoty koagulačních parametrů a krevního obrazu před léčbou a v průběhu léčby.

Datum	Léčba	Fbg g/l	D-dim µg/ml	EGT	Hb g/l	Tromb x 10 ⁹ /l	Leu x 10 ⁹ /l
23. 5. 2005	před léčbou	1,6	> 20	poz	145	183	5,4
28. 5. 2005	před léčbou	1,3	> 20	poz	139	167	5,4
23. 6. 2005	start léčby INF alfa 6 mil j 3× týdně	1,6	> 20	N	145	183	8,2
17. 9. 2005	INF alfa 6 mil. j. 3× týdně	1,2	13	poz	137	186	6,1
18. 10. 2005	INF alfa 6 mil. j. 3× týdně	2,0	13,24	poz	126	303	9,35
24. 11. 2005	INF alfa 6 mil. j. 3× týdně	1,7	18,00	N	132	226	4,25
20. 12. 2005	INF alfa 6 mil. j. 3× týdně	1,6	18,00	N	128	199	6,46
14. 2. 2006	INF alfa 6 mil. j. 3× týdně	1,5	17,92	N	123	174	5,60
11. 4. 2006	pro hubnutí redukce INF alfa na 3 mil. j.	1,3	N	N	119	154	6,70
9. 5. 2006	INF alfa 3 mil. j. 3× týdně	1,4	N	N	136	175	6,20
8. 6. 2006	INF alfa 3 mil. j. 3× týdně	1,3	N	N	138	148	7,20
13. 6. 2006	INF alfa 3 mil. j.+ MYRIN 100 mg						
24. 6. 2006	INF alfa 3 mil. j.+ MYRIN 100 mg	1,7	13,66	N	130	124	8,60
27. 7. 2006	INF alfa 3 mil. j.+ MYRIN 100 mg	2,0	7,75	N	131	130	6,48
3. 11. 2006	INF alfa 3 mil. j.+ MYRIN 100 mg	2,0	11,70	N	132	184	8,03
12. 2006	léčba přerušena na žádost pacienta						
14. 8. 2007	krvácení z GIT, opět navrácen MYRIN 100 mg + INF alfa 3 mil. j. 3× týdně	1,3	9,23	poz	87	191	6,9
6. 3. 2008	interf. + Myrin 100 mg	1,67	13,52	N	133	125	5,95
2. 4. 2008	interf. + Myrin 100 mg	1,59	10,45	N	139	130	6,07
27. 5. 2008	interf. + Myrin 100 mg	1,86	12,98	N	134	157	5,8
26. 6. 2008		1,81	11,00	N	128	124	4,86
15. 7. 2008	INF alfa , Myrin ex pro neuropatii						
7. 8. 2008	INF alfa	1,68	15,30		121	175	4,74
28. 8. 2008	INF alfa	1,66	12,54	N	137	134	6,14
18. 9. 2008	INF alfa ex (fatigue) start Myrin 100 mg	1,8	10,21		134	143	4,92
1. 10. 2008	Myrin 100 mg/den	2,0	10,12	N	137	177	6,84
16. 10. 2008	Myrin 100 mg/den	1,9	8,07	N	140	178	7,27
13. 11. 2008	Myrin 100 mg/den	2,1	7,67	N	140	184	9,09
18. 12. 2008	Myrin 100 mg/den	1,8	6,07	N	144	151	8,39
29. 1. 2009	Myrin 100 mg/den	1,8	7,68	N	147	264	10,30
5. 3. 2009	Myrin 100 mg/den	2,0	5,2	N	146	186	8,63
9. 4. 2009		2,0	4,86	N	144	185	7,57
14. 5. 2009	Myrin 100 mg/den	2,0	4,84	N	144	204	8,94
11. 6. 2009	Myrin 100 mg/den	2,0	5,36	N	152	202	7,48
23. 7. 2009	Myrin 100 mg/den	2,2	7,08	N	145	180	5,90
27. 8. 2009	Myrin 100 mg/den	1,8	4,71	N	148	213	6,53
Dnem 27. 8. 2009 změna na léčbu INF 3 mil. j. 3× týdně (důvod ke změně neuropatie).							
24. 9. 2009	INF alfa 3 mil. j.	1,8	6,0	N	148	196	5,50
29. 10. 2009	INF alfa 3 mil. j.	1,6	9,21	N	149	171	6,18
5. 11. 2009	INF alfa 3 mil. j.						
Dnem 5. 11. 2009 INF alfa ukončen pro závažný hmotnostní úbytek, zvracení, fatigue a obnoven MYRIN.							
25. 11. 2009	Myrin 100 mg/den	1,8	5,74	N	138	161	5,84
12. 1. 2010	Myrin střídavě 100 a 50 mg	1,9	5,41	neg	146	174	6,61
18. 2. 2010	Myrin střídavě 100 a 50 mg	2,5	9,9	neg	144	146	7,74
4. 3. 2010	Myrin střídavě 100 a 50 mg	2,6	6,37	poz	166	227	8,39
18. 3. 2010	Myrin 50 mg/den	2,3	5,48	neg	148	216	7,36
15. 4. 2010	Myrin 50 mg/den	2,2	12	neg	144	180	7,84
13. 5. 2010	Myrin 50 mg/den	1,9	8,59	poz	135	157	5,86

Datum	Léčba	Fbg g/l	D-dim µg/ml	EGT	Hb g/l	Tromb x 10 ⁹ /l	Leu x 10 ⁹ /l
Od 13. 5. 2010 ukončen Myrin v dávce 50 mg denně a přechod na Revlimid 10 mg.							
25. 5. 2010	Revlimid 10 mg	1,8	10,8	neg	135	163	9,22
10. 6. 2010	Revlimid 10 mg	1,7	10,97	poz	134	175	5,81
24. 6. 2010	Revlimid 10 mg	1,9	10,8	poz	124	166	7,59
13. 7. 2010	Revlimid 10 mg	1,9	14,80	poz	115	210	6,89
22. 7. 2010	Revlimid 10 mg	2,6	17,36	poz	117	181	6,62
22. 7. 2010 provedena změna léčby – Revlimid ukončen a opět navrácen Myrin 100 mg denně.							
5. 8. 2010	Myrin 100 mg + Revlimid 10 mg	2,0	14,06	poz	121	191	5,80
9. 9. 2010	Myrin 100 mg + Revlimid 10 mg	1,9	13,43	poz	121	173	5,70
4. 11. 2010	Myrin 100 mg + Revlimid 10 mg	1,8	16,34	poz	81	196	5,88
11. 11. 2010	Myrin 100 mg + Revlimid 10 mg	2,5	15,0	poz	97	274	6,77
18. 11. 2010	Myrin 100 mg + Revlimid 10 mg	2,0	14,0	poz	110	276	6,25
30. 11. 2010	Myrin 100 mg + Revlimid 10 mg	1,6	9,0	poz	129	180	5,36
10. 12. 2010	Myrin 100 mg + Revlimid 10 mg	1,5	17	poz	124	181	6,0
23. 12. 2010	Myrin 100 mg + Revlimid 10 mg	2,8	7,77	neg	141	180	4,97
4. 1. 2011	Myrin 100 mg + Revlimid 10 mg	1,7	9,32	poz	131	226	6,35
27. 1. 2011	Myrin 100 mg + Revlimid 10 mg	1,8	8,0	poz	136	153	5,41
22. 2. 2011	Myrin 100 mg + Revlimid 10 mg	2,0	10,57	poz	139	138	4,65
23. 3. 2011	Myrin 100 mg + Revlimid 10 mg	2,1	8,26	poz	127	147	5,08
28. 4. 2011	Myrin 100 mg + Revlimid 10 mg	1,8	15	poz	84	169	5,39
3. 5. 2011	Myrin 100 mg + Revlimid 10 mg	1,7	14,4	poz	95	97	3,6

Fbg = fibrinogen (normální hodnoty 1,88–3,5 g/l); D-Dim = D-dimery (normální hodnoty 0,0–0,50 µg/ml); EGT = etanolgelifikační test, prokazující solubilní fibrinové monomery, Hb = hemoglobin (normální hodnota 130–176 g/l); Tromb = trombocyty (normální hodnota 150–350 x 10⁹); Leu = leukocyty (normální hodnota 4–10 x 10⁹)

INF alfa = interferon alfa

Při kontrolním vyšetření bylo patrné pouze částečné zmenšení rozsahu patologických hmot na CT zobrazení dutiny břišní a hrudní. Bolesti kostí však ustaly velmi záhy, již po dvou měsících.

Thalidomid (Myrin)

Vzhledem k malému účinku léčby interferonem alfa a nutnosti snížit jeho dávku z 6 na 3 miliony jednotek jsme zvažovali, kterým dostupným lékem potenco- vat tuto léčbu. Po domluvě s pacientovou zdravotní pojišťovnou byl od června 2006 přidán další lék s prokázaným inhibičním vlivem na angiogenezi – thalidomid (Myrin), v dávce 100 mg denně.

Jak interferon alfa, tak thalidomid mají nežádoucí účinky, které se zintenzivňují v závislosti na délce léčby. Interferon alfa byl zpočátku dobře tolerován i v dávce 6 milionů jednotek, posléze pro výrazný úbytek hmotnosti, patologickou únavu (*fatigue*) a depresi musel být snížen na 3 miliony jednotek. Postupně se nežádoucí účinky i této dávky staly nesnesitelnými. Stejně tak thalidomid (Myrin), zpo-

čátku velmi dobře tolerovaný, začal být po měsících léčby problematický kvůli postupnému zhoršování neuropatie.

Proto, jak je zřetelné z přehledné tab. 2, dávky i složení léčby se v čase měnily dle převládajících nežádoucích účinků toho či onoho preparátu. Pro nežádoucí účinky 100 mg thalidomidu jsme začali testovat nižší dávky: střídání 100 a 50 mg/den a posléze 50 mg/den. Při snížení dávky thalidomidu se však začaly postupně zvyšovat hodnoty D-dimerů.

Lenalidomid 10 mg v monoterapii

V květnu roku 2010 jsme pro výrazné nežádoucí účinky (závažná neuropatie) přerušili podávání thalidomidu a přešli jsme na aplikaci lenalidomidu (Revlimid), který má také výrazný inhibiční vliv na angiogenezi, nezpůsobuje však neuropatii. Zvolili jsme nejnižší dostupnou dávku, 10 mg tablety 1x denně, ve stejném schématu jako u mnohočetného myelomu v rámci udržovací léčby, tedy denní podávání 10 mg/den po dobu 3 týdnů s týdenní pauzou před další dávkou lenalidomidu.

Intenzita neuropatických potíží po změně léčby – nahrazení thalidomidu preparátem lenalidomid – poklesla.

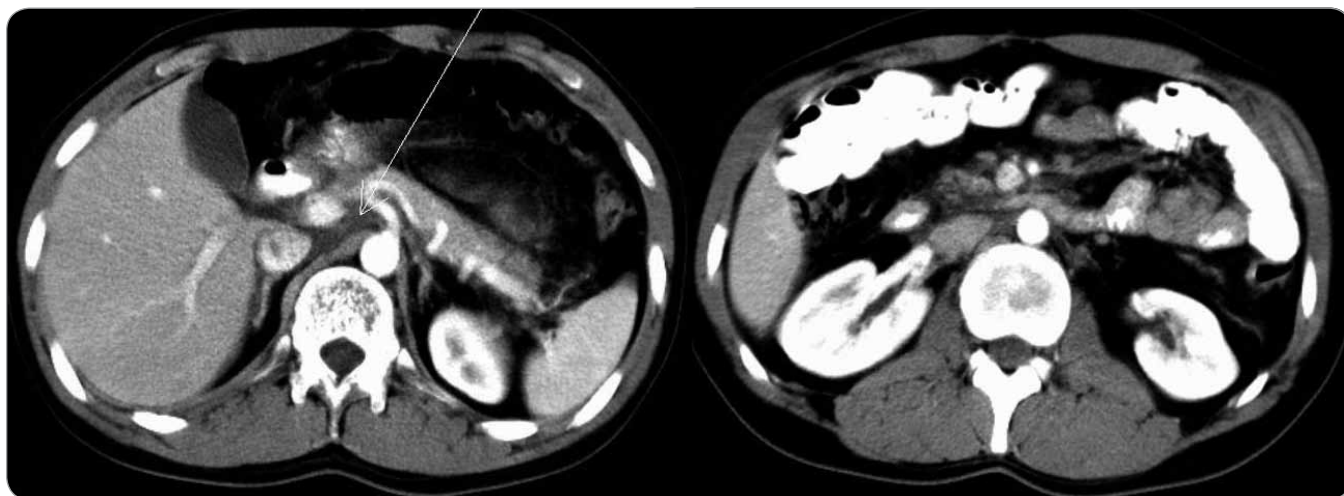
Lenalidomid v kombinaci s thalidomidem

Protože ke konci monoterapie lenalidomidem se mírně navýšila hodnota D-dimerů a také nepatrně poklesla koncentrace hemoglobinu, rozhodli jsme se pro kombinovanou léčbu thalidomidem v nízké dávce 50 mg denně s lenalidomidem. Oba léky se shodují v tom, že mají antiantiogenní působení, ale jejich nežádoucí účinky jsou různé. Tolerance této léčby byla dobrá. Při uvedené dávce nedocházelo k žádnému poklesu neutrofilů, pacient subjektivně tuto léčbu snášel dobře a díky ní byl jeho stav dlouhodobě stabilizovaný až do poslední kontroly počátkem května 2011.

Hodnocení účinku léčby

CT a MRI vyšetření

Rozsah angiomatózních hmot je viditelný na MRI i na CT zobrazení mediastina a břišní dutiny. Vyhodnocení



Obr. 10, 11. CT vyšetření břicha po intravenózní aplikaci jodové kontrastní látky ze dne 29. 1. 2007 – po léčbě – již jen zcela minimální rezidua patologických hmot v retroperitoneu (šipka), a to především paraaortálně vpravo v úrovni hlavy pankreatu.

dosažené léčebné odpovědi bylo provedeno měsíc po jejím ukončení, v lednu 2007 (obr. 10, 11, 16, 17). Byla prokázána výrazná regrese patologických tkání v břišní dutině a v mediastinu na pouhé reziduální hmoty. Pro hodnocení léčebné odpovědi u angiomatózy jsme nenalezli kritéria. Pokud bychom se vyjadřovali v termínech používaných u solidních nádorů, lze dle zobrazovacích vyšetření hodnotit léčebný efekt jako parciální remisi nemoci; kompletní remise nebylo dosaženo, protože rezidua byla stále zřetelná, i když již nevelká. Vzhledem k mnohočetnosti ložisek není možné hodnotit míru zmenšení v procentech a přesná kvantifikace

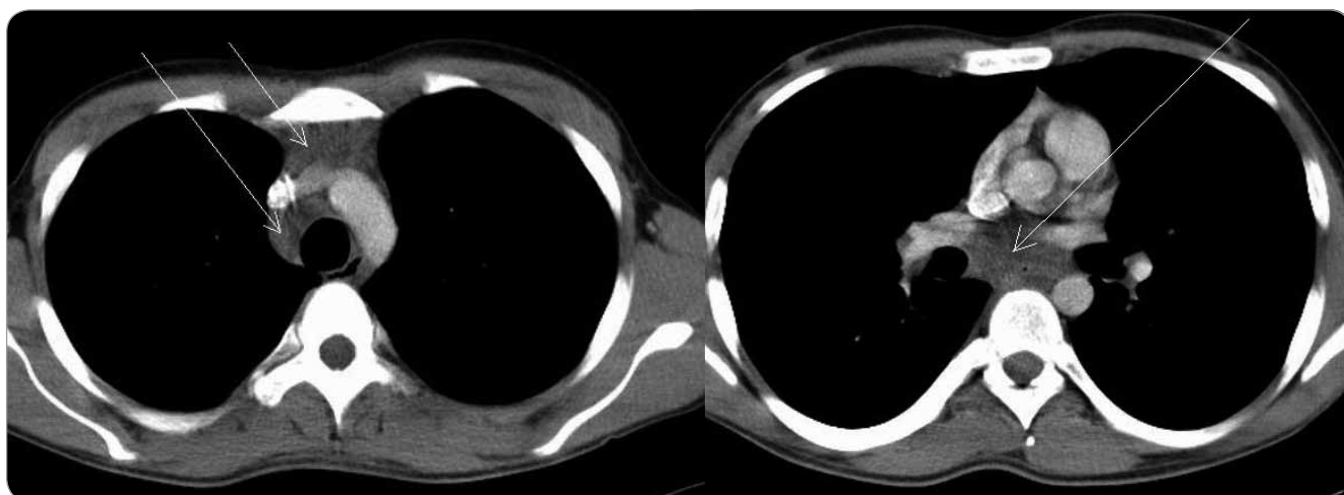
míry zmenšení všech ložisek není tedy možná.

PET/CT vyšetření s nitrožilním podáním kontrastu

O přínosu PET/CT pro diagnostiku angiomatózy nejsou žádné publikace. CT komponenta PET/CT vyšetření umožňuje velmi dobře detekovat četné hemangiomy patrné v obratlích hrudní páteře (v obratlích Th7-8, Th10-12) a v bederní páteři (v obratlích L4-S1) a dále v levé kosti kyčelní. PET komponenta PET/CT vyšetření detekuje v místech s destrukcí kosti hemangiomy se sníženou akumulací fluorodeoxyglukózy. Míra akumulace fluorodeoxyglu-

kózy je v místech postižení obratlů hemangiomovými hmotami nižší, než je normální (fyziologická) akumulace fluorodeoxyglukózy v nepostižených obratlích (obr. 18).

Dále při PET/CT zobrazení jsou viditelné nepravidelné (cárovité) hypodenzní (hemangiomatózní) infiltráty prostupující mediastinem, břišní dutinou; jsou viditelné v jaterním hilu a prostupují kaudálně celé retroperitoneum. Metabolická aktivita tohoto infiltrátu (míra akumulace fluorodeoxyglukózy) je srovnatelná s pozadím obr. 19. Lze tedy říct, že ani kostní postižení, ani infiltrát v mediastinu, retroperitoneu nevykazovaly patologicky zvýšenou akumulaci



Obr. 12, 13. CT vyšetření hrudníku po intravenózní aplikaci jodové kontrastní látky ze dne 6. 5. 2005 – před zahájením léčby – hypodenzní patologická infiltrace mediastina retrosternálně, paratracheálně a subkarinálně (šipky), která má stejné denzitní charakteristiky jako infiltrace v retroperitoneu.



Obr. 14, 15. MR vyšetření mediastinu ze dne 26. 8. 2005, T1 vážený obraz v sagitální (obr. 14) a koronární (obr. 15) rovině – po zahájení léčby – patologická tkáň v předním mediastinu retrosternálně má v T1 smíšeně nízký signál a je jednoznačně ohraničena oproti okolnímu tuku (šipka). Oboustranná infiltrace paravertebrálně navazuje na obratlová těla, která mají abnormální strukturu (Th 8, 10, 12), což je obraz hemagiomatózy postihující skelet i měkké tkáně.

fluorodeoxyglukózy, kterou běžně vídáme u většiny ložisek maligní etiologie.

Laboratorní známky aktivity procesu

Intenzivní proliferace angiomatózních struktur je spojená s tvorbou specifických působků, například vaskulárního endoteliálního růstového faktoru (VEGF). Tyto hodnoty však nejsou rutinně vyšetřovány. Proliferace angiomatózních struktur však způsobuje disseminovanou intervaskulární koagulaci (DIK) s následným snížením hodnot fibrinogenu, výrazným navýšením hodnot

D-dimerů a přítomností solubilních fibrinových monomerů. V závažných případech dojde i k poklesu počtu trombocytů.

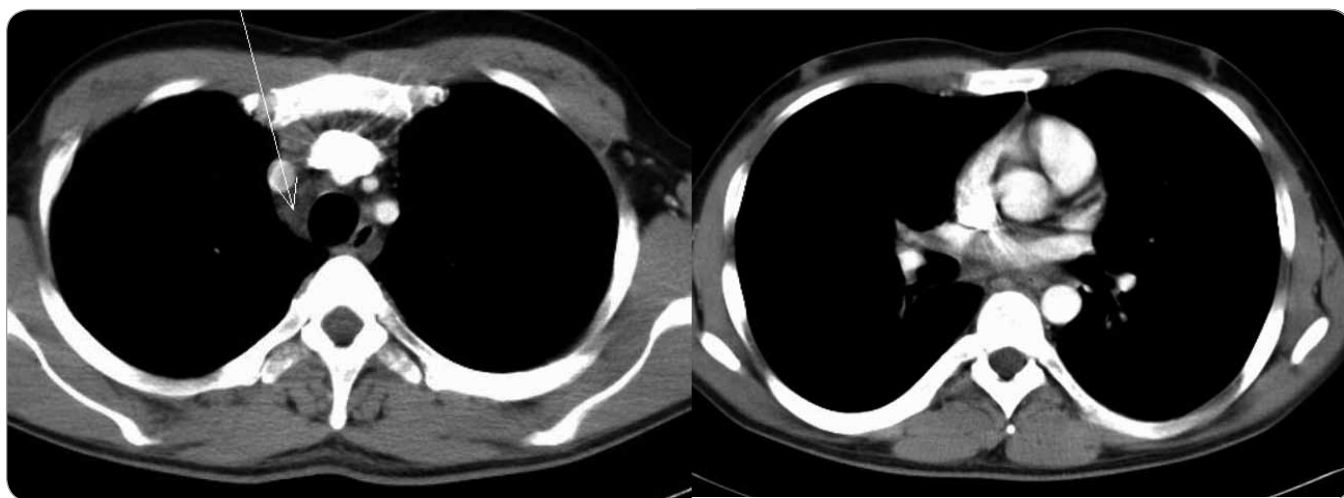
Tento chronicky probíhající DIK v angiomatózních masách není ovlivnitelný aplikací heparinu, jak popisuje literatura a jak jsme ověřili u tohoto pacienta. Aplikace nízkomolekulárního heparinu vůbec tyto hodnoty neovlivnila, zůstávaly stejné jak během jeho podávání, tak i po ukončení jeho aplikace.

Patologické hodnoty koagulace však byly ovlivnitelné léky inhibujícími angio-
genezu, jak vyplývá z tab. 2.

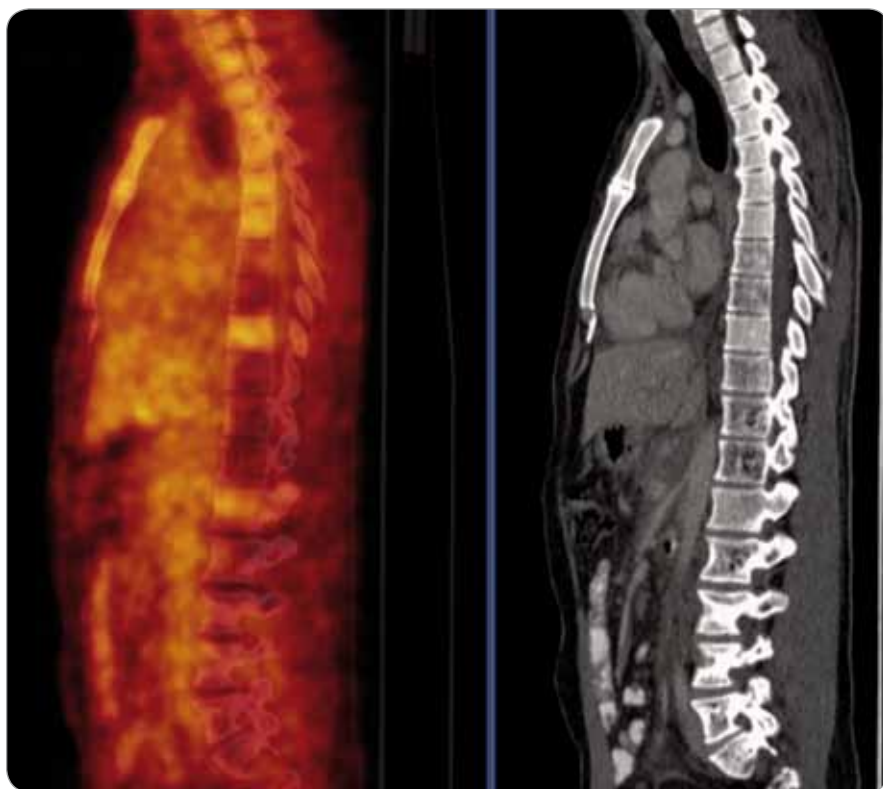
Při úspěšné léčbě interferonem alfa (Introna) a thalidomidem (Myrin) se snížily hodnoty D-dimerů (stanovené testem STA LIATEST DDI firmy Stago), zvýšila se hodnota fibrinogenu a vymizely fibrinové monomery prokazované etanolgelifikačním testem. Zároveň se stabilizovala hodnota hemoglobinu.

Uvedené koagulační parametry spolu s hodnotou hemoglobinu nyní používáme k průběžnému hodnocení aktivity jednotlivých typů léčby, byť s jistým omezením, protože organismus člověka i onemocnění angiomatózou se vyvíjejí v čase.

- Před zahájením léčby byly hodnoty D-dimerů vyšší než 20 µg/ml, hodnota fibrinogenu byla snižena na 1,4 g/l a byly prokazatelné solubilní fibrinové monomery etanolgelifikačním testem.
- Při terapii interferonem alfa (Introna) v dávce 6 mil. j. 3× týdně, po 10 měsících snižené na 3 mil. j. 3× týdně byl medián koncentrace fibrinogenu 1,5 (1,2–2,0) g/l, medián hodnoty D-dimerů 17,2 (13,4–20,0) µg/ml, etanolgelifikační test nebyl vždy vyšetřen, pokud však byl vyšetřen, tak zůstal pozitivní. První léčba interferonem probíhala od 23. 6. 2005 až do 13. 6. 2006.
- Při monoterapii thalidomidem (Myrin) v dávce 100 mg (18. 9. 2008 až 27. 8. 2009) byl medián hodnoty D-dimerů 6,07 (4,71–10,21) µg/ml, medián hodnoty hemoglobinu 144 g/l, medián



Obr. 16, 17. CT vyšetření hrudníku po intravenózní aplikaci jodové kontrastní látky ze dne 1. 2. 2007 – po léčbě – patrná je podstatná regrese mediastinálních infiltrátů subkarinálně, s pouze malými reziduy paratracheálně.



Obr. 18. PET/CT vyšetření s podáním i.v. kontrastu provedené v září 2010. Jsou patrné četné hemangiomy patrné v obratlích Th (Th7,8 a Th10-12) a LS (L4-S1) páteře a levé kosti kyčelní, v těchto místech detekujeme sníženou metabolickou aktivitu, která nedosahuje ani fyziologické aktivity v okolních nepostížených obratlích (obr. 18).

hodnoty fibrinogenu 1,9 g/l, etanolgelifikační test nebyl prováděn.

- Při použití 50 mg Myrinu (18. 3. 2010 až 13. 5. 2010) je zřetelné postupné narůstání hodnot D-dimerů.
- Při použití lenalidomidu (Revlimid) v dávce 10 mg došlo ke zvýšení hodnoty D-dimerů na medián 10,8 (10,8–17,35) µg/ml a poklesla hodnota hemoglobinu, medián 124 (117–135) g/l. Byl pozitivní průkaz fibrinových monomerů etanolgelifikačním testem.
- Při léčbě kombinací thalidomidu (50 mg denně) a lenalidomidu (10 mg 1.–21. den ve 28denních cyklech) byl pacient stabilní po dobu 9 měsíců. Medián koncentrace hemoglobinu se zvýšil na 131 (84–141) g/l. Medián hodnoty D-dimerů se snížil na 9,3 (8,0–17) µg/ml. Vše uvedené shrnuje tab. 2.

Diskuze

Mnohočetná angiomatóza diagnostikovaná v dospělosti je velmi vzácným onemocněním, o němž lze získat informace z popisu případů, nikoliv z klinických stu-

dií. Údaje o incidenci mnohočetné angiomatózy jsme v literatuře nenašli [1–6].

Příznaky angiomatózy

Hemangiomy mohou v dospělosti postihnout kterýkoliv orgán a projevit se v kterémkoliv věku. Expandující hemangiomy mohou způsobit jak lokální kompresi, tak destrukci okolí a mohou být zjevné jako viditelný či hmatný patologický útvar [7–11].

Pokud vzniknou významné arteriovenózní zkraty, mohou být příčinou hyperkinetického oběhu a někdy i srdečního selhání.

V případech, kdy tyto cévní neoplazie postihují dlouhé kosti a obratle, způsobují bolesti pohybového aparátu. Osteolytická ložiska patrná na rentgenovém snímku mohou připomínat mnohočetný myelom [12].

Je-li hemangiom dostatečně velký, může být příčinou permanentní lokalizované intravaskulární koagulace s konzumpcí koagulačních faktorů, snížením fibrinogenu a trvalým zvýšením D-di-

merů. Někdy dochází i k sekvestraci destiček a k trombocytopenii. Klasický Kasabachův-Merittův syndrom je popisován jako hypokoagulace s deficitem trombocytů [13,14].

Nejzávažnější a vždy akutní komplikací je krvácení z hemangiomu, které může být smrtelné. V této kritické a život ohrožující situaci se ukázal přínosným rekombinantní faktor VIIa [15].

Místo angiomatózy v rámci WHO klasifikace cévních neoplazií

V tab. 3 informujeme o současné WHO klasifikaci cévních neoplazií. Rozlišuje vaskulární malformace, benigní, semimaligní a maligní vaskulární tumory. Angiosarkomy jsou velmi vzácné a vyskytují se ve věku kolem 60–70 let. Vyznačují se velmi agresivním chováním. Dříve zmiňované dělení hemangiomů na kapilární, kavernózní a smíšené ztratilo význam, protože v sobě neobsahuje prognostickou informaci. Termíny hemangiom či lymfangiom se používají pro ložiskové, dobře ohraničené procesy. V posledních letech byly popsány některé markery, které umožní odlišit proliferativní a neproliferativní hemangiomy [16,17].

Termín angiomatóza se používá pro víceložiskové a nepřesně ohraničené cévní tumory, které prorůstají více orgány a prostupují více tkáněmi.

Angiomatóza může postihovat oblast gastrointestinálního traktu, střešní stěnu, mezenterium, retroperitoneum a břišní orgány, například játra. Ačkoliv gastrointestinální angiomatóza je obvykle benigní, může být příčinou náhlého úmrtí způsobeného nezastavitelným krvácením nebo střevní obstrukcí. Kavernózní střevní hemangiomy někdy vytvářejí polypoidní útvary, postihují celé střevo, ale i okolní tkáň a orgány. Přibližně dvě třetiny případů angiomatózy jsou diagnostikovány v prvních dvou dekádách života a téměř všechny případy se projeví do 40 let [11–14, 18–22] (tab. 3).

Detekce hemangiomů a angiomatózy zobrazovacími metodami

Sonografie

Hemangiomy je možné zviditelnit sonograficky, zobrazují se jako hyperechogenní noduly s nepatrným posteriorním

Tab. 3. Diferenciální diagnostika reaktivních a neoplastických vaskulárních lézí [7,23].**Benigní****Hemangiom**

Benigní cévní proliferace, ne vždy neoplastického původu, často se jedná o malformaci nebo o reaktivní afekci. Mohou se vyskytnout v jakékoli anatomické lokalizaci. Dle lokalizace a typu konstituujících cév lze klasifikovat do mnoha jednotek.

a) kapilární hemangiom, zvláště u dětí v kůži v oblasti hlavy a krku, běžně spontánně regreduje.

b) kavernózní hemangiom v jakémkoli věku, běžný v játrech, kůži, subkutis. Neregduje.

c) arteriovenózní hemangiom nemá nádorovou povahu, je charakterizován přítomností arteriovenózního zkratu. Postihují dominantně hlavu a krk. Na rozdíl od juvenilních kožních hemangiomů nemají tendenci ke spontánní regresi. Jejich velikost může být dostačující ke vzniku konzumpční koagulopatie.

d) synoviální hemangiom postihuje mladé jedince v podobě benigní proliferace krevních cév v synoviální tkáni, nejčastěji kolene. Častá je recidivující bolest, otok a výpotek v postiženém kloubu.

e) intramuskulární hemangiom se objevuje v kosterním svalstvu obvykle jako pomalu rostoucí zduření, často bolestivé, zvláště po svalové námaze. Většinou obsahují komponentu zralé tukové tkáně, lze je pak klasifikovat jako hemangiolipomy.

f) venózní hemangiomy jsou tvořeny převážně vénami různého kalibru. Čistě venózní hemangiomy se objevují v dospělém věku, velmi pomalu rostou. Jsou lokalizovány v kůži a podkoží, nejčastěji dolních končetin.

Epiteloidní hemangiom

Synonymem angiolymfoidní hyperplazie s eozinofilií je benigní vaskulární tumor s nezralými cévami, většinou velikosti kapilár s objemnými epiteloidními endoteliálními buňkami. Majorita případů je spojena s výraznou zánětlivou komponentou, tvořenou eozinofily a lymfocyty. Postihuje často podkoží hlavy nebo distální části končetin.

Angiomatóza

Jde o difuzní formu hemangiomů, které postihují větší segment těla a prostupují více tkáněmi a orgány (podkoží, svaly, kosti). Diagnostika angiomatózy je tedy založena nejen na morfologii, ale také na klinických a zobrazovacích vyšetřeních. Ložiska angiomatózy dosahují od několika centimetrů po 10–20 cm velké tumory. Ačkoliv je angiomatóza charakterizována jako benigní záležitost, v 90 % případů dochází k perzistenci ložisek. Metastazování či maligní transformace nebyla popsána.

Lymfangiom

Benigní afekce složené z dilatovaných lymfatických cest, běžně postihující malé děti. Nejčastěji se vyskytují v podpaží, na krku či v tříslích jako tzv. cystický hygrom, zatímco kavernózní typ se objevuje v dutině ústní, ale také v oblasti břicha, v mezenteriu a v retroperitoneu.

Lymfangiomatóza

Lymfangiomy vyskytující se v měkkých tkáních, parenchymových orgánech nebo kostech difuzně nebo multifokálně, analogicky jako u angiomatózy. Jde o velmi vzácný stav.

Borderline maligní**Kaposiformní hemangioendoteliom**

Jde o lokálně agresivní vaskulární tumor z nezralých cévních struktur. Často začíná v retroperitoneu, vytváří ascites a příznaky z komprese okolních struktur.

Může však postihovat dutinu hrudní i podkoží. Kaposiformní hemangioendoteliom nemá tendence ke spontánní regresi, většinou je provázen syndromem Kasabachovým Merittové.

Retiformní hemangioendoteliom

Je rovněž lokálně agresivní, vzácně metastazující vaskulární afekce. Postihuje nejčastěji kůži a podkoží dolních končetin. Tento typ cévní neoplazie je charakterizován typickou arborizací cév a morfologií vysokých nádorových endotelových buněk.

Papilární intralymfatický angioendoteliom

Klinicky lokálně agresivní, vzácně metastazující tumor, charakterizovaný kanálky podobnými lymfatickým cévám a s papilární endoteliální proliferací. Velmi často přechází do retiformního hemangioendoteliomu, ke kterému má tato jednotka těsný vztah. Nejčastěji postihuje kůži a podkoží dolních končetin.

Kompozitní hemangioendoteliom

Je velmi vzácný, lokálně agresivní, vzácně metastazující neoplazie s vaskulární diferenciací, která obsahuje jak benigní, tak intermediární a maligní komponentu. Typicky postihuje distální části končetin. 25 % osob s touto cévní neoplazií má lymfedém.

Maligní**Kaposiho sarkom**

Je endoteliální tumor se 4 klinicko-epidemiologickými formami s různým biologickým chováním, typicky postihující kůži, ale i sliznice, lymfatické uzliny a vnitřní orgány. Pro Kaposiho sarkom je typická asociace s infekcí humánním herpesvirem 8.

Epiteloidní hemangioendoteliom

Jde o vaskulární tumor s metastatickým potenciálem, který je tvořen epiteloidními endoteliálními buňkami uspořádanými v krátkých pruzích a hnízdech v myxohyalinním stromatu. Obvykle postihuje povrchové či hluboké tkáně končetin, ale objevuje se i ve vnitřních orgánech, zvláště v játrech. Ve skeletu je běžný multifokální výskyt. Biologické chování je mezi konvenčním hemangiomem a angiosarkomem. Metastázy se popisují u 20–30 % osob. Mortalita činí 10–20 %.

Angiosarkom

Angiosarkom je vzácný vysoce agresivní maligní tumor vycházející z endotelií. Nejvýznamnější jsou angiosarkomy postihující kůži hlavy, končetiny s lymfedémem (Stewart-Trevesův syndrom; typicky po mastektomii a lymfadenektomii) a angiosarkomy hlubokých měkkých tkání, jater a sleziny. Jsou tvořeny vřetenitými nebo epiteloidními zřetelně anaplastickými nádorovými buňkami s tvorbou rudimentárních vaskulárních kanálů. K histologické diagnóze je často nutný imunohistochemický průkaz endoteliální diferenciacie. Postižena je především dospělá populace, pediatrické případy jsou raritní.

Tab. 4. Přehled léčebných postupů použitých při léčbě hemangiomů.**Kortikoidy**

Z medikamentů, které mají potenciál ovlivnit růst hemangiomů, zpomalit jej či vést k jeho regresi, je nutno v první řadě jmenovat kortikoidy. Lze použít jak ložiskovou, tak i systémovou aplikaci. Je popsán účinek perorální léčby metylprednisolonem nebo prednisolonem v dávce 2–5 mg/kg/den, podávané po dobu 3–4 týdnů s následným snižováním po dalších 8 týdnů. Léčebná odpověď byla popsána v 30 % případů [29–31].

Cytostatika

Pokud nepomáhají kortikoidy, jsou používána cytostatika, nejčastěji vinkristin a cyklofosamid. Jedním z používaných režimů je podávání vinkristinu v dávce 1,5 mg/m² i.v. 1× týdně a cyklofosmidu 300 mg/m² 1× za 4 týdny po dobu dvou měsíců. Následně pak jenom aplikace vinkristinu 1× za 3 týdny [32,33].

Interferon alfa

Od počátku 90. let je k dispozici první lék s prokázaným antiangiogenním působením, interferon alfa. Antiangiogenní efekt je však pouze jedním z biologických účinků interferonu alfa. Účinnost interferonu alfa je v této indikaci známa a zmiňována již od roku 1990 [34] a od té doby v literatuře narostl počet publikací popisujících úspěchy interferonu alfa na několik desítek publikací a stále přibývají další a další popisy případů, potvrzující účinek interferonu alfa, a to nejen u běžných hemangiomů, ale také u agresivněji rostoucích retroperitoneálních hemangioendoteliomů.

Doporučené dávky kolísají od 3 do 6 mil. celkově, případně na m² 3krát týdně. Interferon alfa má velmi pestré nežádoucí účinky a vysoké dávky obvykle nejsou dobře tolerovány. Výhodnou této léčby je, že nemá mutagenní a kancerogenní účinky [2,35–37,80,81].

Thalidomid

Thalidomid se dostal poprvé na trh v roce 1958 jako sedativum a antiemetikum, vhodné pro gravidní ženy. Pro teratogenní účinky byl v roce 1962 stažen z veškerého klinického užívání. V posledních 10 letech se však znovu objevil, používá se pro léčbu erythema nodosum leprae, léčbě aftózních ulcerací u Behcetovy nemoci a v poslední době byl prokázán jeho přínos pro léčbu mnohočetného myelomu, ale i dalších maligních nemocí. Thalidomid má imunomodulační a dále antiangiogenní účinky, inhibuje tvorbu vaskulárního endoteliálního růstového faktoru (VEGF) a beta fibroblastového růstového faktoru (bFGF) [38–43].

V současnosti je v ČR používán pro léčbu mnohočetného myelomu, ale i dalších maligních krevních chorob.

Lenalidomid

Jde o imunomodulační lék s prokázaným antiangiogenním účinkem. Jeho standardní indikací je mnohočetný myelom a některé formy myelodysplastického syndromu. Zatím se v literatuře vyskytla pouze jedna zpráva popisující dokonce lepší léčebný efekt dávky 15 mg a posléze 25 mg podávané obden, než měl thalidomid v dávce 100 mg. Při dávce 15 mg denně byla po 15 týdnech dosažena závažná myelosuprese s nutností dočasného přerušování léčby [65].

Koxiby

Antiangiogenní vliv mají i léky ze skupiny koxibů. Proto zpomalují recidivu střevních polypů a jejich antiangiogenní vliv souvisel se zvýšenou kardiiovaskulární mortalitou při dlouhodobé pravidelné aplikaci. To vedlo ke stažení nejúčinnějších z nich ke škodě nemocných s angiomatózou. Dnes je dostupný pouze preparát Celebrex [44,45].

Bevacizumab

Nejnovějším již komerčně dostupným antiangiogenním lékem je monoklonální protilátka proti vaskulárnímu endoteliálnímu faktoru. O jeho použití u hemangiomů je na rozdíl od onkologických indikací velmi málo publikací, zatím jen formou abstraktů z konferencí [46–51].

Zoledronát

Zoledronát je nejúčinnějším bisfosfonátem používaným pro léčbu maligní osteolýzy a Pagetovy nemoci. Dominantním účinkem je inhibice osteoklastů, a tím odbourávání kosti. Dále bylo v in vitro studiích popsáno i protitumorózní a antiangiogenní působení této látky. Z těchto důvodů je tato látka přínosná pro léčbu kostních hemangiomů [52–60].

Propranolol

Beta blokátor propranolol u nás není registrován, nicméně o přínosu propranololu pro léčbu dětských hemangiomů a angiomatózy nalezneme mnoho reportů v Medline, citujeme pouze některé z posledních publikací [67–79].

Lokální léčebné postupy

Pro léčbu dobře lokálně dostupných hemangiomů je popsáno použití chirurgických postupů i kryochirurgické léčby a léčby laserovým zářením. Sklerotizující léčba je doporučována jen pro nízké průtokové hemangiomy. Embolizační léčbou lze řešit i krvácivé komplikace hemangiomů [61–63,82].

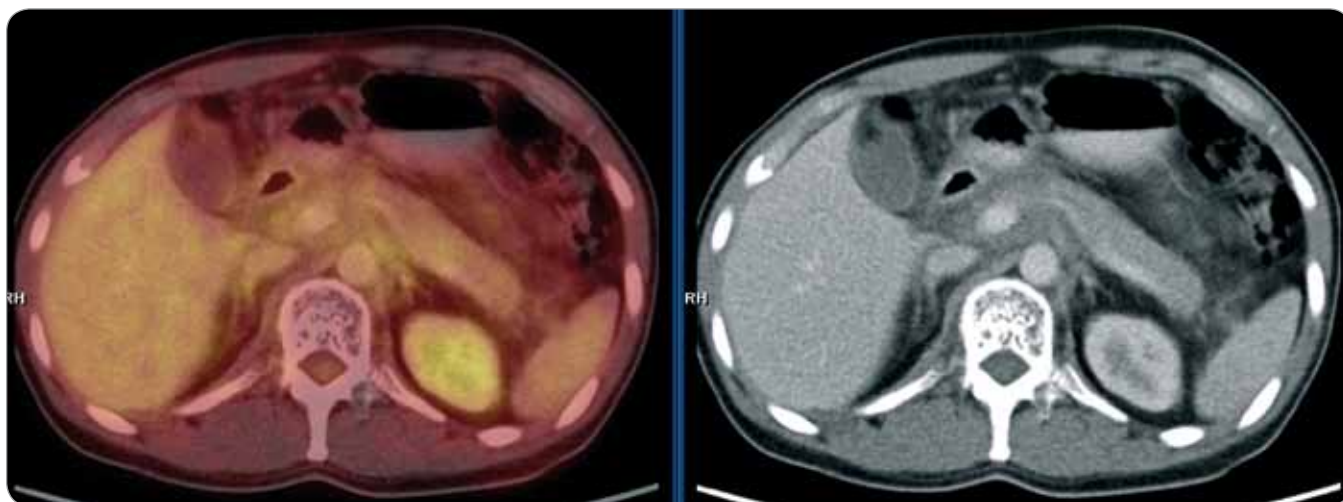
akustickým zvýrazněním, lze je prokázat dopplerovským vyšetřením. Vzhledem k difuznímu růstu angiomatózních hmot však v tomto případě sonografické vyšetření nevedlo k rozpoznání této nemoci.

CT zobrazení

Při CT se zobrazují jako hypodenzní ložiska s denzitou odpovídající cévním strukturám, které lze potvrdit typickým syčením po aplikaci kontrastní látky (obr. 2, 6, 7, 13).

MRI zobrazení

Velmi dobře se znázorňují pomocí MRI zobrazení. VT1 váženém obraze mají hemangiomy nízkou intenzitu signálu, zatímco při T2 zobrazení vykazují vysokou



Obr. 19. PET/CT vyšetření s podáním i.v. kontrastu provedené v září 2010.

Mediastinem, jaterním hilem a kaudálněji celým retroperitoneálním prostorem se spolu s cévami pruhovitě táhne „cárovitě“ hypodenzní (hemangiomatózní) infiltrát, jehož metabolická aktivita je srovnatelná s pozadím. Lze tedy říct, že ani kostní postižení, ani infiltrát v mediastinu, retroperitoneu nevykazoval patologickou míru konzumpce FDG, kterou běžně vidáme u většiny ložisek maligní etiologie.

intenzitu, která umožní velmi dobře odlišit hemangiomatózní struktury od ostatních orgánů [18–21,24–27].

PET/CT zobrazení

O zobrazení angiomatózy při PET/CT vyšetření není dostatek údajů. V naší kauzistice postižené obratle vykazovaly velmi nízkou metabolickou aktivitu (až výpadek aktivity neboli fotopenii), tedy výrazně nižší aktivitu než u okolních zdravých obratlů. V takovém případě byl předpoklad nálezu metabolicky neaktivní struktury. Tak nízkou aktivitu vykazují solitární hemangiomy, kostní cysty nebo nejčastěji iatrogenní útlum metabolismu v kostní dřeni po provedené radioterapii. Většina benigních kostních tumorů vykazuje aktivitu spíše na úrovni fyziologické aktivity, tedy mohou být svou aktivitou k nerozeznání od zdravých tkání.

Problémy s rozpoznáním diagnózy u popisovaného pacienta

U popsaného případu mladého muže nebyly v mládí přítomny žádné kožní hemangiomy a ani při apendektomii v dětství nebyla v břišní dutině nalezena žádná patologická angiomatózní ložiska.

První příznaky mnohočetné angiomatózy způsobila destrukce obratlů a pánve pozvolně progredujícími hemangiomy, které již dva roky před ope-

račně potvrzenou diagnózou tvořily výsoce suspektní obrazy pro tuto diagnózu na MRI zobrazení.

Logický krok ortopedů bylo provedení excize z nejasného ložiska. Odběr z lopaty kosti kyčelní byl patologií mylně interpretován jako myelofibróza s podezřením na primární myelofibrózu. Musíme zdůraznit, že při odběrech malého vzorku materiálu při biopsii kosti je stanovení diagnózy angiomatózy téměř nemožné. V literatuře se uvádí, že při histologickém vyšetření kosti postižené agresivně rostoucím hemangiomem bývá v histologickém preparátu vždy výrazné fibrózní stroma, které v důsledku krvácení bývá plné depozit hemosiderinu. Pouze v případech, že se provede speciální imunohistochemie – znázornění endoteliálních povrchů pomocí přítomnosti znaků CD31 a CD34 – je možné vyslovit podezření na hemangiom [12].

První příznaky angiomatózy (bolesti kostí) a první pokus o histologickou diagnózu z kostní excize tedy nevedly k objasnění diagnózy.

Pacient však trpěl i břišním dyskomfortem, byla diagnostikována hypoalbuminémie a také hypochromní anémie. Zažívací potíže byly důvodem k opakovaným endoskopickým vyšetřením. Je zřejmé, že u pacienta dočasně docházelo nejen ke ztrátám krve a železa zažívacím traktem, ale také ke ztrátám bílko-

vin. Makroskopický obraz střevní sliznice byl sice abnormální, ale nedovolil žádnou jasnou diagnózu, ani biopsie sliznice nepomohla objasnit etiologii viditelných změn. Podobné komplikace popisují i další autoři [7,13,18,28,64,65]. Nicméně nemůžeme přesně vysvětlit, proč v určité době došlo k hypoalbuminémii a co přesně způsobilo změny ve střevním lumen.

V roce 2005 však byla u pacienta nalezena zvětšená uzlina v tříslu. Z diagnostických důvodů byla exstirpována a následovalo CT mediastina a břicha v rámci diferenciální diagnostiky lymfadenopatie.

Prekvapením byly nejasné infiltrativní změny v oblasti mediastina a břicha. Ty vedly k probatorní laparotomii a makroskopickému i histologickému stanovení diagnózy.

Léčebné postupy u hemangiomů a angiomatózy

Pro léčbu angiomatózy neexistují žádné oficiálně doporučené postupy. Informace o tom, co je možné těmto nemocným nabídnout, lze najít pouze formou popisů jednotlivých případů, v nichž je popsána léčba, které měla u jednotlivého pacienta či malého souboru pacientů nějaký efekt. Přehled publikovaných léčebných možností stručně uvádí tab. 4.

V našem případě jsme záměrně nepoužívali prednison, neboť pacient měl opakovaně život ohrožující hematemezu.

Z tohoto relativně nevelkého výběru léků s prokázaným antiangiogenním účinkem jsme vybrali interferon alfa a zoledronát.

Při první CT kontrole provedené přibližně po 5měsíční léčbě byla patrná regrese patologických hmot, ale pořád ještě byly hmoty dosti zřetelné (obr. 8, 9). Přesnější vyjádření léčebné odpovědi v procentech zmenšení patologické tkáně vzhledem k difuznosti projevů není reálné.

Co se týká kostních projevů, vedla léčba interferonem a zoledronátem k vymizení bolestí do 2 měsíců od zahájení léčby. Postižení skeletu angiomatózními hmotami je však velmi rozsáhlé, takže je nutné pokračovat v aplikaci zoledronátu i po vymizení bolestí, a to dlouhodobě. V prvních 4 letech to bylo v měsíčních intervalech, nyní ve dvouměsíčních.

Vzhledem k neúplné regresi patologických hmot jsme po 5měsíční léčbě interferonem alfa zvažovali další léčebné možnosti.

Zcela horkou novinkou je protilátka proti vaskulárnímu endoteliálnímu růstovému faktoru (anti VEGF) bevacizumab, firemním názvem Avastin. V roce 2011 jsme však v literatuře nenašli žádnou zmínku o použití tohoto léku u angiomatózy. A tak jsme do kombinace zvolili thalidomid, lék, který má také antiangiogenní působení, ale který v žádném z případů nevede ke krvácivým komplikacím.

Kombinovanou léčbu thalidomid, interferon a zoledronát měl náš mladý muž jen 6 měsíců, pak byla provedena kontrola metodou CT. Překvapujícím výsledkem bylo téměř kompletní vymizení patologických hmot na CT zobrazení. Tento excelentní náález na CT a touha mít vlastní děti vedly mladého muže k žádosti o přerušeni léčby, neboť thalidomid má známé teratogenní účinky, interferon alfa sice nemá mutagenní ani teratogenní účinky, ale mimo jiné způsobuje určitou míru fatigue čili patologické únavy.

Bohužel při přerušeni léčby došlo k recidivě angiomatózy do původních rozměrů. A ani ne za rok od přerušeni léčby

přivedla mladého muže masivní hematemeza zpět na JIP našeho pracoviště. CT potvrdilo recidivu, a tedy nutnost trvalé léčby s cílem udržet stabilitu nemoci. Nemáme zatím lék, který by ji eradikoval.

Zoledronát je tolerován excelentně a bez problémů. Původní dávka interferonu alfa musela být pro patologickou únavu (fatigue), úbytek hmotnosti a depresi snížena ze 6 mil. jednotek na 3 mil. jednotek. Ale i dávka 3 miliony jednotek vedla po více měsících k tak intenzivním nežádoucím účinkům, že bylo nutné jej vynechat. Thalidomid v dávce 100 mg dlouhodobě udržel stabilitu nemoci. Ale v průběhu této léčby se zintenzivňují jeho nežádoucí účinky – zhoršují se nepříjemné projevy neuropatie, a tak jsme zkusili snížit dávku na 50 mg/den. Při této dávce však začala narůstat koncentrace D-dimerů a z toho usuzujeme, že thalidomid v této dávce nemá potenciál dlouhodobě udržet stabilní angiomatózu bez progresu a s ní spojených krvácivých projevů. V podobném případě mnohočetných angiodyspazíí střevního traktu byla nemoc zcela kontrolována dávkou 100 mg, zatímco při dávce 50 mg recidivovalo krvácení [64].

V rámci akce CUP jsme mohli otestovat vliv lenalidomidu na tuto nemoc. Lenalidomid je derivát odvozený od thalidomidu, který má na angiogenezu podobné inhibiční účinky jako thalidomid, ale liší se nežádoucími účinky. Zatímco u thalidomidu je převažujícím nežádoucím účinkem neurotoxikita, je u lenalidomidu převažujícím nežádoucím účinkem myelosuprese, zatímco neurotoxikitu tento lék nevyvolává. Zvolili jsme nejnižší dostupné dávkování lenalidomidu 10 mg denně. Tato dávka je standardně používána u pacientů s mnohočetným myelomem v rámci udržovací léčby. V rámci indukční léčby se však u mnohočetného myelomu podává 25 mg denně po 3 týdny s týdenní pauzou před dalším cyklem. Tuto vyšší dávku jsme nepoužili z obavy, aby její dlouhodobé podávání nevedlo k myelosupresi. Našemu pacientovi jsme tedy po seznámení a podepsání informovaného souhlasu s aplikací registrovaného léčiva a nestandardní indikací podali lenalidomid (Revlimid) v dávce 10 mg.

Při použité dávce lenalidomidu se však postupně zvyšovaly hodnoty D-dimerů, a že toto zvyšování hodnoty D-dimerů je klinicky signifikantní, jsme usoudili z poklesu hodnoty hemoglobinu, který byl s vysokou pravděpodobností způsoben krevními ztrátami, a ne myelosupresivním vlivem lenalidomidu, protože hodnoty leukocytů a trombocytů se při používání lenalidomidu oproti hodnotám v době užívání thalidomidu nijak signifikantně neměnily. Při Myrinu 100 mg denně byl medián počtu leukocytů $7,57 (4,92-10,3) \times 10^9/l$ a trombocytů $144 (143-213) \times 10^9/l$, při lenalidomidu byl medián počtu leukocytů $6,89 (5,81-9,22) \times 10^9/l$ a trombocytů $166 (163-210) \times 10^9/l$.

Z této zkušenosti soudíme, že lenalidomid (Revlimid) v dávce 10 mg není u této nemoci tak účinný jako Myrin v dávce 100 mg.

Ve světovém písemnictví jsme našli pouze jednu zprávu o úspěšném podání lenalidomidu v indikaci mnohočetného postižení střeva hereditární hemoragickou teleangiodyspazíí. V této zprávě se udává, že léčbu zahájili 10 mg lenalidomidu, které postupně zvýšili na 15 mg denně. Po 15 týdnech museli tuto léčbu přerušit pro cytopenii a po úpravě krvetvorby přešli na dávku 15 mg a posléze 25 mg ob den a uvádějí, že při této dávce lenalidomidu má pacient menší krevní ztráty než při 100 mg thalidomidu [65]. Dále se lenalidomid osvědčil u další nemoci z této skupiny chorob – u multifokálního epitelioidního hemangioendoteliomu [66].

Vzhledem k pozitivním zahraničním zkušenostem s lenalidomidem u angiomatózy jsme u tohoto pacienta přistoupili ke kombinované léčbě thalidomid (v redukované dávce 50 mg denně) a lenalidomid (10 mg 1.–21. den ve 28denních cyklech). Oba léky se shodují v žádoucím antiangiogenním účinku, ale mají odlišné nežádoucí účinky. Od zahájení této kombinované léčby v září 2010 až do poslední kontroly počátkem května 2011 byl pacient stabilní, bez známek krvácení až do května roku 2011. Kombinovaná léčba thalidomidem a lenalidomidem představuje nový léčebný postup u pacientů s mnohočetnou angiomatózou.

Závěr

Mnohočetná angiomatóza je agresivní, byť nemaligní cévní onemocnění. Pro léčbu byl standardně používán prednison a interferon alfa. V případě opakované hematemezy nejsou glukokortikoidy bezpečné. Kombinace interferonu alfa se zoledronátem a thalidomidem však vedla k objektivní léčebné odpovědi dle CT zobrazení a dle poklesu hodnoty D-dimerů a ke vzestupu koncentrace fibrinogenu.

Dle koagulačních parametrů, které vypovídají o intenzitě diseminované intravaskulární koagulace, lze za velmi účinnou léčbu považovat thalidomid v dávce 100 mg, při nižší dávce již docházelo k nárůstu těchto parametrů.

Interferon alfa v dávce 6 mil. jednotek 3× týdně, po čase redukován na 3 miliony jednotek 3× týdně, je dle uvedených parametrů méně účinný než thalidomid, byť příznivý účinek monoterapie interferonem alfa je nesporný.

Při léčbě lenalidomidem (Revlimid) v dávce 10 mg 1.–21. den ve 28denních cyklech došlo k postupnému vzestupu hodnoty D-dimerů a poklesu koncentrace hemoglobinu, z čehož usuzujeme, že lenalidomid (Revlimid) v dávce 10 mg denně má u této nemoci menší efekt než thalidomid 100 mg denně.

Léčba kombinací lenalidomidu (10 mg denně 1.–21. den ve 28denních cyklech) a thalidomidu (v redukováné dávce 50 mg denně) vedla ke stabilizaci nemoci.

Poděkování

Léčba pacienta se uskutečnila za laskavé podpory firmy Celgene s.r.o. z projektu Compassionate Use Program, určeného pro pacienty se vzácnými hematologickými onemocněními.

Literatura

- Haggstrom AN, Drolet BA, Baselga E et al. Hemangioma Investigators Group. Prospective study of infantile hemangiomas: demographic, prenatal and perinatal characteristics. *J Pediatr* 2007; 150(3): 291–294.
- Kalousová J. Komplexní léčba hemangiomatózy jater. *Čes Slov Pediat* 1994; 49(11): 698–699.
- Bláhová K, Mottl M, Tůma S. Hemangiomatóza jater u tříměsíčního kojence. *Čes Slov Pediat* 1991; 46: 434–436.
- Mottl H, Koutecký J, Buncová M et al. Sdružený výskyt preaurikulárního hemangiomu s hemangiomatózou tenkého střeva a mesenteria. *Čes Slov Pediat* 1985; 40: 523–526.
- Mottl H. Teleangiektatický hemangiom: Difúzní hemangiomatóza mesenteria a střeva. *Čes Slov Pediat* 1985; 40: 523–526.
- Srbová J. Hemangiomatóza. *Sestra* 2005; 15(1): 46.
- Langner C, Thonhofer R, Hagenbarth K et al. Diffuse Hämangiomatose von Leber und Milz bei Erwachsenen. *Pathologie* 2001; 22(6): 424–428.
- Ito K, Ichiki T, Ohi K et al. Pulmonary capillary hemangiomatosis with severe pulmonary hypertension. *Circ J* 2003; 67(9): 793–795.
- Kawasaki K, Ito T, Tsuchiya T et al. Is angiomatosis an intrinsic pathohistological features of massive osteolysis? Report of an autopsy case and review of the literature. *Virchows Arch* 2003; 442(4): 400–406.
- Dufau JP, Tournau A, Audouin J et al. Isolated diffuse hemangiomatosis of the spleen with Kasabach-Merritt-like syndrome. *Histopathology* 1999; 35(4): 337–344.
- Kairi-Vassilatou E, Grapsa D, Kontogianni-Katsarou K et al. Clinicopathological features of unusual vascular lesions of the pelvis, retroperitoneum and colon in females: a report of five cases and review of the literature. *Eur J Gynaecol Oncol* 2006; 27(3): 250–255.
- Bölke E, Gripp S, Peiper M et al. Multifocal epithelia hemangioendotelioma: a case report of a clinical chemelion. *Eur J Med Res* 2006; 11: 1–15.
- Marinis A, Kairi E, Theodosopoulos T et al. Right colon and liver hemangiomatosis: a case report and review of literature. *World J Gastroenterol* 2006; 12(39): 6405–6407.
- Moon WS, Yy HC, Lee JM et al. Diffuse hepatic hemangiomatosis in an adult. *J Korean Med Sci* 2000; 15(4): 471–474.
- Blatný J, Štěrba J, Magnová O. Léčba život ohrožujícího krvácení u kojence s hemangiomatózou a s projevy Kasabach-Merrittové pomoci rekombinantního faktoru VIIA. *Čes Slov Pediat* 2002; 57(7): 401–402.
- Werner JA, Eivazi B, Folz BJ et al. State of the Art zur Klassifikation, Diagnostik und Therapie von zervikofazialen Hämangiomen und vaskulären Malformationen. *Laryngorhinootologie* 2006; 85(12): 883–891.
- Neuman J, Rosioreanu A, Schuss A et al. Radiology-pathology conference: sclerosing hemangioma of the lung. *Clin Imaging* 2006; 30(6): 409–412.
- Levy AD, Abbott RM, Rohrmann CA Jr et al. Gastrointestinal hemangiomas: imaging findings pathologic correlation in pediatric and adult patients. *AJR Am J Roentgenol* 2001; 177(5): 1073–1081.
- Scafidi DE, McLeary MS, Young LW. Diffuse neonatal gastrointestinal hemangiomatosis: CT finding. *Pediatr Radiol* 1998; 28(7): 512–514.
- Hsu RM, Horton KM, Fishman EK. Diffuse cavernous hemangiomatosis of the colon: findings on three-dimensional CT colonography. *AJR Am J Roentgenol* 2002; 179(4): 1042–1044.
- Djouhri A, Arrivé L, Bours T et al. Diffuse cavernous hemangioma of the rectosigmoid colon: imaging findings. *J Comput Assist Tomogr* 1998; 22(6): 851–855.
- Lyon DG, Mantia AG. Large-bowel hemangiomas. *Dis Colon Rectum* 1984; 27(6): 404–414.
- Weiss SW, Goldblum JR. *Enzinger and Weiss's Soft Tissue Tumors*. 4th ed. Philadelphia, PA: Mosby 2001: 891–914.
- Bank ER, Hernandez RJ, Byrne WJ. Gastrointestinal hemangiomatosis in children: demonstration with CT. *Radiology* 1987; 165(3): 657–658.
- Park DD, Ricketts RR. Infantile gastrointestinal hemangioma as a cause of chronic anemia. *South Med J* 1992; 85(2): 201–203.
- Caseiro-Alves F, Brito J, Araujo AE et al. Liver haemangioma: common and uncommon findings and how to improve the differential diagnosis. *Eur Radiol* 2007; 17(6): 1544–1554.
- Goodman P, Dominguez R, Castillo M. Diffuse neonatal hemangiomatosis: imaging finding in two patients. *Comput Med Imaging Graph* 1992; 16(2): 117–120.
- Lin CH, Hsieh HF, Yy JC et al. Spontaneous rupture of a large exogastric hemangioma complicated by hemoperitoneum and sepsis. *J Formos Med Assoc* 2006; 105(12): 1027–1030.
- Mulliken JB, Boon LM, Takahashi et al. Pharmacologic therapy for endangering hemangiomas. *Curr Opin Dermatol* 1995; 2: 109–113.
- Hasan Q, Tan ST, Gush J et al. Steroid therapy of a proliferating hemangioma: histochemical and molecular changes. *Pediatrics* 2000; 105(1 Pt 1): 117–120.
- Uysal KM, Olgun N, Erbay A et al. High-dose oral methylprednisolone therapy in childhood hemangiomas. *Pediatr Hematol Oncol* 2001; 18(5): 325–341.
- Hurvitz SA, Hurvitz CH, Sloninsky L et al. Successful treatment with cyclophosphamide of life-threatening diffuse hemangiomatosis involving the liver. *J Pediatr Hematol Oncol* 2000; 22(6): 527–532.
- Gottschling S, Schneider G, Meyer S et al. Two infants with life-threatening diffuse neonatal hemangiomatosis treated with cyclophosphamide. *Pediatr Blood Cancer* 2006; 46(2): 239–242.
- White CW. Treatment of hemangiomatosis with recombinant interferon alpha. *Semin Hematol* 1990; 27 (3 Suppl 4): 15–22.
- Takahashi A, Ogawa C, Kanazawa T et al. Remission induced by interferon alpha in a patient with massive osteolysis and extension of lymph-hemangiomatosis: a severe case of Gorham-Stout syndrome. *J Pediatr Surg* 2005; 40(3): E47–E50.
- Nevolová P, Bláhová K, Kabelka Z. Úspěchy léčby rozsáhlé hemangiomatózy u 17měsíčního dítěte po podání interferonu alfa. *Ref Výběr Dermatovenereol* 1996; 2: 83.
- Harper L, Michael JL, Enjolras O et al. Successful management of a retroperitoneal kaposiform hemangioendothelioma with Kasabach-Merritt phenomenon using alpha-interferon. *Eur J Pediatr Surg* 2006; 16(5): 369–372.
- D'Amato RJ, Loughnan MS, Flynn E et al. Thalidomide is an inhibitor of angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91(9): 4082–4085.
- Kenyon BM, Browne F, D'Amato RJ. Effects of thalidomide and related metabolites in a mouse corneal model of neovascularization. *Exp Eye Res* 1997; 64(6): 971–978.
- Or R, Feferman R, Shoshan S. Thalidomide reduces vascular density in granulation tissue of subcutaneously implanted polyvinyl alcohol sponges in guinea pigs. *Exp Hematol* 1998; 26(3): 217–221.
- Bauer KS, Dixon SC, Figg WD. Inhibition of angiogenesis by thalidomide requires metabolic activation, which is species dependent. *Biochem Pharmacol* 1998; 55(11): 1827–1834.
- Rajkumar SV, Witzig TE. A review of angiogenesis and antiangiogenic therapy with thalidomide in multiple myeloma. *Cancer Treat Rev* 2000; 26(5): 351–362.
- Vacca A, Scavelli C, Montefusco V et al. Thalidomide downregulates angiogenic genes in bone marrow endothelial cells of patients with active multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2005; 23(23): 5334–5346.
- Ma L, del Soldato P, Wallace JL. Divergent effects of new cyclooxygenase inhibitors on gastric ulcer healing: Shifting the angiogenic balance. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99(20): 13243–13247.
- Masferrer JL, Leahy KM, Koki AT et al. Antiangiogenic and antitumor activities of cyclooxygenase-2 inhibitors. *Cancer Res* 2000; 60(5): 1306–1311.
- Gilheeny SW, Scott RM, Turner C et al. Treatment of Von Hippel Lindau associated hemangioblastoma in pediatric patients with bevacizumab (Avastin). *Neuro-Oncology* 2007; 9(2): Abstract 168.
- Nelson SC, Bostrom BC. Successful use of bevacizumab in life threatening steroid-resistant infantile hepatic hemangioendotelioma. *Pediatr Blood Cancer* 2007; 48: Abstract 611.
- Ramasamy-Karthik Stehen L, Jackie C et al. Bevacizumab for POEMS syndrome. *Blood* 2006; 108(11 part 2): Abstract 366B.

49. Ziemssen F, Voelker M, Inhoffen W et al. Combined treatment of juxtapapillary retinal capillary haemangioma with intravitreal bevacizumab and photodynamic therapy. *Eye* 2007; 21(8): 1125–1126.
50. von Buelow M, Pape S, Hoerauf H. Systemic bevacizumab treatment of a juxtapapillary retinal haemangioma. *Acta Ophthalmol Scand* 2007; 85(1): 114–116.
51. Meyerle CB, Freund KB, Iturralde D et al. Intravitreal bevacizumab (Avastin) for retinal angiomatous proliferation. *Retina* 2007; 27(4): 451–457.
52. Li EC, Davis LE. Zoledronic acid: a new parenteral bisphosphonate. *Clin Ther* 2003; 25(11): 2669–2708.
53. Wood JM, Bonjean K, Ruetz S et al. Novel antiangiogenic effects of the bisphosphonate compound zoledronic acid. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; 302(3): 1055–1061.
54. Hasmim M, Bieler G, Rüegg C. Zoledronate inhibits endothelial cell adhesion, migration and survival through the suppression of multiple, prenylation-dependent signaling pathways. *J Thromb Haemost* 2007; 5(1): 166–173.
55. Bellahcène A, Chaplet M, Bonjean K et al. Zoledronate inhibits alphavbeta3 and alphavbeta5 integrin cell surface expression in endothelial cells. *Endothelium* 2007; 14(2): 123–130.
56. Giraudo E, Inoue M, Hanahan D. An amino-bisphosphonate targets MMP-9-expressing macrophages and angiogenesis to impair cervical carcinogenesis. *J Clin Invest* 2004; 114(5): 623–633.
57. Croucher PJ, De Hendrik R, Perry MJ et al. Zoledronic acid treatment of ST2MM-bearing mice inhibits the development of myeloma bone disease: evidence for decreased osteolysis, tumor burden and angiogenesis, and increased survival. *J Bone Miner Res* 2003; 18(3): 482–492.
58. Fournier P, Boissier S, Filleul S et al. Bisphosphonates inhibit angiogenesis in vitro and testosterone-stimulated vascular regrowth in the ventral prostate in castrated rats. *Cancer Res* 2002; 62(22): 6538–6544.
59. Adam Z, Ševčík P, Vorlíček J et al. Kostní nádorová choroba. Praha: Grada 2004.
60. Wood J, Bonjean K, Ruetz S et al. Novel antiangiogenic effects of the bisphosphonate compound zoledronic acid. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; 302(3): 1055–1061.
61. Loo WJ, Lanigan SW. Recent advances in laser therapy for the treatment of cutaneous vascular disorders. *Lasers Med Sci* 2002; 17(1): 9–12.
62. Winter H, Dräger E, Sterry W. Sclerotherapy for treatment of hemangiomas. *Dermatol Surg* 2000; 26(2): 105–108.
63. Geh JL, Geh VS, Jemec B et al. Surgical treatment of periocular hemangiomas: a single-center experience. *Plast Reconstr Surg* 2007; 119(5): 1553–1562.
64. Heidt J, Langers AM, van der Meer FJ et al. Thalidomide as treatment for digestive tract angiodysplasias. *Neth J Med* 2006; 64(11): 425–428.
65. Bowcock SJ, Patrick HE. Lenalidomide to control gastrointestinal bleeding in hereditary haemorrhagic telangiectasia: potential implications for angiodysplasias? *Br J Haematol* 2009; 146(2): 220–222.
66. Sumrall A, Fredericks R, Berthold A et al. Lenalidomide stops progression of multifocal epithelioid hemangioendothelioma including intracranial disease. *J Neurooncol* 2010; 97(2): 275–277.
67. Kim LH, Hogeling M, Wargon O et al. S. Propranolol: useful therapeutic agent for the treatment of ulcerated infantile hemangiomas. *J Pediatr Surg* 2011; 46(4): 759–763.
68. Cushing SL, Boucek RJ, Manning SC et al. Initial experience with a multidisciplinary strategy for initiation of propranolol therapy for infantile hemangiomas. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2011; 144(1): 78–84.
69. Erbay A, Sarialioglu F, Malbora B et al. Propranolol for infantile hemangiomas: a preliminary report on efficacy and safety in very low birth weight infants. *Turk J Pediatr* 2010; 52(5): 450–456.
70. Bonanno C, Paccanaro M, Fontanelli A. Propranolol for severe hemangioma of infancy. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)* 2011; 12(1): 73.
71. Jadhav VM, Tolat SN. Dramatic response of propranolol in hemangioma: report of two cases. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2010; 76(6): 691–694.
72. Arneja JS, Pappas PN, Shwayder TA et al. Management of complicated facial hemangiomas with beta-blocker (propranolol) therapy. *Plast Reconstr Surg* 2010; 126(3): 889–895.
73. Holmes WJ, Mishra A, Gorst C et al. Propranolol as first-line treatment for rapidly proliferating infantile haemangiomas. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2011; 64(4): 445–451.
74. Truong MT, Perkins JA, Messner AH et al. Propranolol for the treatment of airway hemangiomas: a case series and treatment algorithm. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2010; 74(9): 1043–1048.
75. Mazereeuw-Hautier J, Hoeger PH, Benlahrech S et al. Efficacy of propranolol in hepatic infantile hemangiomas with diffuse neonatal hemangiomatosis. *J Pediatr* 2010; 157(2): 340–342.
76. Vanlander A, Decaluwe W, Vandelandotte M et al. Propranolol as a novel treatment for congenital visceral haemangioma. *Neonatology* 2010; 98(3): 229–231.
77. Löffler H, Kosel C, Cremer H et al. Propranolol therapy to treat problematic hemangiomas: a new standard therapy makes its debut. *Hautarzt* 2009; 60(12): 1013–1016.
78. Lawley LP, Siegfried E, Todd JL. Propranolol treatment for hemangioma of infancy: risks and recommendations. *Pediatr Dermatol* 2009; 26(5): 610–614.
79. Mihál V, Novák Z, Hůlková E et al. Kdy je indikována léčba infantilních hemangiomů propranololem? *Pediatr Praxi* 2011; 12(2): 108–110.
80. Mihál V, Michálková K, Novák Z. Kapilární hemangiom sleziny. *Pediatr praxi* 2003; 4: 214–216.
81. Justová E, Pazdera J, Michál V. Systémové terapie interferonem u nemocných s nádory z vazoformní tkáně a infantilní fibromatózy. *Čes Slov Pediatr* 1998; 143(2): 53–55.
82. Justová E, Mihál V, Pazdera J. Sklerotizace v terapii nádorů z vazoformativní tkáně. *Pediatr Praxi* 2007; 3: 173–175.

Nové možnosti vzdělávání českých chirurgů v onkochirurgii

Duda M.¹, Ryska M.², Antoš F.³, Žaloudík J.⁴

¹ II. chirurgická klinika, LF UP a FN Olomouc

² Chirurgická klinika, 1. LF UK a ÚVN Praha

³ Chirurgická klinika, 1. LF UK a FN Na Bulovce Praha

⁴ Lékařská fakulta MU, Brno

Tímto sdělením chceme informovat o novém vzdělávacím programu v oboru chirurgické onkologie (onkochirurgie) v České republice, který od roku 2011 umožňuje chirurgům získat v této oblasti oficiální specializaci.

Cílem specializačního vzdělávání je získat vysokou kvalifikaci pro léčbu solidních nádorů. Předpokládá to splnění následujících požadavků:

- zvládnutí teoretických základů oboru onkologie a základních principů diagnostiky nádorových chorob,
- zvládnutí multidisciplinárního přístupu v léčbě nádorových onemocnění a seznámení se se základy chemoterapie a radioterapie s důrazem na moderní zásady neo- a adjuvantní léčby,
- ovládat indikační kritéria radikální i paliativní chirurgické léčby, indikační kritéria miniinvasivních postupů a znalost principů léčby i u hraničících oborů, jako je intervenční radiologie a endoskopie,
- ovládat samostatně prakticky všechny typy onkochirurgických operací v oblasti chirurgie, kterou se onkochirurg zabývá, včetně miniinvasivních endoskopických technik; v oblastech onkochirurgie, které nejsou předmětem jeho pravidelné pracovní náplně, zvládnout principy této léčby,
- ovládat základy vědecké práce a pravidla pro vedení odborných diskuzí a seznámit se s potřebnou zdravotnickou legislativou,
- podílet se na odborné výchově a dalším vzdělávání spolupracovníků, být schopen podílet se na koordinaci a řízení interdisciplinárních týmů.

Pracovní skupina členů výboru České chirurgické společnosti a výboru sekce Onkochirurgie České onkologické společnosti vycházela při vytváření tohoto programu ze zahraničních zkušeností s touto specializací v Evropě a USA [1–4] a z vlastní dlouholeté praxe v onkochirurgii [5–7]. Zpracovaný materiál byl podroben diskuzi a upraven podle připomínek, které zazněly na výboru České chirurgické společnosti.

V současnosti vystupuje stále více do popředí snaha o dosažení maximální kvality v poskytování diagnostické a léčebné péče a zlepšování výsledků v chirurgii. Je nezbytnou nutností sledovat a kontrolovat kvalitu péče a dosažené výsledky. Řada studií prokazuje, zvláště pak u složitějších operací, že kvalita a výsledky se zlepšují úměrně s počtem prováděných operací. Tento princip „high volume hospitals“ vede k nutnosti soustřeďovat specializovanou onkochirurgii do větších center [8]. Tato tendence se postupně začíná prosazovat i u nás. Jednoznačně se již prosadila v oblasti specializované medikamentózní léčby a aktinoterapie vytvořením onkologických center v ČR, kam se soustřeďuje péče o nejzávažnější onkologické pacienty [9]. Nepochybně se tak bude zmenšovat proti současnosti i počet chirurgických pracovišť, kde se budou operovat onkologičtí nemocní, a bude docházet k jejich větší koncentraci ve smyslu principu „high volume hospitals“. Bude tak přibývat chirurgů, jejichž převažující pracovní náplní se stane péče o onkochirurgické pacienty. Z toho vyplývá naléhavá potřeba vyšší specializace v onkochirurgii.



prof. MUDr. Miloslav Duda, DrSc.

II. chirurgická klinika

LF UP a FN Olomouc

I. P. Pavlova 6

775 20 Olomouc

e-mail: miloslavduda@klikni.cz

Obdrženo/Submitted: 8. 1. 2012

Navrhovaný vzdělávací program v oboru chirurgické onkologie (onkochirurgie) je koncipován jako nadstavbová specializace všeobecné chirurgie, jejímž cílem je získat vysokou kvalifikaci pro léčbu solidních nádorů. Doba školení je 3 roky a je zaměřena na získání teoretických a klinických poznatků o nádorových onemocněních. Samozřejmě, že při dnešním stupni specializace nemůže existovat univerzální onkochirurg, který by zvládl operace všech solidních nádorů. V průběhu školení v onkochirurgii se požaduje získání širokého teoretického základu v onkochirurgii a znalostí a praktických zkušeností v samostatném provedení komplexu onkochirurgických operací v rozsahu specializace školenice. Cílem školení je získání zkušeností v diagnostických postupech, v provedení radikálních či paliativních resekčních nádorů, lymfadenektomii a důležitých paliativních postupech. Počet operací není přesně určen, ale doporučuje se počet potřebný k získání dostatečných potřebných zkušeností.

Doporučuje se nejméně 120 onkochirurgických operací. K průkazu potřebných zkušeností musí školenec dosáhnout nejméně 180 bodů. Užívá se tohoto skórovacího systému:

- asistence u velké onkochirurgické operace – 1 bod,
- provedení velké chirurgické operace – 2 body,
- asistence mladšímu chirurgovi u velké onkochirurgické operace – 3 body.

Nejméně polovina ze 120 operací musí být provedena školencem. Operace musí být dokumentovány v záznamu o průběhu školení, tzv. „logbook“.

Požadavky na získání praktických zkušeností je možno rozdělit do následujících modulů a školenc musí získat praktické zkušenosti nejméně z jednoho modulu. Pokud praxe zahrnuje více modulů, nejméně 80 % získaných bodů musí být z jednoho modulu:

- melanomy a sarkomy,
- gastrointestinální chirurgie,

- endokrinní chirurgie,
- chirurgie prsu,
- hrudní chirurgie.

Závěr

Zpracovaný návrh vzdělávacího programu v oboru chirurgické onkologie (onkochirurgie) v České republice byl koncem roku 2008 předán na MZ ČR a po schválení akreditační komise vešel v platnost vydáním ve Věstníku Ministerstva zdravotnictví ČR, ročník 2011, částka 6, vydaném 29. 6. 2011. Postgraduální vzdělání chirurgů v onkochirurgii bude probíhat na pracovištích akreditovaných pro onkochirurgii a organizačně ho bude zajišťovat nově vzniklá subkatedra onkochirurgie IPVZ Praha, kam je možno podávat přihlášky o zařazení do oboru onkochirurgie (www.ipvz.cz).

Literatura

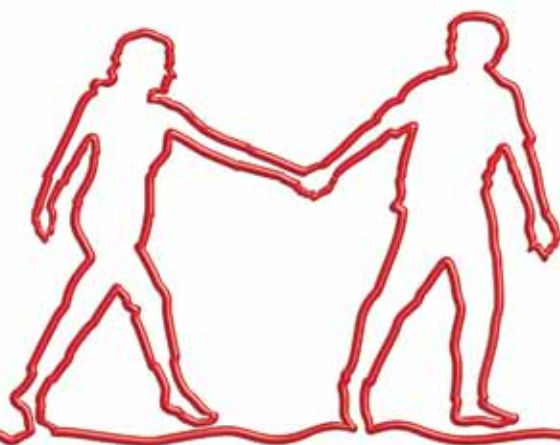
1. Americká chirurgická společnost, sekce pro onkochirurgii (American College of Surgeons Oncology Group – ACOSOG). Dostupné na: www.fasc.org.
2. Evropská společnost pro onkochirurgii (European Society of Surgical Oncology – ESSO). Dostupné na: www.esso-surgeonline.be.
3. Becker HD, Hohenberg W, Junginger T et al. Chirurgická onkologie. Praha: Grada Publishing 2005.
4. Sabel MS, Diehl KM, Chang AE. Principles of Surgical Therapy in Oncology. In: Chang AE, Ganz PA, Hayes DF et al (eds). Oncology: An evidence-Based Approach. Berlin, Heidelberg, New York: Springer 2006.
5. Duda M, Žaloudík J, Ryska M et al. Surgical Oncology. In: Dusek L et al (eds). Czech cancer care in number 2008–2009. Praha: Grada Publishing 2009: 283–291.
6. Duda M, Žaloudík J, Ryska M et al. Chirurgická léčba solidních nádorů v České republice. Rozhl Chir 2010; 89(10): 588–593.
7. Duda M, Ryska M, Žaloudík J. Specializace v chirurgické onkologii v České republice. Rozhl Chir 2010; 89(10): 619–624.
8. Siewert JR, Siewert MA. High Volume Hospital. Über den Zusammenhang von Fallzahlen und Ergebnisqualität in der Chirurgie. Chirurg 2003; 74: 278–281.
9. Síť onkologické péče v České republice. Věstník Ministerstva zdravotnictví České republiky. Částka 6, srpen 2006.

ERRATUM

Erratum

V Klin Onkol 2011; 24(6) bylo ve článku Antovska S. V. et al. Predictive Values of the Ultrasound Parameters, C-125 and Risk of Malignancy Index in Patients with Ovarian Cancer chybně uvedeno jméno spoluautorky. Správné jméno spoluautorky zní **Basheska N.**

A 3D ribbon diagram of a protein structure, colored red, set against a blue background. The protein is a complex, multi-domain molecule with numerous loops and turns, suggesting a highly flexible or dynamic structure. The ribbon representation highlights the continuous backbone of the polypeptide chain. The blue background is a soft, out-of-focus gradient, providing a clear contrast for the red protein structure.



Přesně zacílená inhibice VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) prokazatelně prodlužuje přežití nemocných u řady nádorových onemocnění.

**Avastin je možné podávat v Komplexních onkologických centrech.
Jejich síť je popsána na www.onconet.cz**

Od 1. 3. 2010 je Avastin hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění pro indikace kolorektální karcinom, karcinom prsu, nemalobuněčný plicní karcinom a karcinom ledviny (podmínky úhrady jsou uvedeny na www.sukl.cz)

AVASTIN
bevacizumab
Leading angiogenesis
inhibition

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

Účinná látka: bevacizumabum. **Držiteľ rozhodnutí o registrácii:** Roche Registration Limited, Veľká Británie, Registrační čísla: EU/1/04/300/001-002.

Indikace: Terapie metastazujícího karcinomu tlustého střeva nebo rektu v kombinaci s chemoterapeutickým režimem obsahujícím fluoropyrimidin. Avastin v kombinaci s paklitaxelem je indikován jako léčba první linie u nemocných s metastazujícím karcinomem prsu. Avastin v kombinaci s kapcitabinem je indikován k první linii léčby nemocných s metastazujícím karcinomem prsu, u kterých se léčba jinou možnou chemoterapií, včetně antracyklinů a taxanů, nepovažuje za vhodnou. Nemocní, kteří byli v posledních 12 měsících léčeni režimem obsahujícím taxan a antracyklin v adjuvantním podání nemají být léčeni kombinací Avastin + kapcitabin. Avastin přidáný k chemoterapeutickému režimu s platinou je indikován k léčbě první linie nemocných s neresekabilním pokročilým, metastatickým nebo rekurentním nemalobuněčným plicním karcinomem jiného histologického typu, než predominantně z dlaždicových buněk. Avastin v kombinaci s interferonem alfa-2a je indikován jako léčba první linie u nemocných s pokročilým a/nebo metastazujícím karcinomem ledviny. Avastin v kombinaci s karboplatinou a paklitaxelem je indikován k úvodní léčbě pokročilého (stádia III B, III C a IV dle FIGO) epitelového nádoru vaječníků, jevcovodu nebo primárního nádoru pobřišnice. **Kontraindikace:** Přecitlivělost na léčivo.

ovu látku nebo jakoukoli pomocnou látku přípravku, na látky produkované ovariálními buňkami čínských křečků nebo na jiné rekombinantní lidské nebo humanizované protilátky. Těhotenství. **Upozornění:** Zvýšená pozornost u pacientů s intraabdominálním zánětlivým procesem (zvýšené riziko vzniku peritace a píštěle GIT), po operaci (možné komplikace při hojení ran), s nekontrolovanou hypertenzí (riziko hypertenzní krize a proteinurie), ve věku nad 65 let (zvýšené riziko vzniku arteriálních tromboembolických příhod), u pacientů s kongenitální hemoragickou diatézou, získanou koagulopatií nebo u pacientů léčených plnou dávkou antikoagulancií k léčbě tromboembolismu před zahájením léčby Avastinem. V případě vzniku tracheosofageální píštěle nebo jakékoli píštěle 4 stupně trvale ukončit léčbu. Ukončení léčby zvažít v případě vnitřní píštěle mimo trvale GIT. V ojedinělých případech riziko vzniku reakce na infuzi/hypersenzitivní reakce. Nežádoucí účinky (některé z nich se jeví jako závažné) byly hlášeny při užití v neregistrovaném nitrožilném podání. **Klinicky významné interakce:** Bevacizumab neovlivňuje v klinicky závažném rozsahu farmakokinetiku 5-fluorouracilu, karboplatiny, paklitaxelu a doxorubicinu. U některých pacientů léčených kombinací bevacizumabu a sunitinib malátu byla hlášena mikroangiopatická hemolytická anémie (MAHA). **Hlavní klinicky významné nežádoucí účinky** (u pacientů léčených jak v monoterapii, tak v kombinaci s chemoterapií): Nejzávažnější pozorované nežádoucí účinky – gastrointestinální peritace, píštěle, hemoragie, arteriální a žilní trombo-

embolismus, syndrom reverzibilní zadní leukoencefalopatie, proteinurie, osteonekroza čelistí. Nejčastější nežádoucí účinky - astenie, průjem, dysfagie, nauzea a jasně nespecifikované bolesti, selhání vaječníků, ve většině případů reversibilní. Dávkování a způsob podání – Obecná doporučení: První dávka Avastinu by měla být podávána během 90 minut ve formě nitrožilní infuze. Jestliže je první infuze dobře snášena, druhou infuze může být podávána během 60 minut. Jestliže je dobře snášena infuze podávána během 60 minut, všechny následující infuze mohou být podávány během 30 minut. Nepodávejte jako bolus v nitrožilní injekci nebo bolusovou injekcí. Infuze nesmí být podávány nebo míchány s roztoky glukózy. Snížení dávky při výskytu nežádoucích příhod se nedoporučuje. V případě nutnosti může být léčba buď trvale ukončena, nebo dočasně pozastavena. Doporučené dávkování pro jednotlivé diagnózy: Viz platný Souhrn údajů o přípravku (viz www.sukl.cz). **Dostupná balení přípravku:** 1x100mg bevacizumabu ve 4ml; 1x 400mg bevacizumabu v 16ml koncentrátu pro přípravu infuze. **Podmínky uchování:** Uchovávejte v chladničce (2°C-8°C). Chraňte před mrazem. Uchovávejte injekční lahvičku v krabici, aby byl přípravek chráněn před světlem. **Datum poslední revize textu:** 19. 12. 2011. **Výdej léčivé formy** je vázán na lékařský předpis. **Léčivý přípravek je hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění. Podmínky úhrady viz www.SUKL.cz.** Další informace získáte na adrese Roche s.r.o., Dukelských hrdinů 52, 170 00 Praha 7, tel. 220 382 111.

Raudenská J., Javůrková A.

Lékařská psychologie ve zdravotnictví

Praha: Grada 2011. 304 s. ISBN 978-80-247-2223-8.

Dvě klinické psychologičky, Jaroslava Raudenská a Alena Javůrková, vydaly v nakladatelství Grada společně knihu s názvem Lékařská psychologie ve zdravotnictví. Na zadní straně přebalu je uvedeno, že je určená především lékařům a medikům. Je jistě zbytečné nějak zvláště zdůrazňovat, jak hodně je psychologie ve zdravotnictví třeba. Všichni to známe z vlastní patientské zkušenosti – vždyť jde o naše zdraví, další kvalitu života; jak tedy do slova neviset na rtech lékaře, zdravotní sestry, jak nebýt až nadměrně vnímavý, jestli si nás dostatečně všímají, jestli lékař nezůstane sedět a bude jen sledovat počítač, jestli vstane a podá nám ruku, usměje se a bude se zajímat o nás jako o člověka a nejen jako o objekt. O zdravotních sestrách to platí naprosto stejně... Už jen proto je každá psychologická edukace ve zdravotnictví potřebná a vítaná.

Autorky pochopitelně nezůstávají u nějakých obecně proklamativních (byť eticky podložených) postojů. Pod supervizím okem nejvýše kvalifikovaných recenzentů (prof. MUDr. Ján Praško a doc. PhDr. Jana Kocourková) sestavily publikaci z řady jednotlivých kapitol, z nichž každá je ucelená, srozumitelně členěná a zakončená shrnutím, závěrem, česko-anglickým slovníčkem pojmů, kontrolními otázkami (ano, kniha je zamýšlena i jako učební text!) a bohatým seznamem relevantní literatury. Tuto strukturu má i úvod práce.

Podívejme se ale na obsah práce. Jde o devět kapitol rozdělených do tří částí

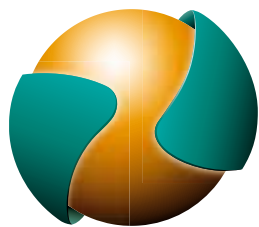
knihy. První část je obecná (a je také tak nazvaná). A již její první kapitola, Celostní péče o pacienta, vytyčuje zásadní způsob uvažování. Autorky procházejí složitostmi vztahu psychiky a těla, vzájemnou podmíněnost těchto složek naší celistvosti definují základní zúčastněné disciplíny, přibližují uvažování v psychosociálním a biopsychosociálním modelu atd. Čtenář si tak může uvědomit, že moderní medicína se ocitá ve dvojí zvláštní pozici: na jedné straně jsme svědky vydělování dílčích oborů a specializací (a s přibývajícimi poznatky a technickou oporou to vlastně ani jinak nejde) a na straně druhé je medicína tlačena k syntetickému, komplexnímu uvažování nad vznikem nemocí a jejich terapií, nad posilováním zdraví v jeho biologickém, psychologickém i sociálním chápání. Člověk nebývá nemocen jako „v celku“; některé orgány, funkce, schopnosti a dovednosti jsou mnohdy zablokované, tak či onak postižené, ale souběžně je zde řada dalších oblastí života, které jsou v normě a jejichž rozvoj může být podstatný pro kvalitu života daného člověka. Druhá kapitola je značně hlubokou sondou do souvislostí vnějšího i vnitřního chování s celou pestrou škálou kognitivních procesů. A jestliže si moderní medicína chce stále více všimnout toho, jak člověk žije a jak jeho způsob života souvisí se zdravím (resp. s nemocí), je právě tento behaviorální pohled zcela zásadní. Autorky zde navíc využívají svou zkušenost v oblasti

tzv. kognitivně behaviorální terapie. Z obecné části knihy ještě alespoň upozorním na kvalitně zpracovanou kapitolu o etice lékařské (a dodejme: každé zdravotnické) profese, o nebezpečí syndromu vyhoření apod. Druhá část knihy se již zaměřuje na vybrané oblasti klinické medicíny, konkrétně na otázky bolesti a dále na onkologická a dermatologická onemocnění. A rozumějme: vždy jsou probírané složité vztahy biopsychosociální. Poslední část knihy autorky nazvaly Aplikace lékařské psychologie v multidisciplinárním pojetí léčby. Stručně řečeno, zde je probírán celý zdravotnický tým, jeho složení a spolupráce v zájmu co nejkompaktnější a nejefektivnější intervence.

Čtenář této recenze jistě pochopí, že hlubší záběr by v tuto chvíli již nastílný obraz spíše komplikoval. Celkově lze knize jen popřát, aby našla přemýšlivé čtenáře, kterým má věru hodně co říci, a aby jim pomáhala v rozvoji dostatečně širokého, ale stále disciplinovaného myšlení, jak by to snad vyjádřil slavný lékař Eugen Bleuler.

Na závěr však ještě jedna poznámka: přes veškerou snahu obou autorek se nelze domnívat, že by kniha, byť sebepovedenější, mohla nahradit dlouhodobé a systematické trénování takového komplexního myšlení pod dohledem zkušených a moudrých učitelů. A jedině v této kombinaci kniha splní svůj účel.

doc. PhDr. Jiří Šípek, CSc., Ph.D.



EXJADE®

deferasiroxum

ÚČINNÁ CHELATAČNÍ LÉČBA¹

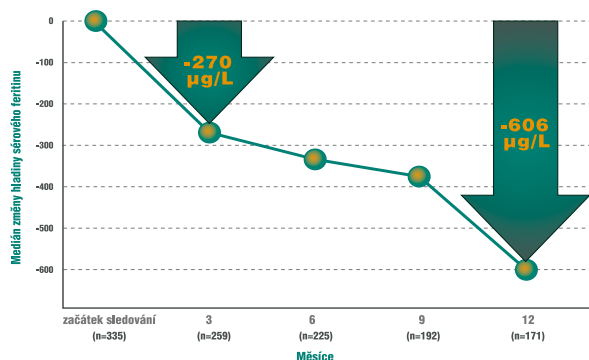
- SNÍŽENÍ HLADINY FERITINU V SÉRU JIŽ PO 3 MĚSÍCÍCH LÉČBY²
- INDIKOVANÝ TAKÉ U VHODNÝCH PACIENTŮ S MDS³
- SNADNÉ DÁVKOVÁNÍ¹

¹ SPC přípravku Exjade

² Norbert Gattermann, et al.; Deferasirox in iron-overloaded patients with transfusion-dependent myelodysplastic syndromes: Results from the large 1-year EPIC study, *Leukemia Research* 34 (2010) 1143 – 1150

³ Chronické přetížení organismu železem způsobené transfuzemi krve, kde je léčba deferoxaminem kontraindikována nebo nevhodná u pacientů se získanou anémií s myelodysplastickým syndromem s nízkým či středním – 1 rizikem dle IPSS¹

EXJADE - časně snížení hladiny feritinu se prohlubuje s dobou léčby²



EXJADE® 125 mg tablety pro přípravu perorální suspenze
EXJADE® 250 mg tablety pro přípravu perorální suspenze
EXJADE® 500 mg tablety pro přípravu perorální suspenze

Složení: Léčivá látka: Deferasiroxum 125 mg, 250 mg nebo 500 mg.

Indikace: Chronické přetížení organismu železem způsobené transfuzemi krve u pacientů s beta-talasiemií major. Chronické přetížení organismu železem způsobené transfuzemi krve, kde je léčba deferoxaminem kontraindikována nebo nevhodná u pacientů s jinými typy anemií.

Dávkování: Doporučená úvodní denní dávka je 20 mg/kg tělesné hmotnosti. Lze zvážit dávku 30 mg/kg u pacientů dostávajících 14 ml/kg/měsíc erytrocytární masy (>4 jednotky/měsíc) a s potřebou snížit hladinu železa v organismu. Lze zvážit dávku 10 mg/kg u pacientů, kteří dostávají <7 ml/kg/měsíc erytrocytární masy (<2 jednotky/měsíc) a kteří nepotřebují snížit zvýšenou hladinu železa v organismu. U pacientů již úspěšně léčených deferoxaminem lze stanovit úvodní dávku jako numerickou polovinu dávky deferoxaminu. Doporučuje se měsíčně monitorovat hladinu feritinu v séru a udržovací dávku postupně upravovat každý 3. až 6. měsíc podle výsledku o 5 až 10 mg/kg. U pacientů nedostatečně léčených dávkami 30 mg/kg (např. hladiny sérového feritinu přetrvávají nad hodnotou 2 500 µg/L a nevykazují klesající trend během léčby) mohou být zvážovány dávky do 40 mg/kg. Udržovací dávky vyšší než 40 mg/kg se nedoporučují. Při poklesu hladiny sérového feritinu pod 500 µg/L se léčba přerušuje. Tablety se užívají jednou denně nalačno, 30 minut před jídlem, rozmíchané ve vodě nebo džusu. U starších pacientů není nutná úprava dávek, nicméně během léčby by měly být pozorně sledovány nežádoucí účinky, které mohou vyžadovat změnu dávkování. U dětí ve věku od 2 do 17 let není nutná úprava dávkování. Bezpečnost a účinnost u dětí od narození do 23 měsíců nebyla dosud stanovena.

* U pacientů s těžkým poškozením funkce jater se Exjade nedoporučuje. U pacientů se středně těžkým poškozením funkce jater (Child-Pugh třída B) má být dávka výrazně snížena s následným postupným zvyšováním do výše 50 %. * Jaterní funkce musejí být monitorovány před léčbou, každé 2 týdny během prvního měsíce léčby a potom každý měsíc.

Kontraindikace: Hypersenzitivita na léčivou látku nebo kteroukoli pomocnou látku přípravku. Kombinace s jinými chelátory železa. Pacienti s clearance kreatininu <60 ml/min.

Zvláštní upozornění: Sérovy kreatinin, clearance kreatininu je nutno stanovit před zahájením léčby a monitorovat každý týden první měsíc léčby nebo po změně dávky, poté jednou měsíčně. Dávku lze snížit o 10 mg/kg, pokud sérový kreatinin stoupne >33 % nad průměr před zahájením léčby a/nebo clearance kreatininu klesne pod spodní limit normálu. V některých případech po uvedení přípravku na trh vedlo zhoršení funkce ledvin k jejich selhání, které vyžadovalo přechodnou nebo trvalou potřebu dialýzy. Pokud je po snížení dávky pozorováno zvyšování sérového kreatininu a/pokles clearance kreatininu, je nutno léčbu přerušit. Renální tubulopatie byla hlášena především u dětí a dospívajících s beta-talasiemií léčených přípravkem EXJADE. Měsíčně je třeba monitorovat proteinurii. Sérové transaminázy, bilirubin a alkalickou fosfatázu je nutno stanovit před zahájením léčby a monitorovat každé dva týdny první měsíc a poté jednou měsíčně. Léčba by měla být přerušena, jestliže zvýšená hladina transamináz v séru přetrvává nebo se dále zvyšuje. Po uvedení přípravku Exjade na trh byly hlášeny případy selhání jater (některé fatální). U pacientů s krátkou očekávanou délkou života (například s vysokou rizikovou myelodysplastickým syndromem), zejména pokud souběžná onemocnění zvyšují riziko nežádoucích účinků, může být prospěch z léčby omezen a může být nižší než riziko. Z těchto důvodů není léčba doporučena. Byl hlášen výskyt vředu a krvácení ze zažívacího traktu u dospělých, dospívajících a dětí. Byla zaznamenána hlášení fatální gastrointestinální hemoragie, především u starších pacientů s hematologickými

mi malignitami a/nebo nízkými počty krevních destiček. Je třeba věnovat pozornost pacientům užívajícím léky s ulcerogenním potenciálem nebo antikoagulační. Současné podávání deferasiroxu a repaglinidu (substrát CYP2C8) nebo substrátů CYP1A2 s úzkým terapeutickým indexem jako je teofylin, klozapin nebo tizanidin není doporučeno. Při výskytu závažné kožní vyrážky se podávání přípravku Exjade přerušuje a po vymizení se léčba obnoví nižší dávkou. Léčbu je třeba ukončit při výskytu závažných reakcí hypersenzitivity. Provádí se pravidelné roční vyšetření sluchu a zraku. Tablety obsahují laktózu. Po uvedení na trh byly hlášeny případy leukopenie, trombocytopenie nebo pancytopenie. Většina pacientů měla poruchy krvetvorby již před léčbou přípravkem Exjade, přispívající vlivu léčby nicméně nelze vyloučit. Při neobjasněné cytopenii by mělo být zváženo přerušení léčby. **Interakce:** Nedoporučuje se podávat společně s antacidy obsahujícími hliník. Biologická dostupnost byla zvýšena, pokud byl užíván spolu s potravou. Užívat nalačno, nejméně 30 minut před jídlem, ve stejné denní době. Zvýšená opatrnost při současném užívání s látkami metabolizovanými s CYP3A4 (cyklosporin, simvastatin, hormonální kontraceptiva), substráty CYP2C8 (repaglinid, paklitaxel), látkami se známým ulcerogenním potenciálem (např. NSA, kortikosteroidy, perorální bisfosfonáty) nebo s antikoagulační. Nelze vyloučit snížení plazmatických hladin při současném podávání se silnými UGT induktory (rifampicin, karbamazepin, fenobarbital, fenytoin, ritonavir).

Těhotenství a kojení: Přípravek se nedoporučuje podávat v průběhu těhotenství, pokud to není nezbytně nutné. V průběhu podávání přípravku se nedoporučuje kojení.

Nežádoucí účinky: **Velmi časté:** zvýšení kreatininu v krvi. **Časté:** bolesti hlavy, průjem, zácpa, zvracení, nauzea, bolest břicha, nadýmání, dyspepsie, zvýšená hladina transamináz, vyrážka, svědění, proteinurie.

Další nežádoucí účinky - viz úplná informace o přípravku.

Podmínky uchovávání: Uchovávejte v původním obalu, aby byl přípravek chráněn před vlhkostí.

Dostupné lékové formy/velikosti balení: 28 tablet.

Poznámka: Dříve než lék předepíšete, přečtěte si pečlivě úplnou informaci o přípravku.

Reg. číslo: Exjade 125 mg – EU/1/06/356/001,

Exjade 250 mg – EU/1/06/356/003;

Exjade 500 mg – EU/1/06/356/005.

Datum registrace: 28.08.2006.

Datum poslední revize textu SPC: 12/2011.

Držitel rozhodnutí o registraci: Novartis

Europarm Limited, Horsham RH12 5AB, Velká

Británie.

Výdej přípravku je vázán na lékařský předpis.

Exjade 500 mg je hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění. Uhrada přípravku Exjade 125 mg a Exjade 250 mg z prostředků veřejného zdravotního pojištění dosud nebyla stanovena.

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

EXJ-001/01/2012

Tematický seznam publikací vydaných v Klinické onkologii v roce 2011

Připomínáme, že na internetových stránkách časopisu Klinická onkologie (www.linkos.cz) je dostupný speciální vyhledávač („Hledání článků“), kterým jednoduše naleznete článek na požadované téma nebo od příslušného autora a který Vámi vyhledané publikace převede přímo do formátu citace (stisknutím příkazu „Vygenerovat seznam literatury“). V databázi jsou všechny publikace vydané v Klinické onkologii od roku 1988. Řada článků přitom obsahuje velmi cenné historické údaje z prostředí české a slovenské onkologie.

Epidemiologie, informační podpora

Novák J, Fabian P. Poznámky k 7. vydání TNM klasifikace zhoubných nádorů. *Klin Onkol* 2011; 24(2): 149–150.
Tobiáš P, Šlampa P, Zycháček M. Informační systémy v radioterapii. *Klin Onkol* 2011; 24(3): 224–230.

Gynekologické malignity

Mikloš P, Babala P, Klačko M et al. Vulvární intraepiteliální neoplázie. *Klin Onkol* 2011; 24(1): 50–53.
Urban P, Bilecová-Rabajdová M, Štefeková Z et al. Přehled potenciálních onkomarkerů detekce skorých fází rakoviny vaječníků. *Klin Onkol* 2011; 24(2): 106–111.
Babala P, Bíró C, Klačko M et al. Angiomyofibroblastóm krčku maternice: kazuistika. *Klin Onkol* 2011; 24(2): 133–136.
Bůžek M. Metastázující choriokarcinóm u 26-ročnej ženy – kazuistika. *Klin Onkol* 2011; 24(2): 137–142.
Antovska SV, Basheska N, Aelksioska N. Prediktivní hodnota ultrazvukových parametrů, CA-125 a indexu rizika malignity u pacientek s karcinomem ovarií. *Klin Onkol* 2011; 24(6): 435–442.
Zvářková, M. Srovnání pegylovaného lipozomálního doxorubicinu a karboplatiny s paklitaxelem a karboplatinou v léčbě pacientek s pozdním relapsem platina-senzitivního karcinomu ovaria. *Klin Onkol* 2011; 24(6): 475–476.

Hematoonkologie, systémová onemocnění

Burešová I, Kyjovská D, Kovářová L et al. Algoritmus separace plazmatických buněk ze vzorků kostní dřeně. *Klin Onkol* 2011; 24(1): 35–40.
Mociková H, Pytlík R, Raida L et al. Léčba pacientů s relabovaným/refraktérním Hodgkinovým lymfomem. *Klin Onkol* 2011; 24(2): 121–125.
Szturz P, Jakubcová R, Adam Z et al. Regrese osteolytického ložiska u pacienta s mnohočetným myelomem léčeného kloridomátem po úspěšné terapii režimem s bortezomibem. *Klin Onkol* 2011; 24(3): 216–220.
Szturz P, Adam Z, Šedivá A et al. Schnitzler-syndrom: diagnostika a léčba. *Klin Onkol* 2011; 24(4): 271–277.
Machálková K, Maisnar V. Využití prokalcitoninu v diferenciální diagnostice febrilií u pacientů s mnohočetným myelomem. *Klin Onkol* 2011; 24(4): 298–301.
Adam Z, Šprláková A, Řehák Z et al. Parciální regrese ložisek Erdheimovy-Chesterovy nemoci v CNS po léčbě 2-chlorodeoxyade-

nosinem a jejich kompletní vymizení při léčbě lenalidomidem. *Klin Onkol* 2011; 24(5): 367–381.

Szturz P, Moulis M, Adam Z et al. Castlemanova choroba. *Klin Onkol* 2011; 24(6): 424–434.

Roziaková L, Bojtárová E, Mistrík M, Mladosičová B. Neskoré následky u pacientů liečených alogénnou transplantáciou kmeňových krvotvorných buniek. *Klin Onkol* 2011; 24(6): 453–459.

Ioannidis O, Sekouli A, Paraskevas G et al. Dlouhodobé sledování pacienta s eozinofilním granulomem žebra. *Klin Onkol* 2011; 24(6): 460–464.

Hájek R, Krejčí M, Pour L et al. Mnohočetný myelom. *Klin Onkol* 2011; 24(Suppl): S10–S13.

Klincová M, Sandecká V, Mikulášová A et al. Monoklonální gamapati nejasného významu: Úvod a současné klinické problémy. *Klin Onkol* 2011; 24(Suppl): S14–S17.

Potáčková A, Štossová J, Burešová I et al. Zpracování vzorků a metodická úskalí ve výzkumu mnohočetného myelomu. *Klin Onkol* 2011; 24(Suppl): S18–S23.

Kovářová L, Varmužová T, Zarbochová P et al. Průtoková cytometrie u monoklonálních gamapatií. *Klin Onkol* 2011; 24(Suppl): S24–S29.

Muthu Raja KR, Kovářová L, Štossová J et al. Fenotypizace a kvantifikace T regulačních lymfocytů u pacientů s mnohočetným myelomem pomocí průtokové cytometrie. *Klin Onkol* 2011; 24(Suppl): S30–S33.

Ševčíková S, Němec P, Pour L et al. Genomika ve výzkumu mnohočetného myelomu. *Klin Onkol* 2011; 24(Suppl): S34–S38.

Almáši M, Ševčíková S, Šváchová H et al. Přínos polymorfizmů pro stanovení rizika významných specifických toxicit u mnohočetného myelomu. *Klin Onkol* 2011; 24(Suppl): S39–S42.

Smetana J, Fröhlich J, Vranová V et al. Využití techniky komparativního genomové hybridizace na oligonukleotidových čípech jako diagnostického nástroje u pacientů s mnohočetným myelomem. *Klin Onkol* 2011; 24(Suppl): S43–S48.

Kryukov F, Dementyeva E, Kuglík P et al. Vizualizace numerických centrozomových abnormalit imunofluorescenčním barvením. *Klin Onkol* 2011; 24(Suppl): S49–S52.

Šváchová H, Kovářová L, Štossová J et al. Význam analýzy nestinu u mnohočetného myelomu. *Klin Onkol* 2011; 24(Suppl): S53–S57.

Nádory CNS

Lakomý R, Fadrus P, Šlampa P et al. Výsledky multimodální léčby glioblastoma multiforme: Konsekutivní série 86 pacientů dia-

gnostikovaných v letech 2003–2009. *Klin Onkol* 2011; 24(2): 112–120.

Novák Z, Chrástina J, Říha I et al. Neuroendoskopická biopsie tumoru mozku. *Klin Onkol* 2011; 24(5): 348–355.

Šlampa P, Bolješková E, Novák Z. Průběh a závěry mezioborového setkání „Winter GLIO TRACK Meeting“ 2011. *Klin Onkol* 2011; 24(2): 152–154.

Nádory kůže a melanom

Bartoš V, Adamcová K, Kullová M et al. Bazocelulární karcinóm kože – biologické správanie nádoru a prehľad najvýznamnejších molekulových ukazovateľov progresie ochorenia v praxi patológa. *Klin Onkol* 2011; 24(1): 8–17.

Vaňásková J, Grim J, Kopecký J et al. High-dose interferon alfa v léčbě pacientů s maligním melanomem, sledování prediktivních a prognostických biomarkerů. *Klin Onkol* 2011; 24(3): 180–186.

Heneberg P. Pokroky v klinické léčbě zhoubného melanomu: inhibice kinázy B-RAF. *Klin Onkol* 2011; 24(4): 256–264.

Nádory plic a pleury

Vojtíšek R, Havránek K, Fínek J. Využití PET/CT vyšetření při plánování radioterapie nemalobuněčných plicních karcinómů. *Klin Onkol* 2011; 24(1): 23–34.

Heneberg P. Zpřesněme indikaci podávání inhibitorů kinázové aktivity EGFR. *Klin Onkol* 2011; 24(2): 87–93.

Nádory prsu

Kubatka P, Žihlavnická K, Kajo K et al. Antineoplastické účinky simvastatinu u experimentální rakoviny prsníka. *Klin Onkol* 2011; 24(1): 41–45.

Rajnohová H, Nový F. Postavení Avastinu v léčbě karcinomu prsu v Evropě a v USA. *Klin Onkol* 2011; 24(1): 56.

Petráková K. Avastin v léčbě karcinomu prsu. *Klin Onkol* 2011; 24(2): 101–105.

Coufal O, Šporcová I, Vrtělová P. Co pacientky potřebují vědět před operací mamárního karcinomu. *Klin Onkol* 2011; 24(5): 343–347.

Überall I, Křížová K, Steigerová J. Cetuximab zvyšuje antiproliferativní účinek trastuzumabu u buněk karcinomu prsu s nadměrnou expresí ERBB2 – předběžná studie. *Klin Onkol* 2011; 24(5): 356–360.

Rovere RK, dos Santos Borges S. HER2 pozitivní T1N0M0 tumor: Čas pro změnu? *Klin Onkol* 2011; 24(6): 478.

Nádory močového traktu a varlat

Ondrusova M, Muzik J, Kliment et al. Incidencia a mortalita na karcinóm prostaty vo vybraných krajinách strednej Európy. *Klin Onkol* 2011; 24(2): 126–132.

Gumulec J, Masařík M, Křížková S et al. Zinek – molekulární mechanismy u karcinomu prostaty. *Klin Onkol* 2011; 24(4): 249–255.

Vodička J, Špidlen V, Šimánek V et al. Možnosti a výsledky chirurgické léčby plicních metastáz světlobuněčného (konvenčního) renálního karcinomu. *Klin Onkol* 2011; 24(4): 293–297.

Vaňásek J, Odrážka K, Doležal M et al. Adaptivní IG-IMRT karcinomu prostaty. *Klin Onkol* 2011; 24(5): 361–366.

Büchler T, Dušek L, Fínek J et al. Výsledky terapie metastatického renálního karcinomu lékem everolimus – analýza údajů z klinického registru RENIS. *Klin Onkol* 2011; 24(5): 389–392.

Büchler T, Šimonová K, Fencí P et al. Pozitronová emisní tomografie v diagnostice a sledování pacientů s neseminomovými germinálními nádory. *Klin Onkol* 2011; 24(6): 413–417.

Nádory zažívací trubice

Lovas P, Lovasová Z. Adjuvanční terapie u karcinomu rekta. *Klin Onkol* 2011; 24(2): 94–100.

Hlavsa J, Procházka V, Kala Z et al. Radiofrekvenční ablace neuroendokrinního nádoru pankreatu. *Klin Onkol* 2011; 24(3): 209–215.

Šlampa P. Předoperační chemoradioterapie v kombinaci s bevacizumabem u karcinomu konečníku. *Klin Onkol* 2011; 24(5): 338–342.

Ondrusova M, Ondrus. Aktuálne charakteristiky deskriptívnej epidemiológie nádorov žalúdka v Slovenskej republike v kontexte medzinárodného porovnania. *Klin Onkol* 2011; 24(6): 447–452.

Němeček R, Vyzula R. Použití chemoterapie v kombinaci s cílenou biologickou léčbou u diseminovaného kolorektálního karcinomu: kazuistika dlouhodobé a výrazné klinické odpovědi. *Klin Onkol* 2011; 24(6): 465–469.

Podpůrná a paliativní léčba

Valentová M, Mladosičová B. Ischemická choroba srdca a hypertenzia ako neskoré následky liečby nádorov testis – prehľad. *Klin Onkol* 2011; 24(1): 18–22.

Jančálek R, Novák Z, Chrástina J et al. Oportunní infekce mozku u pacientů po komplexní terapii nádorového onemocnění. *Klin Onkol* 2011; 24(1): 46–49.

Büchler T. Terapeutická ekvivalence a účinnost přípravku Binocrit® (HX575) u pacientů se symptomatickou anémií navozenou chemoterapií. *Klin Onkol* 2011; 24(2): 147–148.

Brozmanová J. Selén a rakovina: od prevence k léčbě. *Klin Onkol* 2011; 24(3): 171–179.

Bencová V, Bella V, Švec J. Dynamika vývoja psychosociálnej záťaž prežívajúcich pacientok s karcinómom prsníka: klinický úspech s psychosociálnymi dôsledkami. *Klin Onkol* 2011; 24(3): 203–208.

Slováček L, Šimková M, Petera J et al. Může pacient v terminálním stadiu onkologického onemocnění důstojně zemřít doma? A za jakých podmínek? *Klin Onkol* 2011; 24(3): 221–223.

Kabelka L. Paliativní péče v České republice v roce 2011 – několik poznámek. *Klin Onkol* 2011; 24(3): 231–232.

Slováček L, Priester P, Kopecký J et al. Paliativní onkologická péče v systému poskytování zdravotní péče v Královéhradeckém kraji: vlastní zkušenosti. *Klin Onkol* 2011; 24(4): 265–270.

Vokurka S. Mukozitida dutiny ústní a faryngu – možnosti ovlivnění bolesti. *Klin Onkol* 2011; 24(4): 278–280.

Kessler P, Pour L, Gregora E, Zemanova M et al, for the Czech Myeloma Group. Nízkomolekulární hepariny v tromboprofylaxi během indukční chemoterapie u pacientů s mnohočetným myelomem. *Klin Onkol* 2011; 24(4): 281–286.

Světlák M, Suchý A. Psychologická péče o zdravotníky v onkologii: současná teorie a praxe v podmínkách českého zdravotnictví. *Klin Onkol* 2011; 24(4): 302–307.

Sarkomy a jiné vzácné malignity

Žabka J. Gastrointestinální stromální tumory. *Klin Onkol* 2011; 24(3): 187–194.

Vojtíšek R, Kinkor Z, Fínek J. Sekundární angiosarkomy po konzervativní léčbě nádorů prsu. *Klin Onkol* 2011; 24(5): 382–388.

Kubáčková K, Fínek J, Vyzula R et al. Lékový registr – trabectedin. *Klin Onkol* 2011; 24(6): 470–474.

Výzkum a vývoj v onkologii

Demlová R. Vývoj nových léčiv u solidních nádorů – změna pohledu na optimální design klinických studií. *Klin Onkol* 2011; 24(1): 54–55.

Mendoza L. Překonávají klinické studie fáze 0 stagnující vývoj protinádorových léčiv? *Klin Onkol* 2011; 24(2): 143–145.

Ondraska P, Mazurova E, Dolezalova L et al. *In vitro* hodnocení propustnosti cytotoxických léčiv přes rekonstruovanou lidskou epidermis a ústní epitel. *Klin Onkol* 2011; 24(3): 195–202.

Nagy V, Rosocha J, Židzik J et al. Detekcia cirkulujúcich nádorových buniek v periférnej krvi u pacientov s urotelovým karcinómom – pilotná štúdia. Porovnanie so štandardným histologickým vyšetrením. *Klin Onkol* 2011; 24(4): 287–292.

Růčková E, Müller P, Vojtěšek B. Hsp90 – cíl protinádorové terapie. *Klin Onkol* 2011; 24(5): 329–337.

Halámková J, Kiss I, Tomášek J et al. Plazminogen aktivátor systém a jeho klinický význam u pacientů s nádorovým onemocněním. *Klin Onkol* 2011; 24(6): 418–423.

Hatok J, Matáková T, Jurečková J et al. Naše pětiročné výsledky *in vitro* testovania chemorezistence u onkologických pacientov. *Klin Onkol* 2011; 24(6): 443–446.

INFORMACE Z ČESKÉ ONKOLOGICKÉ SPOLEČNOSTI

Informace z České onkologické společnosti

Zápis z schůzí výboru České onkologické společnosti konané dne 20. 12. 2012 ve Faustově domě Všeobecné fakultní nemocnice a 1. LF UK a dne 24. 1. 2012 v Plzni naleznete na www.linkos.cz.

Stálice na onkologickém trhu



SPOLEHLIVÁ GENERIKA OD ORIGINÁLNÍ SPOLEČNOSTI

kompletní onkologická péče



Společnost Fresenius Kabi vlastní špičková výrobní zařízení a procesy, auditované a schvalované mezinárodními regulačními orgány jako je FDA (Americký úřad pro kontrolu potravin a léčiv), MHRA (Léková agentura Velké Británie), WHO (Světová zdravotnická organizace), TGA (Australský úřad pro terapeutické výrobky), EDQM (Evropský úřad pro kvalitu léčiv a zdravotní péče Rady Evropy) a EMA (Evropská léková agentura). Většina našich produktů je vyráběna z vlastních surovin, což nám umožňuje lepší řízení výroby a distribuce. Poskytujeme ucelená data o stabilitě směsných přípravků a data o kompatibilitě.



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.

RNDr. Ondřej Slabý, Ph.D.
Mgr. Sabina Ševčíková, Ph.D.
prof. MUDr. Jiří Vorlíček, CSc.

Širší redakční rada

prof. MUDr. Zdeněk Adam, CSc., Brno
MUDr. Olga Babušíková, DrSc., Bratislava
MUDr. Otakar Bednařík, CSc., Brno
MUDr. Tomáš Büchler, Ph.D., Praha
prof. MUDr. David Cibula, CSc., Praha
MUDr. Karel Cwiertka, Ph.D., Olomouc
doc. MUDr. Ladislav Dušek, Ph.D., Brno
prof. MUDr. Tomáš Eckschlager, CSc., Praha
MUDr. David Feltl, Ph.D., Ostrava
doc. MUDr. Marián Hajdúch, Ph.D., Olomouc
prof. MUDr. Ľudovít Jurga, DrSc., Trnava
doc. MUDr. Juraj Kaušitz, CSc., Bratislava
prof. MUDr. Pavel Klener, DrSc., Praha

prof. 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
prof. MUDr. Luboš Petruželka, CSc., Praha
prof. RNDr. Šárka Pospíšilová, Ph.D., Brno
doc. MUDr. Igor Puzanov, 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 Bildr, CSc., Brno
prof. Sándor Eckhardt, Budapešť
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 2012

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. Jana Lounová, e-mail: jana.lounova@ambitmedia.cz.

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

Grafická úprava: Miroslav Chudík. Jazyková korektura: Mgr. Ivana Dachary, Mgr. Kristína Pavlendová.

Vychází 6krát ročně. Předplatné na rok 2012 činí 540 Kč (22 eur).

Informace o předplatném podává a objednávky předplatitelů přijímá: Pavla Hrabcová, e-mail: pavla.hrabcova@ambitmedia.cz.

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

Rukopisy zasílejte na adresu:

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.