

KLINICKÁ ONKOLOGIE

Z obsahu:

Význam mikroprostředí kostní dřeně v patogenezi mnohočetného myelomu

CT kolonografie – přehled vývoje metodiky a indikací

Mutace genu EGFR u pacientů s pokročilým NSCLC



Slovenská
onkologická
spoločnosť

Vydává ČLS JEP. ISSN 0862-495X. ISSN 1802-5307 on-line přístup
Indexed in MEDLINE/PubMed, EMBASE/Excerpta Medica, EBSCO,
SCOPUS, Bibliographia medica čechoslovaca, Index Copernicus

ročník 25 | 2012 | číslo **4**

I tak může vypadat zmenšení nádoru

Prodloužené přežití dosažené léčbou přípravkem Erbitux® u pacientů s metastazujícím kolorektálním karcinomem exprimujícím receptor epidermálního růstového faktoru a vykazujícím gen KRAS divokého typu, je spojeno s časnou regresí nádoru.^{1,2} Tato léčba přináší také úlevu od symptomů nemoci, a tím zlepšení kvality života pacientů.³ Regrese nádoru je tak prvním krokem k dosažení Vašich léčebných cílů.⁴

Merck Serono Oncology | Combination is key™

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

Léčivá látka: cetuximabum. **Indikace:** K léčbě pacientů s metastazujícím kolorektálním karcinomem (mCRC) exprimujícím receptor epidermálního růstového faktoru (EGFR) a vykazujícím gen KRAS divokého typu. Používá se v kombinaci s chemoterapií na základě irinotekanu, v první linii léčby v kombinaci s FOLFOX, a/ nebo jako samostatná látka k léčbě pacientů, u kterých selhala léčba na základě oxaliplatinu a irinotekanu a u pacientů, kteří nesnáší irinotekan. V kombinaci s radiační terapií k léčbě pacientů s lokálně pokročilým spinocelulárním karcinomem hlavy a krku a/ nebo v kombinaci s chemoterapií na bázi platiny k léčbě opakovaného a/ nebo metastazujícího onemocnění. **Dávkování a způsob podání:** ERBITUX® je podáván 1x týdně. Úvodní dávka je 400 mg/m², následující týdenní dávky jsou každá 250 mg/m². Pacienti musí být premedikováni antihistaminiky a kortikosteroidy. **Kontraindikace:** U pacientů se známou závažnou přecitlivělostí na cetuximab nebo radiační terapii. Kombinace s chemoterapií zahrnující oxaliplatinu je kontraindikována u pacientů s metastazujícím kolorektálním karcinomem s mutovaným genem KRAS nebo u pacientů, u nichž není mutační stav genu KRAS u kolorektálního karcinomu znám. **Nežádoucí účinky:** Mírné až středně závažné reakce zahrnují příznaky jako je horečka, třesavka, nevolnost, vyrážka nebo dušnost. K těžkým formám dochází obvykle v průběhu nebo do 1 hodiny po ukončení úvodní infuze. Mezi příznaky patří rychlý nástup obstrukce dýchacích cest (bronchospasmus), kopřivka a/ nebo hypotenze. V kombinaci s lokální radiační terapií se objevily nežádoucí účinky jako mukositida,

radiační dermatitida a dysfagie nebo leukopenie, převážně ve formě lymfocytopenie. Mezi kožní reakce patří akneiformní vyrážka, poruchy nehtů (paronychia). **Interakce:** V kombinaci s infuzemi fluoropyrimidinů se zvyšuje četnost výskytu srdeční ischemie, včetně infarktu myokardu a městnavého srdečního selhání, stejně jako četnost výskytu syndromu ruka - noha. **Léková forma a balení:** Infuzní roztok. Balení obsahuje jednu 20 ml lahvičku s obsahem 100 mg cetuximabu. **Uchování:** Uchovávejte v chladničce (2–8 °C). **Držitel rozhodnutí o registraci:** Merck KGaA, 64293 Darmstadt, Německo. **Registrační číslo:** EU/1/04/281/003. **Datum poslední revize textu:** 02/2012. Výdej přípravku je vázán na lékařský předpis a je hrazen z prostředků zdravotního pojištění. Před předepsáním se seznamte s úplnou informací o přípravku.

Reference: 1. Piesseaux H et al. ASCO GI 2011 (Abstract 398). 2. Piesseaux H et al. ESMO 2010 (Abstract 596P). 3. Au H-J. J Clin Oncol 2009; 27:1822-1828. 4. Buyse M et al. Lancet 2000; 356:373-378.

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

Editorial

Publikačná aktivita v odbornom písomníctve je jedným zo základných kritérií odborného i vedeckého rastu a úspechu (nielen) onkológov.

Na získanie základnej kvalifikácie „Medicinae Universae Doctor“ je v súčasnosti potrebné pod vedením školiteľa napísať a obhájiť (u väčšiny kandidátov prvú a u niektorých zároveň, žiaľ, aj poslednú) „písomnosť“ – tzv. diplomovú prácu. Prehĺbovanie odbornej spôsobilosti na vykonávanie povolania však u absolventov po ukončení pregraduálneho štúdia zväčša pokračuje aj ďalej, a to formou špecializačného štúdia v špecializačnom odbore a sústavným (celoživotným) vzdelávaním (continual medical education – CME).

Súčasťou špecializačnej skúšky (atestácie) v príslušnom špecializačnom medicínskom odbore je napísanie a obhajoba tzv. písomnej práce k špecializačnej skúške pred odbornou komisiou. Budúci špecialista predkladá zoznam absolvovaných prednášok na domácich a zahraničných odborných podujatiach a zoznam vlastných publikácií v domácich aj zahraničných odborných časopisoch. Získanie atestácie v príslušnom medicínskom odbore je preto zväčša prvý z dôvodov, prečo publikovať.

Po dosiahnutí odbornej kvalifikácie zákon ukladá každému lekárovi celoživotné vzdelávanie. Takzvané sústavné vzdelávanie v medicíne (CME) je priebežné obnovovanie a udržiavanie získanej odbornej spôsobilosti v súlade s rozvojom príslušných odborov po celý čas výkonu lekárskeho povolania. CME zabezpečuje zamestnávateľ, odborné spoločnosti a lekárska komora. Povinnosť sústavne sa vzdelávať má i lekár bez špecializácie. Do CME spadá napr. účasť na vzdelávacích aktivitách (kurzoch, prednáškach, konferenciách a kongresoch), ku ktorým sa však podľa zákona nezarátava účasť na odborných sympóziách farmaceutických firiem, pričom každé podujatie sa hodnotí pridelením určitého počtu kreditov. Nedeliteľnou súčasťou CME je aj dokladovaná publikačná činnosť, keď sa predkladá napr. autorstvo či spoluautorstvo monografie, odborného alebo vedeckého článku, didaktického testu, učebnice, VŠ skript atď. Za tieto aktivity možno získať určitý počet kreditov, ktoré vyžaduje lekárska komora. Získanie predpísaného počtu kreditov za určité obdobie je jednou z podmienok na potvrdenie licencie pre výkon lekárskeho povolania. Je to aj druhý dôvod, prečo publikovať.

Vybraní uchádzači majú možnosť absolvovať doktorandské štúdium (PhD.). Doktorandské štúdium je najvyšším stupňom vysokoškolského vzdelávania. Organizácia tohto štúdia je založená tiež na kreditovom systéme. Na postup do vyššieho ročníka musí doktorand získať predpísaný počet kreditov. Kredity sa pridávajú nielen za študijnú a pedagogicko-vzdelávaciu činnosť, ale aj za samostatnú vedecko-tvorivú činnosť. Práve táto vedecko-tvorivá činnosť v zmysle aktívnych účastí na vedeckých podujatiach, ktoré sú dokumentované abstraktmi v časopisoch alebo v zborníkoch, ďalej v zmysle vedeckých prác v recenzovaných časopisoch, vedeckých prác v indexovaných časopisoch, vedeckých prác v karentovaných a/alebo impaktovaných časopisoch, kapitol v učebniciach alebo v monografiách, účasti na riešení vedeckého projektu, grantu a napokon citácie z prác, môže byť zdrojom získania početných kreditov a je spolu s obhájením písomnej dizertačnej práce zároveň predpokladom úspešného ukončenia doktorandského štúdia. Získanie vedecko-akademickej hodnosti PhD. je tretím z dôvodov, prečo publikovať.

Tí z lekárov, teda aj onkológov, ktorí sa zaujímajú o ďalší pedagogický rast, majú možnosť uchádzať sa o získanie vedecko-pedagogického titulu docent a profesor, samozrejme za predpokladu o.i. ich bohatej publikačnej aktivity. Uchádzači o docentúru, resp. o najvyšší vedecko-pedagogický titul profesor, musia spĺňať početné kritériá, ktoré ukladajú vyhlášky ministerstva školstva a vedecké rady jednotlivých lekárskech fakúlt. Musia predložiť zoznam publikovaných vedeckých a odborných prác s uvedením ich literárnych ohlasov (citácií). Vyžaduje sa splnenie kritéria predpísaného počtu prác uverejnených v recenzovaných časopisoch indexovaných v domácich i medzinárodných bibliografických databázach (Medline/PubMed), najmä však v tých časopisoch, ktoré majú tzv. impakt faktor. Napokon by uchádzači mali splniť požiadavku na počet citácií, najmä registrovaných v databáze Web of Science (SCI) alebo SCOPUS. Nedeliteľnou súčasťou habilitačného konania je obhajoba habilitačnej práce pred vedeckou radou príslušnej lekárskej fakulty. Získanie vedecko-pedagogického titulu docent alebo profesor je ďalší z dôvodov, prečo publikovať.

Pre všetky stupne odborného a vedeckého rastu je výhodné publikovať v medzinárodných, impaktovaných a tzv. karentovaných časopisoch, s možnosťou získať väčší počet kreditov a splniť požadované kritériá. Nemožno však zabúdať ani na domácich čitateľov, pre ktorých novinky v odbore nie sú až také dostupné. Preto ďalším dôvodom, prečo publikovať, je aj prosté odovzdávanie vlastných skúseností, poznatkov a vedomostí v čitateľnej forme svojim (mladším) kolegom a možnosť konfrontovať tak vlastné výsledky s výsledkami iných autorov, iných pracovísk (aj zahraničných) v domácich periodikách.

Jednou z možností pre našich adeptov akademických a vedecko-pedagogických titulov ako získavať nielen kredity, ale predovšetkým skúsenosti s odbornou a vedeckou literárnou tvorbou, je publikovať v časopise Klinická onkologie, ktorá tento rok oslavuje 25 rokov od svojho založenia. Časopisu prajem dostatok kvalitných publikácií od autorov, ktorí vedia, prečo a pre koho publikovať...

prof. MUDr. Dalibor Ondruš, DrSc.
člen redakčnej rady, Bratislava

Společnost Fresenius Kabi je předním světovým dodavatelem produktů z oblasti intravenózní terapie. Svou pozici významně posiluje aktivitami na poli analgetické léčby.



Paracetamol Kabi

Základ v léčbě bolesti

- účinek prověřený po desítky let
- rychlá a předvídatelná terapeutická odezva
- indikován i u novorozenců

Paracetamol Kabi 10 mg/ml
infuzní roztok

500 mg/50 ml 10 × 50 ml skleněná injekční lahvička

1000 mg/100 ml 10 × 100 ml skleněná injekční lahvička

ZKRÁCENÁ INFORMACE O LÉČIVÉM PŘÍPRAVKU

Paracetamol Kabi 10 mg/ml, infuzní roztok

Složení: 1 ml obsahuje 10 mg paracetamolu, 1 injekční lahvička o obsahu 50 ml obsahuje paracetamol 500 mg, 1 injekční lahvička o obsahu 100 ml obsahuje paracetamol 1000 mg. Úplný seznam pomocných látek viz SPC.

Indikace: Paracetamol Kabi je indikován: ke krátkodobé léčbě středně silných bolestí, zvláště po chirurgických výkonech, ke krátkodobé léčbě horečnatých stavů v případech, kdy je intravenózní podání odůvodněné naléhavou potřebou zmírnit bolest nebo horečku a/nebo když jiná cesta podání není možná.

Dávkování a způsob podání:

Tělesná hmotnost nebo věk	Jednotlivá dávka	Maximální denní dávka (U všech léčivých přípravků obsahujících paracetamol)
Nedonošené děti	Nejsou k dispozici žádné údaje o bezpečnosti a účinnosti u nedonošených dětí.	
Novorozenci narození v termínu, kojenci, batolata a děti o hmotnosti do 10 kg (přibližně do 1 roku)	7,5 mg paracetamolu/kg hmotnosti, tj. 0,75 ml roztoku/kg	Maximální denní dávka nesmí překročit 30 mg/kg hmotnosti
Děti o hmotnosti nad 10 kg (přibližně od 1 roku) a méně než 33 kg	15 mg paracetamolu/kg hmotnosti, tj. 1,5 ml roztoku/kg	Maximální denní dávka nesmí překročit 60 mg/kg hmotnosti (max. denní dávka je 2 g)
Děti o hmotnosti nad 33 kg (přibližně od 11 let), mladiství a dospělí s hmotností do 50 kg	15 mg paracetamolu/kg hmotnosti, tj. 1,5 ml roztoku/kg	Maximální denní dávka nesmí překročit 60 mg/kg hmotnosti (max. denní dávka je 3 g)
Mladiství a dospělí s hmotností nad 50 kg	1 g paracetamolu , tj. jedna 100 ml lahvička	Maximální denní dávka nesmí překročit 60 mg/kg hmotnosti (max. denní dávka je 4 g)

Jednotlivou dávku je možné podat až 4x denně. Minimální interval mezi jednotlivými dávkami musí být nejméně 4 hodiny. Je třeba vzít v úvahu všechny léčivé přípravky obsahující paracetamol. Závažné poškození ledvin (clearance kreatininu ≤ 30 ml/min): doporučuje se zvýšit minimální interval mezi podáváním na 6 hodin. Dospělí s hepatocelulární insuficiencí, chronickým alkoholismem, chronickou malnutricí (nízkou rezervou jaterního glutathionu), dehydratací: maximální

denní dávka nesmí překročit 3 g. Před podáním musí být přípravek vizuálně zkontrolován, zda neobsahuje částice a není zabarven. Roztok paracetamolu se podává v 15-ti minutové i.v. infuzi. Další ředění přípravku Paracetamol Kabi 10 mg/ml, infuzní roztok viz SPC. **Kontraindikace:** U pacientů s hypersenzitivitou na paracetamol, propacetamol hydrochlorid (prodrug paracetamolu) nebo na kteroukoli pomocnou látku tohoto přípravku. Závažná hepatocelulární insuficience (Child-Pugh > 9). **Zvláštní upozornění:** Je doporučeno, jakmile je to možné, přejít na vhodnou perorální analgetickou léčbu. Aby se předešlo riziku předávkování, je nutné zkontrolovat, že ostatní podávané léky neobsahují paracetamol nebo propacetamol hydrochlorid. Dávky vyšší než doporučené mohou způsobit velmi závažné poškození jater. Paracetamol se má používat se zvláštní pozorností v následujících stavech: hepatocelulární insuficience (Child-Pugh ≤ 9), Meulengracht-Gilbertův syndrom (familiární nehemolytická žloutenka), těžká renální insuficience (clearance kreatininu ≤ 30 ml/min), chronický alkoholismus, chronická malnutrice (nízká rezerva glutathionu v játrech), u pacientů trpících genetickým G-6-PD deficitem (favismus) může vzniknout hemolytická anémie v důsledku sníženého přídělu glutathionu po podání paracetamolu, dehydratace. Ovlivnění laboratorních testů: Paracetamol může ovlivnit testy na kyselinu močovou při použití kyseliny fosfowolframové a test na hladinu cukru v krvi při použití glukoso-oxidázo-peroxidázy.

Lékové a jiné interakce: Známe jsou interakce s probenecidem, salicylamidem, léčivy indukujícími enzymy (jako jsou rifampicin, barbituráty, tricyklická antidepresiva a některá antiepileptika (karbamazepin, fenitoin, fenobarbital, primidon)), chloramfenikolem, zidovudinem, perorální antikoncepcí, perorálními antikoagulanty. Ojedinelé zprávy popisují neočekávané hepatotoxické příznaky u pacientů užívajících alkohol nebo léčivé přípravky indukující enzymy. Pro podrobnější informace – viz SPC. **Těhotenství:** Paracetamol Kabi v těhotenství lze použít pouze po pečlivém vyhodnocení poměru možného přínosu terapie a eventálního rizika. V tomto případě je nutné striktně dodržovat doporučené dávkování a délku terapie. **Kojení:** Paracetamol Kabi je možné podávat u kojících matek. **Účinky na schopnost řídit a obsluhovat stroje:** Paracetamol Kabi nemá žádný vliv na snížení pozornosti při řízení motorových vozidel a obsluhu strojů. **Nežádoucí účinky:** Vzácné: hypotenze, nevolnost, zvýšení transamináz. Velmi vzácné: trombocytopenie, leukopenie, neutropenie, agranulocytóza, hypersenzitivita (od kožní vyrážky až k anafylaktickému šoku), bronchospasmus. Ostatní – viz SPC. **Předávkování:** Existuje riziko poškození jater (včetně fulminantní hepatitidy, selhání jater, cholestatické hepatitidy, cytolytické hepatitidy), zejména u starších subjektů, u malých dětí, u pacientů s poškozením jater, u chronického alkoholismu, u chronické malnutrice a u pacientů užívajících indukory jaterních enzymů. V těchto případech předávkování může skončit letálně. Symptomy a léčba předávkování – viz SPC. **Zvláštní opatření pro uchovávání:** Chraňte před chladem nebo mrazem. Podmínky uchovávání naředěného léčivého přípravku – viz SPC. **Držitel rozhodnutí o registraci:** Fresenius Kabi, s.r.o., Praha, Česká republika. **Registrační číslo:** 07/967/10-C **Způsob výdeje:** Výdej na lékařský předpis. **Způsob hrazení:** Přípravek je plně hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění. **Datum poslední revize textu:** 8. 12. 2010. **Pro úplné informace čtěte Souhrn údajů o přípravku (SPC).**



**FRESENIUS
KABI**

caring for life

Fresenius Kabi, s. r. o.

Budova FILADELFIE

Želetavská 1525/1

140 00 Praha 4

Česká republika

Tel.: +420 225 270 111

E-mail: czech-info@fresenius-kabi.com

www.fresenius-kabi.cz

Obsah | Contents

PŘEHLEDY | REVIEWS

- Význam mikroprostředí kostní dřeně v patogenezi mnohočetného myelomu** 234
 Implication of Bone Marrow Microenvironment in Pathogenesis of Multiple Myeloma
 Fišerová B., Kubiczková L., Ševčíková S., Hájek R.
- CT kolonografie – přehled vývoje metodiky a indikací** 241
 CT Colonography – Evolution of Methodology and Indications
 Opletal P., Standara M.
- Dlouhé nekódující RNA a jejich význam u nádorových onemocnění** 246
 Long Non-Coding RNAs and Their Relevance in Cancer
 Šána J., Faltejsková P., Svoboda M., Slabý O.

PŮVODNÍ PRÁCE | ORIGINAL ARTICLES

- Léčba histiocytózy z Langerhansových buněk kladribinem dosáhla u 9 z 10 dospělých pacientů dlouhodobé kompletní remise** 255
 Treatment of Langerhans Cells Histiocytosis by Cladribin Reached Long-Term Complete Remission in 9 out of 10 Adult Patients
 Adam Z., Szturz P., Ďuraš J., Pour L., Krejčí M., Řehák Z., Koukalová R., Navrátil M., Hájek R., Král Z., Mayer J.
- Comparison of Histological Types of Primary and Subsequent Relapsing Basal Cell Carcinomas of the Skin** 262
 Porovnávanie histologických typov primárnych a korešpondujúcich recidivujúcich bazocelulárnych karcinómov kože
 Bartos V., Adamicova K., Kullova M., Pec M.
- Mutace genu EGFR u pacientů s pokročilým NSCLC** 267
 EGFR Mutations in Patients with Advanced NSCLC
 Fiala O., Pešek M., Fínek J., Brůha F., Bortlíček Z., Krejčí J., Benešová L., Minárik M.
- Projekt HARDROCK: parametrický sběr a analýza dat pacientů s nádory hlavy a krku na Klinice onkologické FN Ostrava – důraz na význam frakcionace a definice cílového objemu v radioterapii** 274
 HARDROCK Project: Parametric Data Collection and Analysis of Patients with Head and Neck Cancer in the Comprehensive Cancer Centre of Ostrava – Role of Fractionation and Target Volume Definition in Radiotherapy
 Halámka M., Feltl D., Cvek J., Dušek L.
- Jaký je prognostický význam molekulárně genetických faktorů u karcinomu endometria?** 282
 What is the Prognostic Importance of Molecular Genetic Factors in Endometrial Carcinoma?
 Křepinská E., Chmelařová M., Laco J., Palička V., Špaček J.

KAZUISTIKA | CASE REPORT

Hepatocelulární karcinom – dlouhodobě léčitelné onemocnění 287

Hepatocellular Carcinoma – Long-Term Treatable Disease
Fínek J.

Paratesticular Mesothelioma in Young Age. Case Report 290

Paratestikulární mezotelióm v mladom veku. Kazuistika
Mrínakova B., Ondrus D., Kajo K., Kunderlik M., Tkacova M., Ondrusova M.

Léčba nízkostupňového gliomu supratentoriální oblasti mozku po neurochirurgické subtotální resekci s projevy objemového up-gradingu 294

Treatment For Volume Upgrading of the Low-Grade Supratentorial Glioma After the Subtotal Neurosurgical Resection
Třebický F., Kubeš J., Bartoš R., Malucelli A., Sameš M., Navrátil M., Vondráček V., Medková S., Mašek M., Zárubová J.

AKTUALITY Z REGISTRŮ | REPORTS FROM CLINICAL REGISTRIES

Klinický registr RENIS 299

RENIS Registry
Poprach A., Büchler T., Bortlíček Z., Dušek L., Vyzula R.

OSOBNÍ ZPRÁVY | PERSONALIA

Prim. MUDr. Vladimír Koza zemřel 302

Jindra P.

Prof. MUDr. Zdeněk Dienstbier, DrSc., zemřel 303

Žaloudík J.

INFORMACE | NEWS 305

RŮZNÉ | VARIOUS

Onkologie v obrazech 306

Liposarcoma retroperitonei permagnum
Šefr R., Ondrák M., Krsička P., Rybničková S., Fabian P., Lakomý R., Svoboda M.



Tyverb[®] v kombinaci s kapecitabinem nebo letrozolem pro léčbu pacientek s metastatickým HER2 pozitivním karcinomem prsu¹



Citace: 1. Souhrn údajů o přípravku Tyverb[®], GlaxoSmithKline, červenec 2011

ZKRAČENÁ INFORMACE O PŘÍPRAVKU

NÁZEV A LÉKOVÁ FORMA: TYVERB 250 mg, potahované tablety. **SLOŽENÍ:** Lapatinibum ditosylatum monohydricum v množství odpovídajícím 250 mg lapatinibu. **INDIKACE:** K léčbě pacientů s karcinomem prsu, jejichž nádory ve zvýšené míře exprimují HER2 (ErbB2): V kombinaci s kapecitabinem k léčbě pacientů s pokročilým nebo metastazujícím karcinomem, u kterých došlo k progresi onemocnění po předchozí léčbě, která musí zahrnovat antracykliny a taxany, a dále léčbu trastuzumabem pro metastazující onemocnění. V kombinaci s inhibitory aromatázy k léčbě žen po menopauze s metastazujícím karcinomem prsu s pozitivními hormonálními receptory, u kterých se neuvažuje o chemoterapii. Pacientky zařazené do registrační studie nebyly dříve léčeny trastuzumabem nebo inhibitory aromatázy. **DÁVKOVÁNÍ:** Kombinace Tyverb/kapecitabin: Přípravek Tyverb v dávce 1500 mg denně (tj. 6 tablet) 1x denně. Dávkování letrozolu viz příslušné SPC. Léčba přípravkem Tyverb se má přerušit u pacientů s příznaky snížené ejekční frakce levé srdeční komory st. 3, intersticiální plicní nemocí st. 3 a u jiné toxicity od st. 2 se má také zvážit přerušení či ukončení. Opětovné nasazení viz SPC. **SPECIÁLNÍ SKUPINY PACIENTŮ:** U pacientů s mírným až středně závažným poškozením ledvin není nutná žádná úprava dávkování. U pacientů se závažnou poruchou funkce ledvin se doporučuje opatrnost, nejsou žádné zkušenosti s podáváním přípravku. U pacientů se středně závažnou až závažnou poruchou funkce jater by měl být lék podáván se zvýšenou opatrností. Pokud dojde k závažným změnám jaterních funkcí, má být léčba ukončena. Podávání dětem se nedoporučuje. U pacientů starších 65 let jsou k dispozici pouze

omezené údaje o podávání přípravku. **KONTRAINDIKACE:** Hypersenzitivita na léčivou nebo kteroukoli pomocnou látku. **ZVLÁŠTNÍ UPOZORNĚNÍ:** Hlášený případ snížené ejekční frakce levé srdeční komory (LVEF). Před zahájením léčby je třeba se ujistit, že LVEF pacienta je v rozmezí stanovených norm. hodnot a během léčby je třeba je kontrolovat. Hlášená úmrtí neměla jasnou souvislost s léčbou. Pozorováno prodloužení intervalu QTc. Doporučeno vyšetřit QT (EKG) před léčbou a dále sledovat. Doporučeno sledovat příznaky plicní toxicity: dušnost, kašel a horečku. Pulmonární toxicita může vést ke vzrůstu respiračního selhání. Hlášená úmrtí neměla jasnou souvislost s přípravkem Tyverb. Opatrnost je nezbytná u pacientů se středně až závažnou poruchou funkce jater a závažnou poruchou funkce ledvin. Transaminázy, bilirubin a ALP mají být zhodnoceny před léčbou a dále se doporučuje kontrolovat je měsíčně nebo podle potřeby. Pacienti by měli být informováni o riziku hepatotoxicity. Hlášen byl průjem, včetně těžkého, následkem závažné dehydratace zaznamenané i u několika případů akutního renálního selhání. Doporučeno zaznamenat bránní symptomatologii před léčbou a poučit pacienty, že mají lékaře neprodleně informovat o střevních potížích. Důležitá je preventivní léčba průjmu pomocí antidiarhoik. **INTERAKCE:** Je třeba se vyhnout podávání přípravku Tyverb se silnými inhibitory a induktory CYP3A4. S opatrností podávat se středně silně působícími inhibitory CYP3A4. Tyverb je substrátem pro Pgp a BCRP. Grapefruitová šťáva a látky zvyšující pH žaludku se nemají podávat současně s přípravkem Tyverb. Inhibitory protonové pumpy mohou snižovat absorpci a rozpustnost lapatinibu. Současné podání s irinotekanem (ve FOLFIRI) mělo za následek zhruba 40 % nárůst AUC aktivního metabolitu irinotekanu. Při užívání přípravku Tyverb v kombinaci s paklitaxelem (175 mg/m² každé tři týdny) je možná těžká neutropenie s průjemem. Současné podávání přípravku Tyverb s kapecitabinem, letrozolem nebo trastuzumabem neovlivňovalo významně farma-kinetiku těchto látek (nebo metabolitů

kapecitabinu) ani lapatinibu. **TĚHOTENSTVÍ, KOJENÍ:** Potenciální riziko pro člověka není známo. Studie na zvířatech prokázaly reprodukční toxicitu. Tyverb se nemá v těhotenství podávat, pokud to není nezbytně nutné. Ženy v reprodukčním věku musí být upozorněny na nutnost používání účinné antikoncepce v průběhu léčby. U kojících žen, které jsou léčeny přípravkem Tyverb, musí být kojení ukončeno. **NEŽÁDOUCÍ ÚČINKY:** Velmi časté: průjem, nauzea a zvracení, palmární-plantární erytrodysestézie (PPE) a vyrážka, akneiformní dermatitida. Incidence PPE ve skupině užívající přípravek Tyverb s kapecitabinem podobná incidenci ve skupině se samotným kapecitabinem, dále dyspepsie, zácpa, bolesti břicha, anorexie, suchá kůže, stomatitida, záněty sliznic, zarudnutí kůže, alopecie, pruritus, bolesti končetin, zad, nespavost, únava, astenie. **Časté:** snížení ejekční frakce levé srdeční komory (1 %), bolesti hlavy, hyperbilirubinémie, hepatotoxicita, změny nehtů, paronychia, zácpa. **Méně časté:** Intersticiální plicní nemoc, epistaxe, kašel, dyspnoe. **Vzácné:** Hypersenzitivní reakce, anafylaxe. **FARMAKOLOGICKÉ VLASTNOSTI:** Inhibitor proteinkinázy, skupina: ATC kód: L01XE07, inhibitor tyrosinkinázových receptorů ErbB1 a ErbB2. **UCHOVÁVÁNÍ:** Při teplotě do 30 °C. **DOBA POUŽITELNOSTI:** 2 roky. **BALENÍ:** V blistru nebo lahvičce po 70, 84 nebo 140 tabletách. **DRŽITEL ROZHODNUTÍ O REGISTRACI:** Glaxo Group Ltd., Berkeley Avenue, Greenford, Middlesex UB6 0NN, Velká Británie. **REG. Č.:** EU/1/07/440/001-003. **REGISTRACE:** 10. 6. 2008. **REVIZE TEXTU:** 15. 7. 2011. **DOSTUPNOST:** 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

Redakce časopisu **Klinická onkologie** vypisuje

SOUTĚŽ O NEJLEPŠÍ PRÁCI

v kategoriích:

- **původní práce**
- **přehled**
- **kazuistika**

Podmínky soutěže:

1. Do soutěže budou automaticky zařazeny všechny práce přijaté do redakce v období od 1. 4. do 30. 11. 2012.
2. Práce budou hodnoceny členy redakční rady.
3. Hlavními kritérii hodnocení budou odborná úroveň, originalita a přínos zveřejněných údajů.
4. Výsledky soutěže budou vyhlášeny v časopise *Klinická onkologie* 1/2013.

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

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

Proč publikovat v časopise *Klinická onkologie*?

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

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

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

Partner:



Bringing the Top-Rated Science from the World's Premier Oncology Event Close to You

Best of ASCO®
A program licensed by the American Society of Clinical Oncology

Annual Meeting '12



Collaborating to Conquer Cancer

Praha, 8. září 2012, Andel's hotel Praha

**American Society of Clinical Oncology (ASCO)
a Česká onkologická společnost ČLS JEP**

Vás zvou na Best of ASCO® v České republice

V letošním roce se uskuteční již druhé oficiální Best of ASCO® Czech Republic (BOA), na kterém budou prezentovány nejvýznamnější práce z oblasti diagnostiky a léčby nádorových onemocnění, které doporučila skupina předních odborníků ASCO z přednášek, jenž zazněly na letošní výroční konferenci ASCO (ASCO 2012 Annual Meeting®), která se konala 1. až 5. června v americkém Chicagu. Zástupci organizačního výboru Best of ASCO International® Czech Republic následně z doporučených příspěvků sestavili předběžný program konference tak, aby reflektoval situaci v České republice, tj. potřeby českých onkologů, radioterapeutů a jejich pacientů. Všechny prezentované materiály budou účastníkům dostupné v českém jazyce.

Organizační výbor Best of ASCO® Czech Republic

prof. MUDr. Rostislav Vyzula, CSc. (*předseda organizačního výboru*), MUDr. Marek Svoboda, Ph.D. (*vědecký sekretář*),
prof. MUDr. Jitka Abrahámová, DrSc., prof. MUDr. Bohuslav Melichar, Ph.D., prof. MUDr. Luboš Petruželka, CSc.,
MUDr. Jana Prausová, Ph.D., MBA, prof. MUDr. Aleš Ryška, Ph.D., doc. MUDr. Petra Tesařová, Ph.D., prof. MUDr. Jiří Vorlíček, CSc.

Organizační zabezpečení konference:

Meritis, s.r.o.
Obrovského 644
141 00 Praha 4

Milena Notová
e-mail: notova@meritis.cz | GSM: +420 736 484 159
Tel.: +420 272 774 064 | Fax: +420 272 767 597

**Mediálním partnerem konference Best of ASCO® Czech Republic
je nakladatelství časopisu Klinická onkologie**



Program a informace o konferenci naleznete na www.meritis.cz/bestofascoCR2012

Význam mikroprostředí kostní dřeně v patogenezi mnohočetného myelomu

Implication of Bone Marrow Microenvironment in Pathogenesis of Multiple Myeloma

Fišerová B., Kubiczková L., Ševčíková S., Hájek R.

Babákova myelomová skupina, Ústav patologické fyziologie, LF MU Brno

Souhrn

Mnohočetný myelom je hematologické onemocnění charakterizované maligní proliferací plazmatických buněk. Tyto buňky se hromadí v kostní dřeni, kde potlačují fyziologickou krevtvořbu a zároveň interagují s celou škálou cytokinů, růstových faktorů a adhezivních molekul. Je zřejmé, že právě mikroprostředí kostní dřeně hraje velkou roli v patogenezi onemocnění, ale i v rezistenci k léčbě.

Klíčová slova

mnohočetný myelom – kostní dřeň – IL-6

Summary

Multiple myeloma is a hematological disease characterized by malignant proliferation of plasma cells. These cells accumulate in the bone marrow where they suppress physiological hematopoiesis; at the same time, these cells interact with a wide variety of cytokines, growth factors and adhesion molecules. It is obvious that the bone marrow microenvironment plays an important role in disease pathogenesis as well as treatment resistance.

Key words

multiple myeloma – bone marrow – IL-6

Práce byla podpořena výzkumným záměrem MŠMT ČR č. MSM0021622434, grantem GA ČR GAP304/10/1395 a granty IGA MZ ČR č. NT11154 a NT12130.

This study was supported by scientific program of the Czech Ministry of Education, Youth and Sports No. MSM0021622434, by grant of Czech Science Foundation No. GAP304/10/1395 and by grant of Internal Grant Agency of the Czech Ministry of Health No. NT11154 and NT12130.

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

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

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

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



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

Obdrženo/Submitted: 26. 4. 2012
Přijato/Accepted: 10. 5. 2012

Úvod

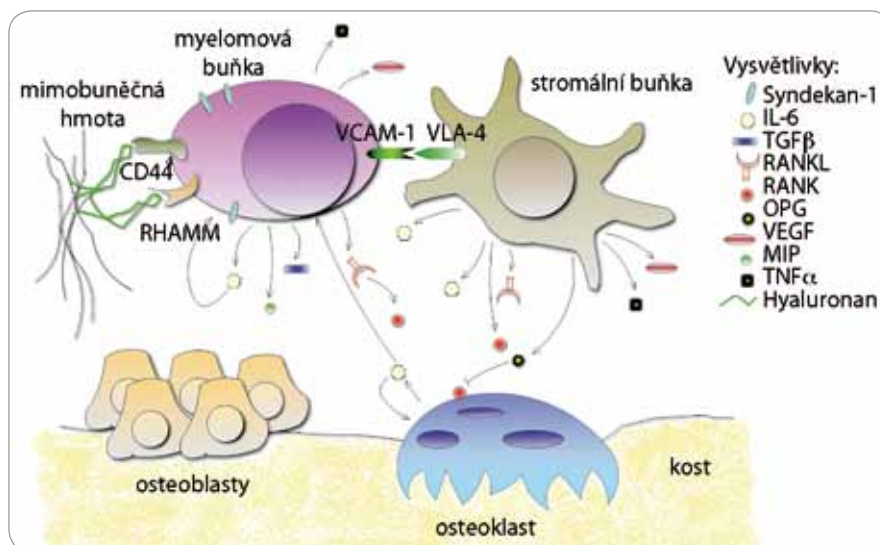
Mnohočetný myelom (MM) je maligní hematologické onemocnění charakterizované monoklonální expanzí plazmatických (myelomových) buněk. Toto onemocnění se týká hlavně starších pacientů s mediánem věku stanovení diagnózy 69 let, incidence v ČR je 4/100 000. Myelomové buňky jsou lokalizovány v kostní dřeni, kde narušují fyziologický proces hematopoézy a zároveň narušují strukturu kosti, což vede ke vzniku osteolytických lézí, které jsou pro pacienty s MM hlavním zdrojem obtíží [1,2].

MM je vhodným modelem pro studium interakcí tumoru a mikroprostředí ze tří důvodů: na rozdíl od normálních buněk se maligní plazmatické buňky hromadí zejména v kostní dřeni, což znamená, že stromální buňky poskytují jedinečné mikroprostředí pro růst maligních buněk. Dalším důvodem je přítomnost mnoha adhezivních molekul na povrchu myelomových buněk [3], normální buňky povrchové markery téměř neprodukuje. Třetím důvodem je bezesporu možnost kultivace heterogenních populací adherentních buněk odebraných z kostní dřene pacientů s MM v podmínkách *in vitro* [4].

Interakce adhezivních molekul

Adhezivní molekuly umožňují přímé propojení mezibuněčné hmoty s myelomovými buňkami a buňkami navzájem. Po navázání dalších molekul se spouští řada dějů, které mohou ovlivňovat vývoj buněčných složek nebo aktivovat signalizační kaskády. Je také podporována aktivace osteoklastů a růst maligních buněk, které jsou ještě více zadržovány v kostní dřeni [5] (obr. 1).

Jedním ze specifických povrchových markerů myelomových buněk je syndekan-1 (CD138). Je to transmembránový proteoglykan, který se může přímo vázat na proteiny mezibuněčné hmoty, u MM se váže na kolagen typu I [6]. V kostní dřeni je syndekan-1 detekován pouze na buňkách z B lymfoidní linie a jeho exprese se mění se stupněm diferenciace. U myši byl nalezen na povrchu pre-B buněk, u zralých B buněk se nevyskytoval a opět byl produkován u plazmatických buněk [7]. U pacientů s MM



Obr. 1. Interakce v mikroprostředí kostní dřene mnohočetného myelomu. Myelomové buňky interagují s ostatními buňkami a mimobuněčnou hmotou prostřednictvím adhezivních molekul (CD44, RHAMM, VCAM-1) a po adhezi je podporováno vylučování cytokinů a růstových faktorů. Některé faktory působí i autokrinně (IL-6) a tím se ještě více stimuluje jejich produkce.

se vyskytuje pouze na povrchu myelomových buněk [8], inhibuje osteoklastogenezi a pozitivně ovlivňuje diferenciaci osteoblastů [9]. U myelomových buněk, které procházejí apoptózou, se však rychle ztrácí [10]. Jelikož je syndekan-1 produkován na povrchu životaschopných myelomových buněk, byly vyvinuty specifické protilátky, které dnes umožňují identifikaci a purifikaci myelomových buněk ze vzorků pacientů [8].

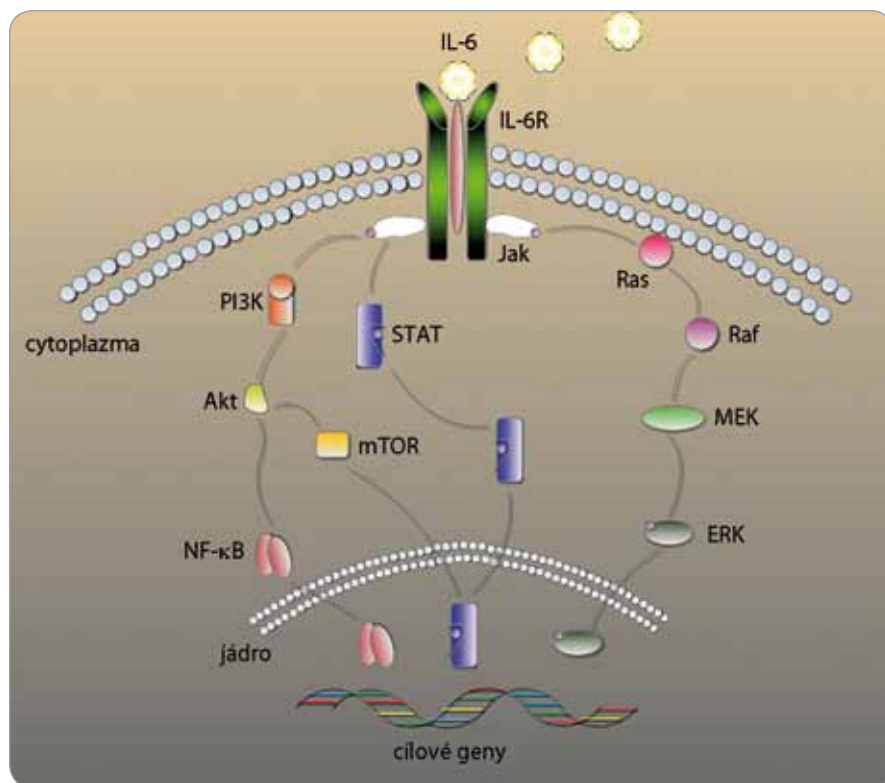
Za interakci myelomových buněk s hyaluronanem jsou zodpovědné dva receptory, a to CD44 [11] a RHAMM [12]. Standardní forma receptoru CD44 se na povrchu myelomových buněk vyskytuje zřídka, ovšem některé nestandardní receptorové varianty jsou zde velmi časté. Byly detekovány například varianty 3v, 4v, 6v a 10v, které nejsou přítomné u zdravých jedinců [13]. Receptor RHAMM napomáhá pohybu myelomových buněk po hyaluronovém substrátu. U MM jsou vylučovány tři formy: RHAMMFL, což je běžný typ, a dále dva deleční mutanti, RHAMM-48, (delece 48 bp) a RHAMM-147 (delece 147 bp). Oba deleční mutanti jsou přítomni jen u B buněk a plazmatických buněk MM, ale ne u zdravých jedinců. Výskyt delečních mutantů mění intracelulární signalizaci v buňkách MM [12].

Cytokiny, růstové faktory

Myelomové i stromální buňky produkují látky, které ovlivňují vývoj MM. Mezi tyto látky se řadí cytokiny a chemokiny, které mohou působit jako promotory nádorového vývoje, růstové faktory nebo chemoatraktanty. Váží se na receptory, a tím aktivují různé signální kaskády. Pacienti s MM vykazují typické rozpustné faktory v mikroprostředí kostní dřene: IL-16, IL-2R, MCP-1, HGF, IL-1RA, MIG, IP-10, EGF [14].

Stěžejním cytokinem MM je interleukin-6 (IL-6), který je produkován mnoha buňkami včetně osteoblastů, monocytů, makrofágů a stromálních buněk kostní dřene. Za fyziologických podmínek je jeho hladina nízká nebo nedetekovatelná, ale bylo prokázáno, že u MM pacientů s osteolytickými lézemi je hladina IL-6 zvýšená [15].

U MM je IL-6 hlavním cytokinem, který zprostředkovává růst, přežívání a lékovou rezistenci myelomových buněk (obr. 2). I když některé myelomové buňky produkují IL-6 autokrinně [16], primárně je produkován stromálními buňkami kostní dřene a působí parakrinně na růst a diferenciaci myelomových buněk [17]. Produkce IL-6 ve stromálních buňkách je tedy indukována buď adhezí myelomových buněk [18], nebo prostřednictvím jiných cytokinů, jako tumor nekrotizující



Obr. 2. IL-6 a signální kaskády v mnohočetném myelomu. Navázáním IL-6 na jeho receptor se aktivují čtyři signální dráhy důležité pro vývoj, růst a lékovou rezistenci v MM. Fosforylace Jak spustí dráhu Ras/Ras/MEK/ERK a STAT. ERK a STAT se přesunou do jádra, kde aktivují cílové geny. Jak také spouští signální dráhu PI3K/Akt, Akt dále může aktivovat mTOR, který působí na STAT a NF-κB, který se opět přesouvá do jádra a přepisuje dané geny.

faktor α (TNF α) [19] a vaskulární endoteliální růstový faktor (VEGF) [20]. Zmíněné faktory následně aktivují např. signální dráhu jaderného faktoru κ B (NF- κ B), která má vliv na přežívání a růst myelomových buněk [21].

Osteolýza, další patologický proces podporovaný přítomností IL-6, je navozena hned několika mechanismy. Za prvé, IL-6 indukuje produkci RANKL v mezenchymálních buňkách kostní dřeně a osteoblastech. Vazbou RANKL na RANK je navozeno dozrávání osteoklastů a aktivace signálních drah [22]. Za druhé, IL-6 indukuje zvýšení hladin proteinů zapojených do procesu kostní resorpce, např. peptidů vázajících paratyroidní hormon PTHrP [23]. Za třetí, IL-6 inhibuje osteogenezi zprostředkovanou Wnt, ještě více ruší homeostázu v kosti a posouvá rovnováhu směrem k degradaci kosti [24].

Hladina IL-6 odráží stupeň rozvoje monoklonálních gamapatií, jak bylo prokázáno ve studii, do které bylo začleněno

131 pacientů. Ze skupiny 22 nemocných s MGUS, což je prekancerózní stadium předcházející MM, byl IL-6 detekován pouze u jednoho jedince, u MM to bylo už 35 % pacientů a u nejagresivnějšího stadia zvaného plazmocytární leukemie se IL-6 vyskytoval ve vysoké koncentraci u všech pacientů. Navíc se hodnoty IL-6 lišily i mezi MM pacienty, podíl pacientů s vyšší hladinou IL-6 byl jiný při diagnóze (37 %), během intenzivního vývoje (60 %) a během stabilní fáze (13 %) [25]. Z druhé strany bylo prokázáno, že agresivní mimokostní stadia MM mohou být nezávislá na hladině IL-6 [26]. V klinických studiích byl testován účinek anti-IL-6 mAB (např. CNTO 328), který ale neprokázal zásadní vliv na léčbu MM.

RANKL, ligand z rodiny TNF, je produkován nezralými osteoblasty, stromálními buňkami a T lymfocyty [27,28]. Osteoklasty a jejich prekurzory produkují jeho receptor RANK. Vazbou RANKL na RANK se aktivují signální dráhy, které

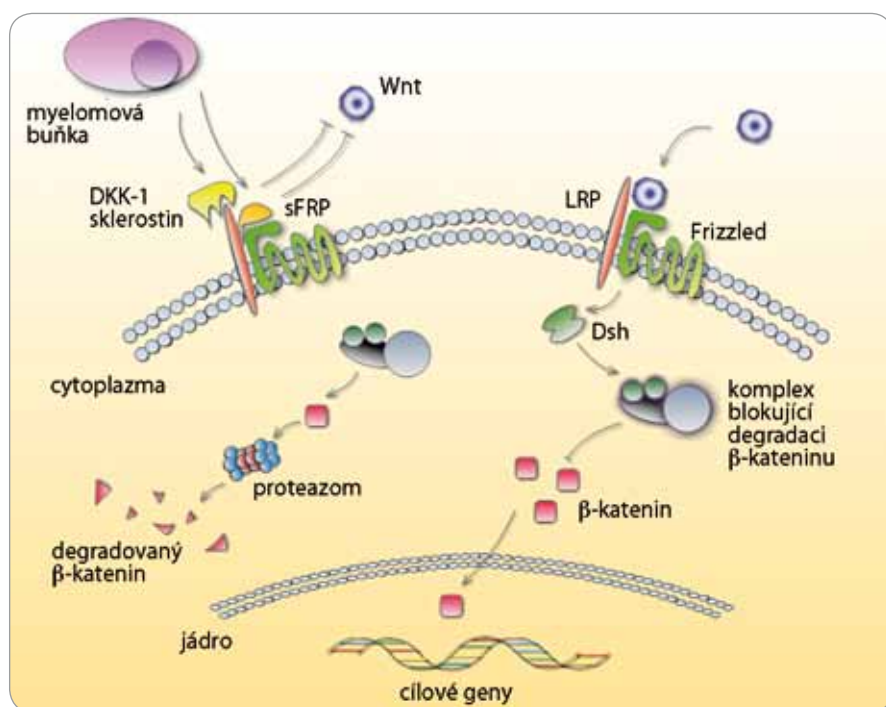
jsou důležité při diferenciaci osteoklastů z jejich prekurzorových buněk, RANKL také reguluje diferenciaci, funkci a přežívání osteoklastů [22,29]. Osteoprotegerin (OPG) je antagonistou RANKL, inhibuje vazbu RANK–RANKL, inhibuje diferenciaci a aktivaci osteoklastů, a tím brání degradaci kosti [30].

U MM je RANKL hlavním osteoklastogenním faktorem podílejícím se na lytické kostní nemoci. Jeho vysoká produkce ve stromálních buňkách pacientů s MM má důležitou úlohu v patogenezi MM [31]. Některé studie ukázaly, že RANKL je produkován i myelomovými buňkami [32]. V mikroprostředí kostní dřeně MM se interakcí stromálních a myelomových buněk produkce RANKL zvyšuje a OPG snižuje, což podporuje kostní resorpci a osteolýzu [33]. Hladiny těchto molekul korelují s klinickou aktivitou MM a závažností kostní nemoci [34]. Denosumab, monoklonální protilátka proti RANKL, byla schválena FDA k ochraně kostí před dalším poškozením u pacientů s nádory prostaty a prsu s kostními metastázami. V současné době probíhají klinické studie fáze III u pacientů s MM.

Myelomové buňky také vylučují transformující růstový faktor β (TGF β), pleiotropní cytokin, který za normálních podmínek mimo jiné inhibuje imunitní odpověď tím, že brání proliferaci a diferenciaci B lymfocytů a sekreci Ig [35]. Na rozdíl od účinku na B lymfocyty TGF β nesnižuje proliferaci myelomových buněk, a při vysokých koncentracích dokonce podporuje vylučování IL-6 těmito buňkami. Tímto zčásti zprostředkovává růst myelomu a podporuje patogenezi [36]. Navíc je TGF β důležitý v nerovnovážné kostní remodelaci u MM, je aktivní při zvýšené kostní resorpci a inhibuje osteoblasty. Inhibice TGF β podporuje diferenciaci osteoblastů, které pak inhibují růst a přežívání myelomových buněk. Naopak potlačení diferenciace osteoblastů urychluje ztrátu kostní tkáně [37].

Signální dráhy důležité v mikroprostředí kostní dřeně MM

V patogenezi MM je mnoho regulátorů, proteinových kináz a růstových faktorů,



Obr. 3. Dráha Wnt a její inhibitory v mnohočetném myelomu. V pravé části obrázku je zobrazena situace bez inhibitorů, kdy po navázání Wnt není β -katenin degradován. Přesunutím do jádra se spouští přepis genů pro normální vývoj osteoblastů. V levé části obrázku myelomová buňka produkuje inhibitory DKK-1 a sklerostin, které se vážou na receptor LRP, a sFRP, který blokuje vazbu na Frizzled receptor. β -katenin není přenesen do jádra, ale degradován v proteazomu, a tak je potlačena osteoblastogeneze.

pomocí kterých buňky komunikují. Tyto procesy nejsou jednoduché, právě přímým kontaktem strukturních a buněčných složek nebo podporou autokrinní a parakrinní produkce cytokinů se v mikroprostředí kostní dřeně aktivuje široké spektrum signálních drah [18,21,38,39].

Wnt/ β -katenin

Důležitou roli při růstu, vývoji a fungování osteoblastů hraje signální dráha Wnt/ β -katenin (obr. 3). Glykoproteiny Wnt se váží na koreceptory LRP-5 nebo LRP-6 a Frizzled receptor a aktivují Wnt dráhu. Přenos signálu stabilizuje β -katenin, který je translokován do jádra a zde stimuluje expresi genů zodpovědných za diferenciaci osteoblastů. Bez přítomnosti signálu je β -katenin fosforylován a degradován v proteazomu.

Existují dvě funkční skupiny antagonistů Wnt signalizace, a to sFRP a Dickkopf (DKK), po jejichž navázání se naruší funkce osteoblastů [40,41]. Významným inhibitorem u MM je DKK-1, který se váže na LRP-5. Je vylučován myelomovými buňkami a v jejich přítomnosti

také stromálními buňkami a osteoblasty. DKK-1 se vyskytuje především u pacientů s osteolytickými lézemi a jeho hladina koreluje s rozšířením osteolytických ložisek [24,42,43]. Kromě potlačení diferenciace osteoblastů také podporuje osteoklastogenezi zvýšenou expresí RANKL a sníženou expresí OPG [44]. V současnosti probíhají klinické studie fáze I/II, které testují anti-DKK-1 monoklonální protilátku (BHQ880) u MM.

Další skupina inhibitorů sFRP blokuje vazbu k receptoru Frizzled. Myelomové buňky produkují sFRP-2 a sFRP-3 a ty významně potlačují diferenciaci osteoblastů a tvorbu kostí [45,46]. Existuje však i studie, která ukazuje, že hladiny DKK-1 a sFRP u pacientů s MM nepotlačují diferenciaci lidských osteoblastů. To znamená, že nemusí být jedinými faktory zodpovědnými za inhibici osteoblastů [47].

Sklerostin je produkován osteocyty a působí na dráhu Wnt podobně jako DKK-1, tedy navázáním na LRP-5 [48]. Inhibuje aktivitu osteoblastů a indukuje jejich apoptózu, je negativním regulá-

torem tvorby kostní tkáně [49]. Teprve nedávno bylo potvrzeno, že sklerostin je vylučován i myelomovými buňkami, a tak přispívá k patogenezi MM [50].

Dráha NF- κ B

Obecně je tato dráha důležitá pro proliferaci, přežívání a vývoj nádorových buněk. U MM působí aktivace signalizace NF- κ B pozitivně na růst, rezistenci k lékům a přežívání myelomových buněk v mikroprostředí kostní dřeně [51]. Aktivace může probíhat jak klasickým způsobem, tak i alternativně. Bylo prokázáno, že mikroprostředí kostní dřeně u MM spouští tuto signalizaci prostřednictvím adheze i vylučováním cytokinů a chemokinů. Například růstový a anti-apoptotický faktor IL-6, jehož produkce je vyšší při adhezi myelomových a stromálních buněk, může indukovat dráhu NF- κ B [21]. Také TNF α aktivuje NF- κ B: za prvé u stromálních buněk, čímž podporuje vylučování IL-6 těmito buňkami, a za druhé u myelomových buněk, kde podporuje adhezi buněk a zvyšuje produkci intracelulární adhezivní molekuly 1 (ICAM-1) a vaskulární adhezivní molekuly 1 (VCAM-1) [19]. Aktivace je u MM možná oběma způsoby. Již dříve bylo zjištěno, že klasická dráha může být blokována inhibicí IKK β proteinu [51], ovšem to neplatí u alternativního způsobu aktivace. Proto byla také zjišťována inhibice jiné molekuly, a to IKK α , která se vyskytuje u obou způsobů aktivace. Růst buněk byl sice zpomalen, ale aktivita signalizace NF- κ B byla vyšší než u kontroly, což naznačuje, že inhibiční efekt IKK α je nezávislý na aktivitě NF- κ B [52].

Dráha PI3K/Akt

Fosfatidylinositol-3-kináza (PI3K)/Akt je jedna z nejčastěji aktivních drah u lidských nádorů. Mnoho proteinových kináz a transkripčních faktorů, které se účastní této signalizace, ovlivňuje rezistenci myelomových buněk k léčbě. Dráha PI3K/Akt reguluje průběh buněčného cyklu a apoptózu, indukuje syntézu DNA a působí na přežívání a migraci myelomových buněk. Je propojena s dráhou NF- κ B přes kinázu Akt, která, podobně jako IKK u dráhy NF- κ B, fosforyluje a degraduje I κ B α . To vede k přesunutí NF- κ B do jádra, kde může induko-

vat transkripci anti-apoptotických genů. Tedy Akt může inhibovat apoptózu aktivací NF- κ B [53].

Aktivátory této dráhy jsou IL-6 a růstový faktor podobný inzulinu 1 (IGF-1); aktivace PI3K je důležitá při proliferaci a anti-apoptotické odpovědi myelomových buněk na tyto cytokiny [54]. IL-6 nejen spouští dráhu PI3K/Akt, ale tato interakce má navíc regulační účinky na buněčný cyklus, chrání buňky před apoptózou způsobenou léky a ovlivňuje růst MM [55].

Důležitou součástí této dráhy je kináza mTOR, která se u savců vyskytuje ve dvou rozdílných komplexech, mTORC1 a mTORC2, které ovšem mají rozdílné funkce. Akt aktivuje mTORC1, který fosforyluje další molekuly regulující syntézu proteinů, a tak kontroluje buněčný růst. Naopak mTORC2 v odpovědi na růstové faktory aktivuje Akt a reguluje přežívání buněk [56]. V souvislosti s MM byl identifikován DEPTOR, který za fyziologických podmínek inhibuje mTORC1 a mTORC2. I když jeho vysoká produkce u MM inhibuje mTORC1, překvapivě také vede k aktivaci dráhy PI3K/mTORC2/Akt. Tento nepřímý způsob aktivace je důležitý ku příkladu u myelomových buněk, kterým chybí mutace aktivující PI3K [57]. V současnosti probíhají klinické studie, ve kterých jsou testovány kombinace lenalidomidu a everolimu (RAD001), inhibitoru mTOR jak v solidních nádorech, tak u refraktorního MM.

Dráhy Ras/Raf/MEK/MAPK a Jak2/STAT3

Dalšími důležitými drahami jsou Ras/Raf/MEK/MAPK a Jak2/STAT3, které mohou být aktivovány IL-6. Inhibice IL-6R sice blokuje fosforylaci STAT3, ale neovlivňuje aktivaci dráhy MAPK, z čehož vyplývá, že v mikroprostředí kostní dřeně se dráha STAT3 aktivuje prostřednictvím IL-6 a dráha MAPK mechanismy nezávislými na IL-6 [58].

K aktivaci dráhy Ras/Raf/MEK/MAPK, která stimuluje angiogenezi, proliferaci buněk a jejich apoptózu, jsou potřebné jak adhezivní interakce, tak vylučování růstových faktorů. Hlavními aktivními faktory této dráhy jsou IL-6 a IGF-1, které aktivují Ras [59,60]. Následně dojde k ak-

tivaci i ostatních složek – Raf, MEK a ERK. Tuto dráhu spouštějí také další faktory, jako VEGF [61]. Bylo dokázáno, že inhibice aktivity ERK se snižuje produkce VEGF, která vede ke snížení tvorby nových cév v kostní dřeni indukované myelomovými buňkami [62].

Dráha Jak2/STAT3 má vliv na přežívání myelomových buněk, aktivace této dráhy indukuje proliferaci a inhibici apoptózy. STAT3 přímo přispívá k malignímu rozvoji MM tím, že chrání myelomové buňky před apoptózou a podporuje přežívání [63]. Stimulace buněk IL-6 vede k signalizaci přes IL-6R a spouští fosforylaci STAT3 přes Jak, STAT3 je přenesen do jádra, kde aktivuje transkripci daných anti-apoptotických genů. Aktivace pomocí IL-6 tedy reguluje přežívání myelomových buněk vylučováním anti-apoptotických proteinů z rodiny Bcl-2, například Bcl-XL, Mcl-1 [63,64]. Bylo zjištěno, že v myelomových buňkách je STAT3 neustále aktivován a inhibice této dráhy indukuje apoptózu *in vitro* [58,65].

Rezistence k lékům způsobená mikroprostředím MM

Rezistentní fenotyp způsobený mikroprostředím MM může být dvojího typu: léková rezistence zprostředkovaná interakcemi cytokinů (cytokine mediated drug resistance – CM-DR), nebo léková rezistence zprostředkovaná adhezivním kontaktem buněk (cell adhesion-mediated drug resistance – CAM-DR). Oba mechanismy mají zásadní význam v patogenezi MM. Výraz CAM-DR byl poprvé použit ve studii MM, kde byla pozorována zvýšená produkce α_4 , β_1 a β_7 integrinů, které jsou vylučovány myelomovými buňkami. Adheze maligních buněk k fibronektinu může přispět ke vzniku rezistence *de novo*, chrání buňky před apoptózou způsobenou léky [38].

S adhezí myelomových buněk k fibronektinu je také asociována zvýšená hladina p27^{kip1}. Tento protein je důležitý pro udržení rezistentního fenotypu, má význam v buněčném cyklu, kde zadržuje buňky ve fázi G₁. Bylo prokázáno, že přerušением adheze se hladina p27^{kip1} snižuje, buňky pokračují v S fázi buněčného cyklu a opět se stávají citlivými k lékům. Pokusy s inhibicí produkce p27^{kip1} neměly vliv na adhezi, ale zvrá-

tily lékovou rezistenci. To dokazuje, že vyšší produkce tohoto proteinu přispívá k CAM-DR [66].

U MM je také nadměrně vylučována adhezivní molekula P-selektin a její ligand PSGL-1. Kromě jiných funkcí, jako jsou adheze a osídlování myelomových buněk v mikroprostředí kostní dřeně, je PSGL-1 důležitý v rozvoji lékové rezistence myelomových buněk *in vivo* a *in vitro*. Inhibice interakcí tohoto ligandu k selektinu podporuje citlivost myelomových buněk k bortezomibu, inhibitoru proteazomu [67].

Hladina HSP70 je také zmíněnými interakcemi zvýšena, navíc podporuje vyšší produkci IL-6, který pak napomáhá přežívání myelomových buněk pomocí aktivace signálních drah. Inhibice HSP70 potlačuje adhezi myelomových buněk k fibronektinu a způsobuje apoptózu rezistentních buněk. Fenotyp lékové rezistence je tak změněn a buňky se stávají citlivými k lékům. Tato studie ukázala, že inhibice HSP70 může způsobit apoptózu buněk, které vykazují rezistenci *de novo* i rezistenci získanou během léčby [68].

S rezistencí je také asociována dráha NF- κ B, jejíž aktivace je stimulována adhezí k fibronektinu [39]. Neustálá aktivita této dráhy vzdoruje inhibujícím účinkům bortezomibu, i v jeho přítomnosti přispívá jinými mechanismy k rezistenci. V této studii bylo navíc zjištěno, že pokud se myelomové buňky kultivují se stromálními buňkami pacienta s MM, aktivita dráhy NF- κ B, a tím i rezistence k bortezomibu, je ještě více podporována [69]. Pozdější výsledky potvrdily, že aktivace dráhy NF- κ B je významně vyšší ve stromálních buňkách a tyto buňky se významně liší od fyziologicky normálních buněk [70].

Závěr

V posledních letech bylo provedeno mnoho studií týkajících se mikroprostředí kostní dřeně u pacientů s MM, které dostávají toto téma do popředí zájmu a ukazují na jeho význam v patogenezi nemoci. Nicméně mechanismy probíhající v tomto mikroprostředí nebyly doposud zcela objasněny, proto je nutné pokračovat v dalším výzkumu. Na základě nových poznatků o aktivitě

buněk kostní dřene a procesech podílejících se na vzniku myelomových buněk bude možno identifikovat nové potenciální cíle a markery pro nové léky a stanovit efektivnější léčbu pro pacienty.

Literatura

- Hájek R, Mužík J, Maisnar V et al. Mnohočetný myelom, MNK klasifikace a Národní onkologický registr České republiky. *Klin Onkol* 2007; 20 (Suppl 1): 147–151.
- Hájek R, Krejčí M, Pour L et al. Mnohočetný myelom. *Klin Onkol* 2011; 24 (Suppl 1): S10–S13.
- Uchiyama H, Barut BA, Chauhan D et al. Characterization of adhesion molecules on human myeloma cell lines. *Blood* 1992; 80(9): 2306–2314.
- Caligiaris-Cappio F, Bergui L, Gregoret MG et al. Role of marrow stromal cells in the growth of human multiple myeloma. *Blood* 1991; 77(12): 2688–2693.
- Gregoret MG, Gottardi D, Ghia P et al. Characterization of bone marrow stromal cells from multiple myeloma. *Leuk Res* 1994; 18(9): 675–662.
- Ridley RC, Xiao H, Hata H et al. Expression of syndecan regulates human myeloma plasma cell adhesion to type I collagen. *Blood* 1993; 81(3): 767–774.
- Sanderson RD, Lalor P, Bernfield M. B lymphocytes express and lose syndecan at specific stages of differentiation. *Cell Regul* 1989; 1(1): 27–35.
- Wijdenes J, Vooijs WC, Clément C et al. A plasmacyte selective monoclonal antibody (B–B4) recognizes syndecan–1. *Br J Haematol* 1996; 94(2): 318–323.
- Dhodapkar MV, Abe E, Theus A et al. Syndecan–1 is a multifunctional regulator of myeloma pathobiology: control of tumor cell survival, growth, and bone cell differentiation. *Blood* 1998; 91(8): 2679–2688.
- Jourdan M, Ferlin M, Legouffe E et al. The myeloma cell antigen syndecan–1 is lost by apoptotic myeloma cells. *Br J Haematol* 1998; 100(4): 637–646.
- van Driel M, Günther U, Stauder R et al. CD44 isoforms distinguish between bone marrow plasma cells from normal individuals and patients with multiple myeloma at different stages of disease. *Leukemia* 1998; 12(11): 1821–1828.
- Crainie M, Belch AR, Mant MJ et al. Overexpression of the receptor for hyaluronan-mediated motility (RHAMM) characterizes the malignant clone in multiple myeloma: identification of three distinct RHAMM variants. *Blood* 1999; 93(5): 1684–1696.
- Eisterer W, Betcher O, Hilbe W et al. CD44 isoforms are differentially regulated in plasma cell dyscrasias and CD44v9 represents a new independent prognostic parameter in multiple myeloma. *Leuk Res* 2001; 25(12): 1051–1057.
- Cao Y, Luetkens T, Kobold S et al. The cytokine/chemokine pattern in the bone marrow environment of multiple myeloma patients. *Exp Hematol* 2010; 38(10): 860–867.
- Sati H, Apperley JF, Greaves M et al. Interleukin-6 is expressed by plasma cells from patients with multiple myeloma and monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Br J Haematol* 1998; 101(2): 287–295.
- Villunger A, Egle A, Kos M et al. Constituents of autocrine IL-6 loops in myeloma cell lines and their targeting for suppression of neoplastic growth by antibody strategies. *Int J Cancer* 1996; 65(4): 498–505.
- Klein B, Zhang XG, Jourdan M et al. Paracrine rather than autocrine regulation of myeloma-cell growth and differentiation by interleukin-6. *Blood* 1989; 73(2): 517–526.
- Uchiyama H, Barut BA, Mohrbacher AF et al. Adhesion of human myeloma-derived cell lines to bone marrow stromal cells stimulates interleukin-6 secretion. *Blood* 1993; 82(12): 3712–3720.
- Hideshima T, Chauhan D, Schlossman R et al. The role of tumor necrosis factor α in the pathophysiology of human multiple myeloma: therapeutic applications. *Oncogene* 2001; 20(33): 4519–4527.
- Dankbar B, Padró T, Leo R et al. Vascular endothelial factor and interleukin-6 in paracrine tumor-stromal cell interactions in multiple myeloma. *Blood* 2000; 95(8): 2630–2636.
- Chauhan D, Uchiyama H, Akbarali Y et al. Multiple myeloma adhesion-induced interleukin-6 expression in bone marrow stromal cells involves activation of NF- κ B. *Blood* 1996; 87(3): 1104–1112.
- Kim K, Lee J, Kim JH et al. Protein inhibitor of activated STAT3 modulates osteoclastogenesis by down-regulation of NFATc1 and osteoclast-associated receptor. *J Immunol* 2007; 178(9): 5588–5594.
- de la Mata J, Uy HL, Guise TA et al. Interleukin-6 enhances hypercalcemia and bone resorption mediated by parathyroid hormone-related protein in vivo. *J Clin Invest* 1995; 95(6): 2846–2852.
- Gunn WG, Conley A, Deininger L et al. A crosstalk between myeloma cells and marrow stromal cells stimulates production of DKK-1 and interleukin-6: a potential role in the development of lytic bone disease and tumor progression in multiple myeloma. *Stem Cells* 2006; 24(4): 986–991.
- Bataille R, Jourdan M, Zhang XG et al. Serum levels of interleukin-6, a potent myeloma cell growth factor, as a reflect of disease severity in plasma cell dyscrasias. *J Clin Invest* 1989; 84(6): 2008–2011.
- Asaoku H, Kawano M, Iwato K et al. Decrease in BSF-2/IL-6 response in advanced cases of multiple myeloma. *Blood* 1988; 72(2): 429–432.
- Yasuda H, Shima N, Nakagawa N et al. Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95(7): 3597–3602.
- Atkins GJ, Kostakis P, Pan B et al. RANKL expression is related to the differentiation state of human osteoblasts. *J Bone Miner Res* 2003; 18(6): 1088–1098.
- Lacey DL, Timms E, Tan HL et al. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell* 1998; 93(2): 165–176.
- Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell* 1997; 89(2): 309–319.
- Roux S, Meignin V, Quillard J et al. RANK (receptor activator of nuclear factor- κ B) and RANKL expression in multiple myeloma. *Br J Haematol* 2002; 117(1): 86–92.
- Croucher PJ, Shipman CM, Lippitt J et al. Osteoprotegerin inhibits the development of osteolytic bone disease in multiple myeloma. *Blood* 2001; 98(13): 3534–3540.
- Giuliani N, Bataille R, Mancini C et al. Myeloma cells induce imbalance in the osteoprotegerin/osteoprotegerin ligand system in the human bone marrow microenvironment. *Blood* 2001; 98(13): 3527–3533.
- Terpos E, Szydlo R, Apperley JF et al. Soluble receptor activator of nuclear factor- κ B ligand-osteoprotegerin ratio predicts survival in multiple myeloma: proposal for a novel prognostic index. *Blood* 2003; 102(3): 1064–1069.
- Kehrl JH, Roberts AB, Wakefield LM et al. Transforming growth factor β is an important immunomodulatory protein for human B lymphocytes. *J Immunol* 1986; 137(12): 3855–3860.
- Urashima H, Ogata A, Chauhan D et al. Transforming growth factor- β 1: differential effects on multiple myeloma versus normal B cells. *Blood* 1996; 87(5): 1928–1938.
- Takeuchi A, Abe M, Hiasa M et al. TGF- β inhibition restores terminal osteoblast differentiation to suppress myeloma growth. *PLoS ONE* 2010; 5(3): e9870.
- Damiano JS, Cress AE, Hazlehurst LA et al. Cell adhesion mediated drug resistance (CAM-DR): role of integrins and resistance to apoptosis in human myeloma cell lines. *Blood* 1999; 93(5): 1658–1667.
- Landowski TH, Olashaw NE, Agrawal D et al. Cell adhesion-mediated drug resistance (CAM-DR) is associated with activation of NF- κ B (RelB/p50) in myeloma cells. *Oncogene* 2003; 22(16): 2417–2421.
- Gong Y, Slee RB, Fukai N et al. Osteoporosis-Pseudoglioma Syndrome Collaborative Group. LDL receptor-related protein 5 (LRP5) affects bone accrual and eye development. *Cell* 2001; 107(4): 513–523.
- Bain G, Müller T, Wang X et al. Activated β -catenin induces osteoblast differentiation of C3H10T1/2 cells and participates in BMP2 mediated signal transduction. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 301(1): 84–91.
- Tian E, Zhan E, Walker R et al. The role of the WNT-signaling antagonist DKK1 in the development of osteolytic lesions in multiple myeloma. *N Engl J Med* 2003; 349(26): 2483–2494.
- Politou M, Heath DJ, Rahemtulla A et al. Serum concentrations of Dickkopf-1 protein are increased in patients with multiple myeloma and reduced after autologous stem cell transplantation. *Int J Cancer* 2006; 119(7): 1728–1731.
- Qiang YW, Barlogie B, Rudikoff S et al. Dkk1-induced inhibition of Wnt signaling in osteoblast differentiation is an underlying mechanism of bone loss in multiple myeloma. *Bone* 2008; 42(4): 669–680.
- Oshima T, Abe M, Asano J et al. Myeloma cells suppress bone formation by secreting a soluble Wnt inhibitor, sFRP-2. *Blood* 2005; 106(9): 3160–3165.
- Giuliani N, Morandi F, Tagliaferri S et al. Production of Wnt inhibitors by myeloma cells: potential effects on canonical Wnt pathway in the bone microenvironment. *Cancer Res* 2007; 67(16): 7665–7674.
- Giuliani N, Colla S, Morandi F et al. Myeloma cells block RUNX2/CBFA1 activity in human bone marrow osteoblast progenitors and inhibit osteoblast formation and differentiation. *Blood* 2005; 106(7): 2472–2483.
- Semenov M, Tamai K, He X. SOST is a ligand for LRP5/LRP6 and a Wnt signaling inhibitor. *J Biol Chem* 2005; 280(29): 26770–26775.
- Sutherland MK, Geoghegan JC, Yu C et al. Sclerostin promotes the apoptosis of human osteoblastic cells: a novel regulation of bone formation. *Bone* 2004; 35(4): 828–835.
- Colucci S, Brunetti G, Oranger A et al. Myeloma cells suppress osteoblasts through sclerostin secretion. *Blood Cancer J* 2011; 1(6): e27.
- Hideshima T, Chauhan D, Richardson P et al. NF- κ B as a therapeutic target in multiple myeloma. *J Biol Chem* 2002; 277(19): 16639–16647.
- Hideshima T, Chauhan D, Kiziltepe T et al. Biologic sequelae of κ -B kinase (IKK) inhibition in multiple myeloma: therapeutic implications. *Blood* 2009; 113(21): 5228–5236.
- Madrid LV, Wang CY, Guttridge DC et al. Akt suppresses apoptosis by stimulating the transactivation potential of the RelA/p65 subunit of NF- κ B. *Mol Cell Biol* 2000; 20(5): 1626–1638.
- Tu Y, Gardner A, Lichtenstein A. The phosphatidylinositol 3-kinase/AKT kinase pathway in multiple myeloma plasma cells: roles in cytokine-dependent survival and proliferative responses. *Cancer Res* 2000; 60(23): 6763–6770.
- Hideshima T, Nakamura N, Chauhan D et al. Biologic sequelae of interleukin-6 induced PI3-K/Akt signaling in multiple myeloma. *Oncogene* 2001; 20(42): 5991–6000.
- Guertin DA, Sabatini DM. Defining the role of mTOR in cancer. *Cancer Cell* 2007; 12(1): 9–22.
- Peterson TR, Laplante M, Thoreen CC et al. DEPTOR is an mTOR inhibitor frequently overexpressed in multiple myeloma cells and required for their survival. *Cell* 2009; 137(5): 873–886.
- Chatterjee M, Stühmer T, Herrmann P et al. Combined disruption of both the MEK/ERK and the IL-6R/STAT3 pa-

thways is required to induce apoptosis of multiple myeloma cells in the presence of bone marrow stromal cells. *Blood* 2004; 104(12): 3712–3721.

59. Nakafuku M, Satoh T, Kkaziyo Y. Differentiation factors, including nerve growth factor, fibroblast growth factor, and interleukin-6, induce an accumulation of an active Ras-GTP complex in rat pheochromocytoma PC12 cells. *J Biol Chem* 1992; 267(27): 19448–19454.

60. Ge NL, Rudikoff S. Insulin-like growth factor I is a dual effector of multiple myeloma cell growth. *Blood* 2000; 96(8): 2856–2861.

61. Podar K, Tai Y, Davies FE et al. Vascular endothelial factor triggers signaling cascades mediating multiple myeloma cell growth and migration. *Blood* 2001; 98 (2): 428–435.

62. Giuliani N, Lunghi P, Morandi F et al. Downmodulation of ERK protein kinase activity inhibits VEGF secretion by

human myeloma cells and myeloma-induced angiogenesis. *Leukemia* 2004; 18(3): 628–635.

63. Catlett-Falcone R, Landowski TH, Oshiro MM et al. Constitutive activation of Stat3 signaling confers resistance to apoptosis in human U266 myeloma cells. *Immunity* 1999; 10(1): 105–115.

64. Puthier D, Bataille R, Amiot M. IL-6 up-regulates mcl-1 human myeloma cells through JAK/STAT rather than ras/MAP kinase pathway. *Eur J Immunol* 1999; 29(12): 3945–3950.

65. Bharti AC, Shishodia S, Reuben JM et al. Nuclear factor- κ B and STAT3 are constitutively active in CD138+ cells derived from multiple myeloma patients, and suppression of these transcription factors leads to apoptosis. *Blood* 2004; 103(8): 3175–3184.

66. Hazlehurst LA, Damiano JS, Buyuksal I et al. Adhesion to fibronectin via β 1 integrins regulates p27kip1 le-

vels and contributes to cell adhesion mediated drug resistance (CAM-DR). *Oncogene* 2000; 19(38): 4319–4327.

67. Azab AK, Quang P, Azab F et al. P-selectin glycoprotein ligand regulates the interaction of multiple myeloma cells with the bone marrow microenvironment. *Blood* 2012; 119(6): 1468–1478.

68. Nimmanapalli R, Gerbino E, Dalton WS et al. HSP70 inhibition reverses cell adhesion mediated and acquired drug resistance in multiple myeloma. *Br J Haematol* 2008; 142(4): 551–561.

69. Markovina S, Callender NS, O'Connor SL et al. Bortezomib-resistant nuclear factor- κ B activity in multiple myeloma cells. *Mol Cancer Res* 2008; 6(8): 1356–1364.

70. Markovina S, Callender NS, O'Connor SL et al. Bone marrow stromal cells from multiple myeloma patients uniquely induce bortezomib resistant NF- κ B activity in myeloma cells. *Mol Cancer* 2010; 9: 176.



XVI. ČESKO-SLOVENSKÝ HEMATOLOGICKÝ A TRANSFUZIOLOGICKÝ SJEZD
XIII. ČESKO-SLOVENSKÁ KONFERENCE LABORATORNÍ HEMATOLOGIE

**XVI. ČESKO-SLOVENSKÝ
HEMATOLOGICKÝ
A TRANSFUZIOLOGICKÝ SJEZD
6.–8. září 2012**

**ČESKÁ REPUBLIKA
BRNO VÝSTAVIŠTĚ - PAVILON E**

**XIII. ČESKO-SLOVENSKÁ
KONFERENCE
LABORATORNÍ HEMATOLOGIE
5.–6. září 2012**



Česká hematologická
společnost ČLS JEP



www.hematology2012.cz

CT kolonografie – přehled vývoje metodiky a indikací

CT Colonography – Evolution of Methodology and Indications

Opletal P., Standara M.

Masarykův onkologický ústav, Brno

Souhrn

Východiska: Technologický pokrok ve vývoji CT přístrojů a výpočetní techniky v polovině 90. let 20. století umožnil vizuální rekonstrukci vnitřního lumen dutých orgánů. Metoda, využívaná zejména pro zobrazení tračníku, se od počátku potýkala s mnoha obtížemi a limity způsobenými především nedostatečně propracovanou metodikou přípravy a distenze střeva a vysokou radiační zátěží pacienta na soudobých přístrojích. **Cíl:** Cílem práce je poskytnout přehled o inovacích technického i metodického charakteru, které zmíněné nedostatky částečně či úplně řeší. Díky těmto změnám CT kolonografie získala své místo v algoritmu diagnostiky kolorektálního karcinomu jako vyšetření po nekompletní nebo neproveditelné optické kolonoskopii. Jsou jmenovány specifické skupiny pacientů, kteří z nové metody mají zvláštní prospěch. Stručně je nastíněna i problematika dosud nevyjasněné pozice CT kolonografie v rámci screeningu kolorektálního karcinomu. **Závěr:** CT kolonografie je relativně novou metodou, která nemůže beze zbytku nahradit optickou kolonoskopii. Díky pokrokům v technologiích se nicméně stává platným diagnostickým nástrojem s určitými výhodami oproti jiným zobrazovacím nebo intervenčním metodám, jež lze při vhodné indikaci přenášet na pacienta.

Klíčová slova

radiologie – tomografie spirální počítačová – kolonografie počítačovou tomografií – kolonoskopie – kolorektální nádory – plošný screening

Summary

Background: Advances in CT scanners technology and computing in 90s allowed visual reconstruction of hollow organs inner surface. This method which was mainly used for colon wall imaging had to deal with several limitations from the very first years caused by poorly developed methodology of colonic preparation and distension as well as high radiation exposure. **Design:** Aim of the paper is to provide an overview of technical and methodological innovations that can at least partially overcome above mentioned shortcomings. Due to these changes, CT colonography became the recognized method after incomplete or impossible optical colonography. Specific patient subgroups which particularly benefit from this modality and unresolved role of the CT colonography in colorectal cancer screening are also mentioned. **Conclusion:** CT colonography is a relatively new method that can not completely replace optical colonoscopy. Thanks to advances in technology, however, it became a valid diagnostic tool with certain advantages over other imaging or invasive methods. These benefits can be handed over to a patient when the examination is carefully indicated.

Key words

radiology – tomography, spiral computed – CT colonography – colonoscopy – colorectal neoplasms – mass screening

Práce byla podpořena výzkumným záměrem MZ ČR: FUNDIN MZOMOU2005. Práce byla podpořena Evropským fondem pro regionální rozvoj a státním rozpočtem České republiky (OP VaVpl – RECAMO, CZ.1.05/2.1.00/03.0101).

This study was supported by scientific program of the Czech Ministry of Health: FUNDIN MZOMOU2005. This study was also supported by European fund for regional development and budget of the Czech Republic (OP VaVpl – RECAMO, CZ.1.05/2.1.00/03.0101).

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. Michal Standara

Masarykův onkologický ústav

Žlutý kopec 7

656 53 Brno

e-mail: standara@mou.cz

Obdrženo/Submitted: 21. 12. 2011

Přijato/Accepted: 18. 3. 2012

Úvod

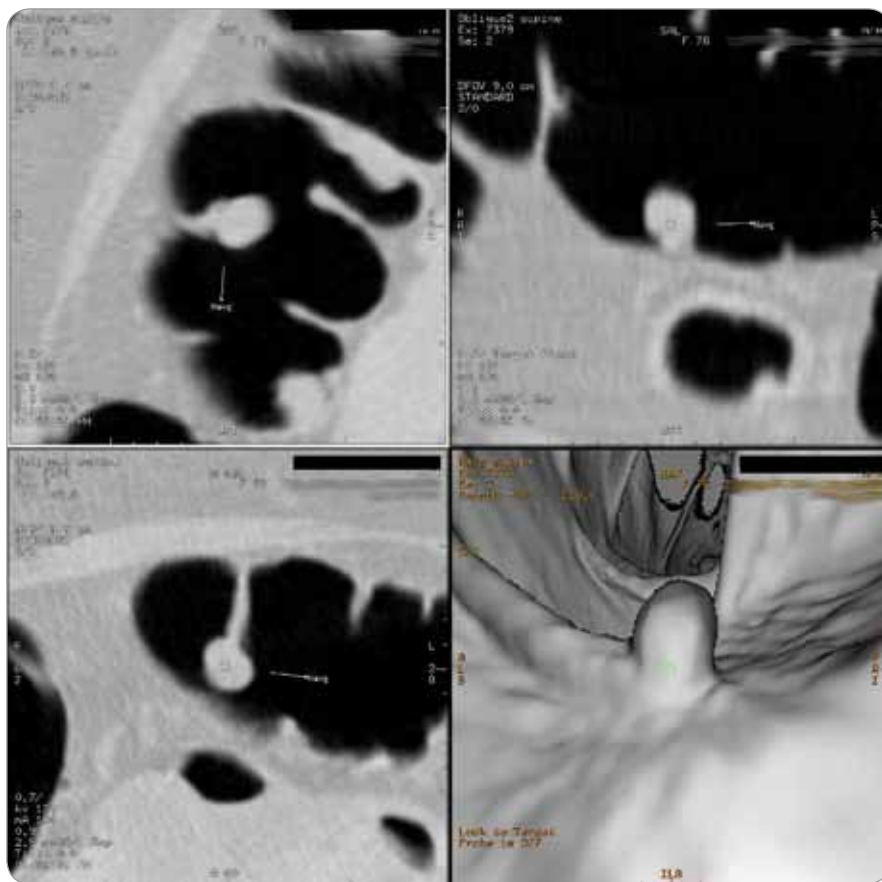
Pokrok ve vývoji technologií a výzkum nových diagnostických postupů jdou v radiologii vždy ruku v ruce v takřka dokonalé synergii, nelze si představit nové sofistikované vyšetřovací metody bez podpory výkonného přístrojového a softwarového vybavení, a zároveň naopak nové poznatky vědeckých týmů udávají směr technologického pokroku a stimulují přenášení pokročilých technologií do každodenní praxe. Tento synergismus lze sledovat i na příkladu relativně nové aplikace – CT kolonografie (CTC). Vývoj počítačové techniky a softwarového vybavení umožnil z naskenovaných dat spirálního CT přístroje rekonstruovat detailní trojrozměrné zobrazení vnitřního povrchu tělních dutin připomínající endoskopický pohled (obr. 1). Takto pojatá „virtuální endoskopie“ byla poprvé prezentována Viningem a Gelfandem v roce 1994 na endoskopii bronchů a střeva [1]. Nový přístup k zobrazení získaných objemových dat podnítil další výzkum a upozornil na tehdejší limity přístrojového vybavení [2]. Následné studie [3,4] se pokusily stanovit místo CTC ve vyšetřovacím algoritmu a poskytly praktické informace k provedení výkonu [5]. Přesto ve svých počátcích metoda do klinické praxe významněji nevstoupila, a to kvůli radiační zátěži pacientů na souběžných CT přístrojích, vysokým finančním nákladům [6] a problematické očištění střeva před vyšetřením [7].

V současné době již díky technologickému i medicínskému vývoji lze CT kolonografii považovat za zavedenou radiologickou techniku zobrazení tlustého střeva, bylo publikováno množství zlepšení, zejména v oblasti přípravy střevního lumen a jeho distenze, akvizice a zpracování dat, což nepochybně přispělo ke zlepšení diagnostické síly metody a rozšířilo její indikace.

Současné standardy a indikace

Příprava a distenze střeva

Z technického pohledu první podstatný krok představuje příprava pacienta. V současné době je jako alternativa ke kompletní očištění střeva laxativy, obdobně jako před optickou kolonoskopií, uváděna minimálně invazivní příprava střeva s malým množstvím nebo

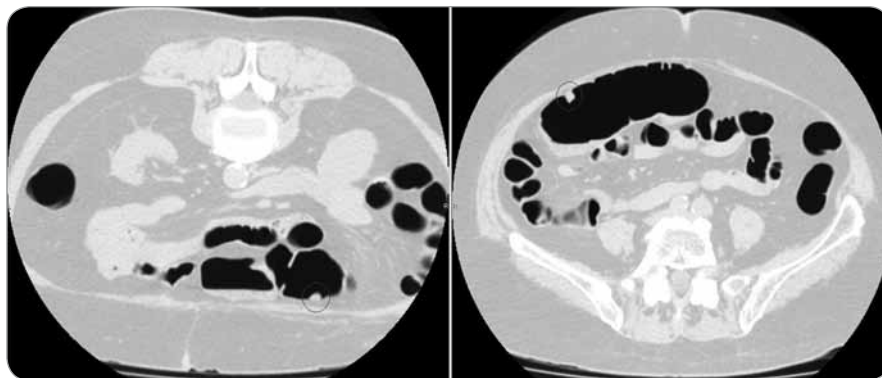


Obr. 1. Multiplanární a 3D rekonstrukce vnitřního povrchu tračníku s polypem.

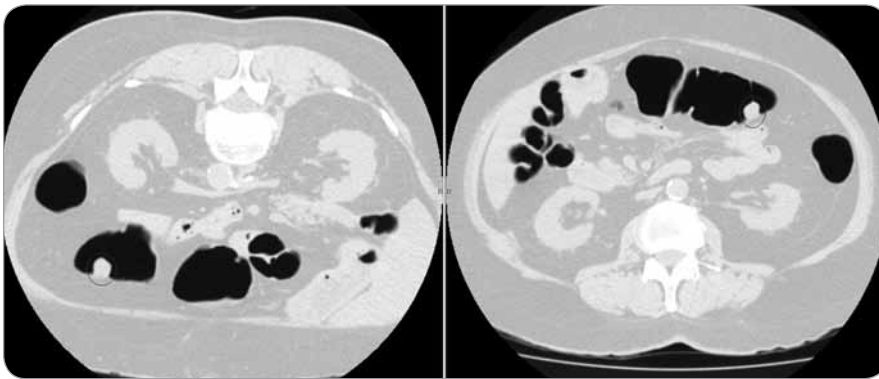
i bez nutnosti podání laxativ [8]. Tento pro pacienta komfortní postup však současně vyžaduje k označení reziduí tekutiny a stolice ve střevě perorální podání pozitivní kontrastní látky, využít lze baryové nebo jodové kontrastní látky. Toto „značení stolice“ zvyšuje senzitivitu vyšetření na úroveň odpovídající postupu s kompletní střevní přípravou [9].

Bezprostředně před vyšetřením je nutné střevo distendovat, toto provádíme pomocí manuální nebo automa-

tické insuflace střeva vzduchem nebo CO_2 po intravenózním podání spasmolytika. Preferována je automatická aplikace CO_2 , některé studie [10] uvádějí vyšší komfort pro pacienta, protože dochází k rychlejší resorpci plynu po vyšetření, udávána je rovněž kvalitnější distenze střevní stěny pomocí CO_2 , nicméně subjektivní efekt pro pacienta je hodnocen jako nevýrazný [11]. Užití spasmolytika (N-butyl-scopolaminu, Buscopanu) zabráňuje spasmům tlustého střeva,



Obr. 2. Polohově nezávislé léze – polyp.



Obr. 3. Polohově dependentní léze – fekální zbytky.



Obr. 4. Porovnání obrazu z CT kolonografie s konvenční kolonoskopií.



Obr. 5. Porovnání obrazu z CT kolonografie s konvenční kolonoskopií.

jinak častým zejména v oblasti sigmoidea a při výskytu divertiklů [12].

CT vyšetření

Ke standardnímu postupu nadále patří vyšetření pacienta v poloze na zádech a na břiše (obr. 2, 3). Díky pokrokům ve vývoji CT přístrojů jsou nyní skenovací protokoly extrémně rychlé, což snižuje množství pohybových artefaktů a umožňuje významné snížení radiační zátěže pacienta. Nyní jsou již ru-

tinně užívány nízkodávkové protokoly s dávkou okolo 5–6 mSv, což představuje přibližně 2,5násobek dávky obdržené při klasickém vyšetření dvoukontrastní irigografií [13] a dvojnásobek průměrné roční efektivní dávky z přírodních zdrojů, odhadované na přibližně 2,4 mSv [14]. S novými rekonstrukčními algoritmy lze dosáhnout dalšího snížení efektivní dávky přibližně na polovinu, a to při zachované diagnostické hodnotě obrazových dat [15].

Vyhodnocení nálezu

Pokročilé softwarové nástroje jako virtuální disekce nebo počítačově asistovaná diagnóza (CAD) jsou schopné zvyšovat výkon hodnotícího radiologa [16], doporučována je aplikace CAD pro obě části vyšetření, v poloze na zádech i na břiše (obr. 4–6) [17]. Přesto nelze roli CAD přeceňovat, v prospektivní studii [18] nebyl přínos CAD na základě zvýšení senzitivity vyšetření statisticky významný, CAD rovněž nemůže nahradit zkušenosti radiologa [19]. Jako podklad ke stanovení optimálního postupu při aplikaci CAD mohou sloužit pouze jednotlivé studie, metaanalýza [20] dosvědčuje nemožnost shrnutí současných publikovaných dat týkajících se využití CAD do kvalifikovaného závěru pro jejich nehomogenitu.

Indikace

V současné době je CT kolonografie jednoznačně uznávanou metodou volby po nekompletní kolonoskopii namísto dříve užívané irigografie [21]. Metoda je často užívána k detekci nádorů u starších pacientů, a to z důvodu vyššího podílu inkompletních kolonoskopií v této populaci a nižší invazivity ve srovnání s optickou kolonoskopií, což významně snižuje riziko komplikací [22,23]. Další skupinou pacientů, která může těžit z výhod CTC, jsou nemocní s divertikulární chorobou tračníku, rovněž v tomto případě bývá klasická kolonoskopie často nedokončena, terén mnohočetných divertiklů nesnižuje diagnostickou hodnotu CT kolonografie [24].

Nejdiskutovanější indikací CTC zůstává screening kolorektálního karcinomu [25,26]. Panuje shoda o pozici CTC ve screeningu v již zmíněné indikaci po nekompletní kolonoskopii namísto dříve užívané dvoukontrastní irigografie, naopak v případě zařazení CT vyšetření tračníku do první linie screeningového vyšetření se názory odborných společností liší, v současné době není screeningová CT kolonografie např. v USA hrazena z programu Medicare [27]. Největší rozpaky nadále vzbuzuje relativně vysoká expozice ionizačnímu záření a v pozadí nezůstává ani problém nestejnorodé kvality vyšetření v běžné praxi [28].

V budoucnu k širšímu uplatnění metody CTC v rámci onkologické prevence

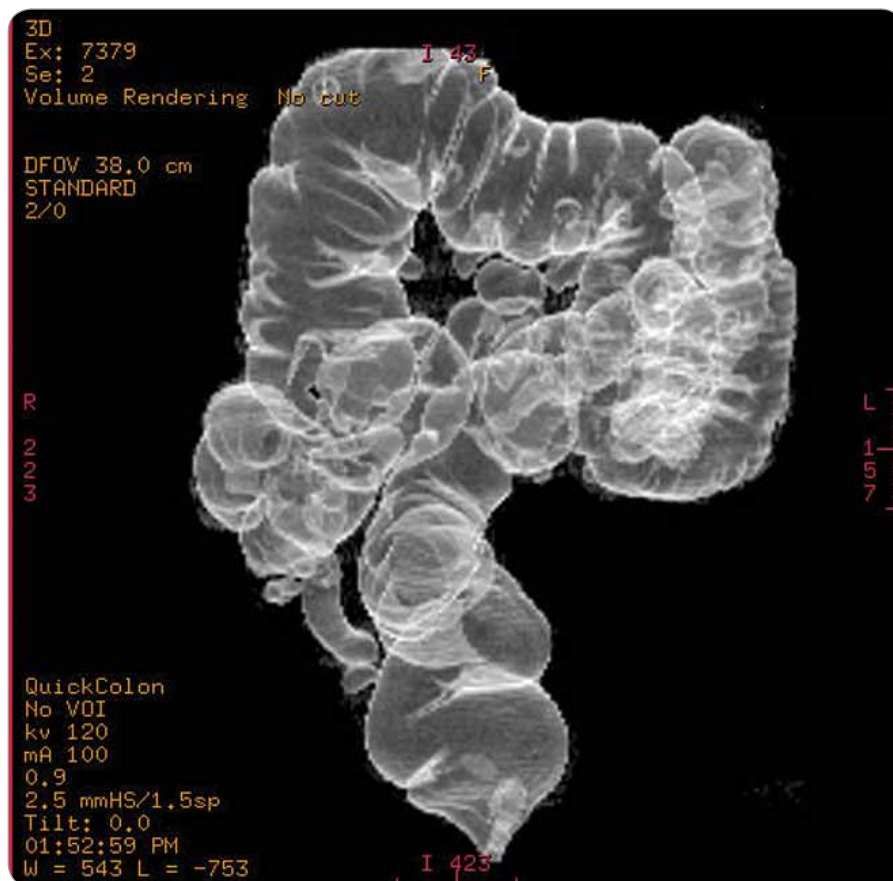
Tab. 1. CT kolonografie – srovnání s optickou kolonoskopií.

Výhody:

menší invazivita a počty komplikací
zobrazení okolních struktur
možnost dvojího čtení

Nevýhody:

nepřímé zobrazení (nemožnost biopsie)
radiační zátěž
nejistá senzitivita a specifita – různé studie



Obr. 6. Segmentace tračníku (volume rendering).

bude potřebné učinit z ní metodu obecně přijímanou v populaci, zlepšit efektivitu a snížit radiační zátěž z ní plynoucí.

Komplikace

Mezi závažné komplikace vyšetření patří zejména střevní perforace, ostatní v literatuře popisované události zahrnují jednotlivé případy bolestí na hrudi nebo akutního renálního selhání v souvislosti s přípravou k vyšetření [29].

Incidence perforace se pohybuje dle jednotlivých studií mezi 0,005 % a 0,06 % u diagnostických vyšetření, výskyt perforace při optické kolonoskopii je popisován okolo 0,1–0,2 % [29]. Perforace vznikala téměř výhradně u vysoce rizi-

kových pacientů, u nichž optická kolonoskopie nebyla dokončena, nebo byla kontraindikována [29–31]. U screeningových pacientů byl výskyt perforace ojedinělý [31], někteří autoři rovněž upozorňují na skutečnost, že střevní perforace nebyly popisovány v případech, kdy se pro distenzi lumen použilo automatické insufflace CO₂ [29].

Závěr

Radiologická vyšetřovací metoda CT kolonografie je známa laické veřejnosti i části lékařů – neradiologů jako virtuální kolonoskopie. Tento název, přestože již není v současném odborném názvosloví, nejspíše zůstane s metodou

i nadále spjat, zřejmě díky pocitu odlehčení, které slovo „virtuální“ přináší k nepříjemné a často neopodstatněné odmítané „kolonoskopii“. Ona virtuálnost slibuje počítačovou futuristickou dokonalost a bezbolestné vyšetření, které v očích pacientů probíhá vlastně pouze na obrazovce.

Pokud přijmeme laické zjednodušení popisované v předchozím odstavci, lze skutečně tuto mladou metodu přijmout jako platný diagnostický nástroj s nepominutelnými přednostmi, přestože metoda k dokonalosti ještě zdaleka nedospěla.

Technika výkonu je skutečně pro pacienta příjemnější než optická kolonoskopie nebo dvoukontrastní irigografické vyšetření a metoda je principiálně bezpečná, udávané počty komplikací souvisejících s výkonem jsou mnohem nižší než při optické kolonoskopii. Za velkou výhodou této techniky lze považovat současné CT zobrazení i ostatních břišních struktur včetně orientačního posouzení spádových lymfatických uzlin, což lze v praxi využít pro sledování pacientů v průběhu léčby maligního onemocnění tlustého střeva (tab. 1).

Literatura

1. Vining DJ, Gelfand DW. Non-invasive colonoscopy using helical CT scanning, 3D reconstruction, and virtual reality. Hawaii, Maui: 23rd annual meeting, SGR Scientific Program 1994: Abstract 70.
2. Johnson CD, Hara AK, Reed JE. Computed tomographic colonography (Virtual colonoscopy): a new method for detecting colorectal neoplasms. *Endoscopy* 1997; 29(6): 454–461.
3. Fletcher JG, Johnson CD, Welch TJ et al. Optimization of CT colonography technique: prospective trial in 180 patients. *Radiology* 2000; 216(3): 704–711.
4. Royster AP, Fenlon HM, Clarke PD et al. CT colonoscopy of colorectal neoplasms: two-dimensional and three-dimensional virtual-reality techniques with colonoscopic correlation. *AJR Am J Roentgenol* 1997; 169(5): 1237–1242.
5. Valev V, Wang G, Vannier MW. Techniques of CT colonography (virtual colonoscopy). *Crit Rev Biomed Eng* 1999; 27(1–2): 1–25.
6. Sonnenberg A, Delcò F, Bauerfeind P. Is virtual colonoscopy a cost-effective option to screen for colorectal cancer? *Am J Gastroenterol* 1999; 94(8): 2268–2274.

7. McFarland EG, Brink JA. Helical CT colonography (virtual colonoscopy): the challenge that exists between advancing technology and generalizability. *Am J Roentgenol* 1999; 173(3): 549–559.
8. Liedenbaum MH, Denters MJ, de Vries AH et al. Low-fiber diet in limited bowel preparation for CT colonography: influence on image quality and patient acceptance. *AJR Am J Roentgenol* 2010; 195(1): W31–W37.
9. Mahgerefteh S, Fraifeld S, Blachar A et al. CT Colonography with decreased purgation: balancing preparation, performance, and patient acceptance. *Am J Roentgenol* 2009; 193(6): 1531–1539.
10. Church J, Delaney C. Randomized, controlled trial of carbon dioxide insufflation during colonoscopy. *Dis Colon Rectum* 2003; 46(3): 322–326.
11. Burling D, Taylor SA, Halligan S et al. Automated insufflation of carbon dioxide for MDCT colonography: distension and patient experience compared with manual insufflation. *AJR Am J Roentgenol* 2006; 186(1): 96–103.
12. Behrens C, Stevenson G, Eddy R et al. Effect of intravenous Buscopan on colonic distention during computed tomography colonography. *Can Assoc Radiol J* 2008; 59(4): 183–190.
13. Hirofuji Y, Aoyama T, Koyama S et al. Evaluation of patient dose for barium enemas and CT colonography in Japan. *Br J Radiol* 2009; 82(975): 219–227.
14. United Nations Scientific Committee on the Sources and Effects of Ionising Radiation. Report on the effects of atomic radiation to the general assembly, 2000. Medical radiation exposures. New York: UN 2001.
15. Flicek KT, Hara AK, Silva AC et al. Reducing the radiation dose for CT colonography using adaptive statistical iterative reconstruction: a pilot study. *Am J Roentgenol* 2010; 195(1): 126–131.
16. Dachman AH, Obuchowski NA, Hoffmeister JW et al. Effect of computer-aided detection for CT colonography in a multi-reader, multicase trial. *Radiology* 2010; 256(3): 827–835.
17. Robinson C, Halligan S, Iinuma G et al. CT colonography: computer-assisted detection of colorectal cancer. *Br J Radiol* 2011; 84(1001): 435–440.
18. de Vries AH, Jenssch S, Liedenbaum MH et al. Does a computer-aided detection algorithm in a second read paradigm enhance the performance of experienced computed tomography colonography readers in a population of increased risk? *Eur Radiol* 2009; 19(4): 941–950.
19. Fisichella VA, Jäderling F, Horvath S et al. Computer-aided detection (CAD) as a second reader using perspective file view at CT colonography: effect on performance of inexperienced readers. *Clin Radiol* 2009; 64(10): 972–982.
20. Robinson C, Halligan S, Taylor SA et al. CT colonography: a systematic review of standard of reporting for studies of computer-aided detection. *Radiology* 2008; 246(2): 426–433.
21. AGA Clinical Practice and Economics Committee. Position of the American Gastroenterological Association (AGA) Institute on computed tomographic colonography. *Gastroenterology* 2006; 131(5): 1627–1628.
22. Iafate F, Hassan C, Zullo A et al. CT colonography with reduced bowel preparation after incomplete colonoscopy in the elderly. *Eur Radiol* 2008; 18(7): 1385–1395.
23. Yucel C, Lev-Toaff AS, Moussa N et al. CT colonography for incomplete or contraindicated optical colonoscopy in older patients. *AJR Am J Roentgenol* 2008; 190(1): 145–150.
24. Sanford MF, Pickhardt PJ. Diagnostic performance of primary 3-dimensional computed tomography colonography in the setting of colonic diverticular disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4(8): 1039–1047.
25. Levin B, Lieberman DA, McFarland B et al. Screening and surveillance for the early detection of colorectal cancer and adenomatous polyps, 2008: a joint guideline from the American Cancer Society, the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer, and the American College of Radiology. *CA Cancer J Clin* 2008; 58(3): 130–160.
26. Laghi A, Iafate F, Rengo M et al. Colorectal cancer screening: the role of CT colonography. *World J Gastroenterol* 2010; 16(32): 3987–3994.
27. Mitka M. Virtual colonoscopy dealt setback with rejection for coverage by Medicare. *JAMA* 2009; 301(13): 1327–1328.
28. Whitlock EP, Lin JS, Liles E et al. Screening for colorectal cancer: a targeted, updated systematic review for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med* 2008; 149(9): 638–658.
29. Pickhardt PJ. Incidence of colonic perforation at CT colonography: review of existing data and implications for screening of asymptomatic adults. *Radiology* 2006; 239(2): 313–316.
30. Burling D, Halligan S, Slater A et al. Potentially serious adverse events at CT colonography in symptomatic patients: national survey of the United Kingdom. *Radiology* 2006; 239(2): 464–471.
31. Sosna J, Blachar A, Amitai M et al. Colonic perforation at CT colonography: assessment of risk in a multicenter large cohort. *Radiology* 2006; 239(2): 457–463.

Dlouhé nekódující RNA a jejich význam u nádorových onemocnění

Long Non-Coding RNAs And Their Relevance in Cancer

Šána J.^{1,2}, Faltejsová P.^{1,2}, Svoboda M.^{1,2,3}, Slabý O.^{1,2}

¹ CEITEC – Středoevropský technologický institut, MU Brno

² Klinika komplexní onkologické péče, Masarykův onkologický ústav, Brno

³ Oddělení epidemiologie a genetiky nádorů, Masarykův onkologický ústav, Brno

Souhrn

Většinu eukaryotického genomu představují DNA sekvence, které nekódují proteiny. Tyto sekvence jsou přepisovány buď podle vývojového programu daného organismu nebo v rámci odpovědi na vnější signály. Výsledkem transkripce takových sekvencí je pak velké množství dlouhých nekódujících RNA (lncRNA). Celogenomové studie předpokládají existenci více než 3 300 lncRNA. Dlouhé nekódující RNA jsou definovány jako molekuly nekódujících RNA o délce více než 200 nukleotidů. Vzhledem k vysoké míře komplexnosti a rozmanitosti těchto sekvencí byl nárůst poznání v této oblasti relativně pomalý. Ačkoli bylo dosud funkčně charakterizováno pouze omezené množství lncRNA, jejich regulační potenciál je již dnes evidentní. lncRNA hrají klíčové role jak v transkripčních, tak v post-transkripčních regulačních drahách. U mnoha nádorových onemocnění dochází k deregulaci lncRNA, což společně s jejich funkčními vlastnostmi naznačuje jejich významný potenciál v procesech maligní transformace. Tento přehledový článek je zaměřen na shrnutí nedávno objevených skupin lncRNA, popis jejich biologických funkcí a zejména na jejich význam v nádorové biologii a translačním onkologickém výzkumu.

Klíčová slova

dlouhé nekódující RNA – lincRNA – pseudogeny – T-UCR – nádorová onemocnění

Summary

A major portion of the eukaryotic genome is occupied by DNA sequences; transcripts of these sequences do not code for proteins. This part of the eukaryotic genome is transcribed in a developmentally regulated manner or as a response to external stimuli to produce large numbers of long non-coding RNAs (lncRNAs). Genome-wide studies indicate the existence of more than 3,300 lncRNAs. Long non-coding RNAs are tentatively defined as molecules of ncRNAs that are more than two hundred nucleotides long. Due to the complexity and diversity of their sequences, progress in the field of lncRNAs has been very slow. Nonetheless, lncRNAs have emerged as key molecules involved in the control of transcriptional and posttranscriptional gene regulatory pathways. Although limited numbers of functional lncRNAs have been identified so far, the immense regulatory potential of lncRNAs is already evident, emphasizing that a genome-wide characterization of functional lncRNAs is needed. The fact that many lncRNAs are deregulated in various human cancers, together with their functional characteristics, implies their eminent role in carcinogenesis. In this review, we summarize novel classes of lncRNAs, describe their biological functions emphasizing their roles in tumor biology and translational oncology research.

Key words

long non-coding RNAs – lincRNA – pseudogenes – T-UCR – cancer

Práce byla podpořena granty IGA MZČR NT11214-4/2010, NT13514-4/2012, NT/13549, NT/13860, NT/13585, a prostředky institucionální podpory výzkumné organizace poskytnuté Ministerstvem zdravotnictví ČR v roce 2012.

This study was supported by grants of Internal Grant Agency of the Czech Ministry of Health No. NT11214-4/2010, NT13514-4/2012, NT/13549, NT/13860 and NT/13585 and by Institutional Resources for Supporting the Research Organization provided by the Czech Ministry of Health in 2012.

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

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

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

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



RNDr. Ondřej Slabý, Ph.D.

Klinika komplexní onkologické péče
Masarykův onkologický ústav
Žlutý kopec 7
656 53 Brno
e-mail: on.slaby@gmail.com

Obdrženo/Submitted: 30. 6. 2012

Přijato/Accepted: 3. 8. 2012

Úvod

Centrální dogma molekulární biologie popisující vztah mezi genetickou informací a jejím fenotypovým vyjádřením pohlíží na RNA především jako na spojovací článek mezi DNA a proteinem. Tímto spojovacím článkem je primárně myšlena kódující mediátorová RNA (mRNA) určující pořadí aminokyselin v peptidovém řetězci. Avšak v samotném procesu translace jsou přímo zapojeny rovněž nekódující RNA (ribozomální a transferová RNA). Kromě toho je obecně akceptováno, že zásadní roli v biologii buňky hrají i další nekódující RNA, jako jsou například malé jaderné RNA účastnící se posttranskripčního sestřihu anebo malé jadéřkové RNA zapojené do posttranskripční modifikace ribozomální RNA.

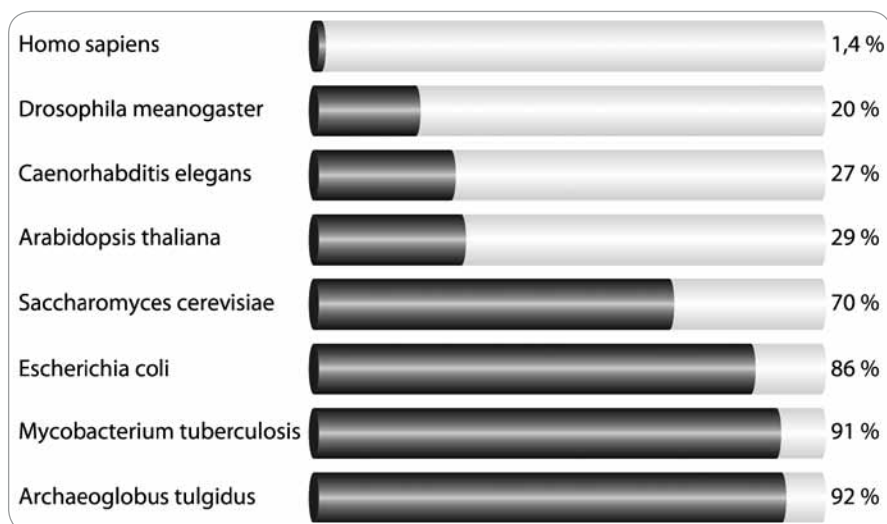
Na základě analýzy prvních zcela osekvenovaných prokaryotických genomů se předpokládalo, že většina genetické informace definující biologickou formu a fenotyp je exprimována ve formě proteinů, které mají nejen strukturální, ale také katalytické a regulační funkce [1]. Pokročilé čipové a sekvenční technologie umožňující vysokokapacitní celogenomové analýzy však odhalily, že tato skutečnost není zcela platná u eukaryotických organismů. Jedním z největších překvapení moderní biologie byl objev, že lidský genom obsahuje pouze asi 20 000 protein-kódujících genů, což reprezentuje méně než 2 % jeho celkové kapacity (obr. 1). Neméně překvapivé bylo také zjištění, že nejméně 90 % ge-

nomu je transkripčně aktivních. Lidský transkriptom tedy zdaleka neobsahuje pouze sekvenční protein-kódujících genů a jejich sestřihových variant, ale je v něm nepochybně větší množství nekódujících RNA [1,2]. Obecně lze říci, že čím více je organizmus komplexní, tím větší počet nekódujících RNA jeho genom obsahuje. Nejprve byly tyto nekódující transkripty považovány za evolučně nahromaděný genetický odpad vzniklý při časném sestavování genů nebo inzercí mobilních genetických elementů. Nedávné výzkumy ovšem prokázaly, že tyto nekódující RNA hrají zásadní roli v buněčném vývoji, fyziologii, ale také patologiích. Tuto domněnku podporuje mimo jiné fakt, že většina chromatin modifikujících komplexů postrádá schopnost vázat DNA. Na regulaci genové exprese a tedy kontrolách buněčných funkcí se tak musejí podílet další molekuly, mezi které nepochybně patří právě nekódující RNA. Příkladem takové nekódující RNA je *Xist*, která je nezbytná pro navázání chromatin modelujících komplexů na chromozom X zajišťujících jeho inaktivaci v samičích somatických buňkách [4]. Obecně mohou nekódující RNA regulovat genovou expresi přímo, a nebo mohou zprostředkovávat zmíněnou vazbu mezi proteinovými komplexy a DNA, což je činí nenahraditelnou součástí systému buněčných regulací [2–4].

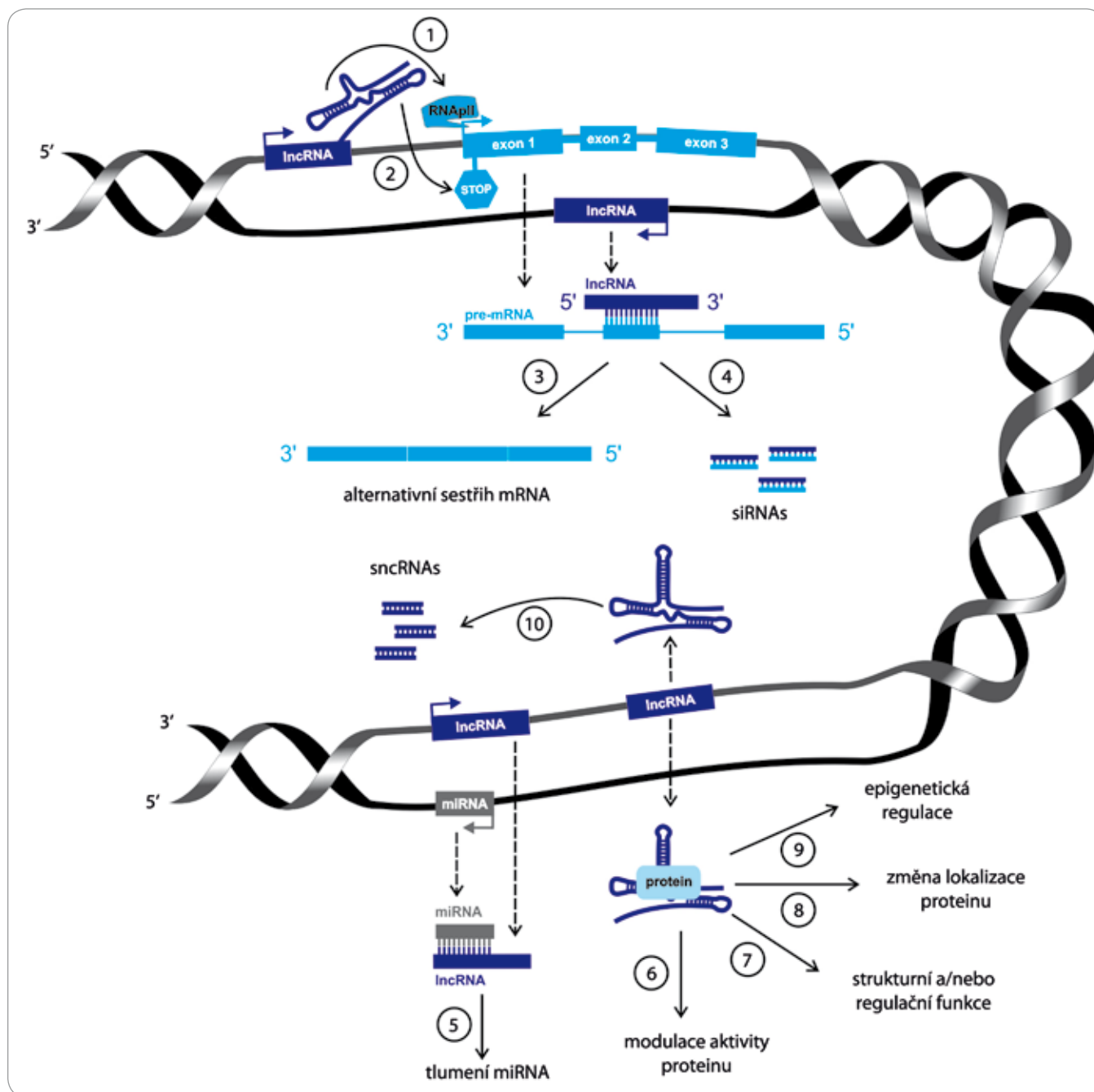
Dnešní vnímání regulačních funkcí dlouhých nekódujících RNA bylo významně ovlivněno pracemi Johna S. Mat-

ticka z univerzity v Queenslandu, který patří mezi průkopníky myšlenky, že proteiny představují pouze minoritní část informačních výstupů eukaryotického genomu [3].

Nekódující RNA se dělí na základě své velikosti na dvě hlavní skupiny – krátké nekódující RNA a dlouhé nekódující RNA (lncRNA). Zatímco krátké nekódující RNA dosahují délky maximálně několika desítek bází, lncRNA jsou transkripty podobné mRNA o délce od 200 nt, nicméně velmi často přesahující 100 kb. Avšak narozdíl od kódující RNA obsahují lncRNA pouze krátké otevřené čtecí rámce, nebo je zcela postrádají, což znemožňuje jejich účinný překlad do proteinu. Mnoho identifikovaných lncRNA je přepisováno RNA polymerázou II (RNAPII), následně sestřihováno, některé z nich mají polyadenylovány 3' konce a obsahují 5' čepičku [2]. Jiné lncRNA jsou však díky struktuře svých promotorových sekvencí přepisovány spíše RNA polymerázou III (RNAPIII) [5]. Z dosavadního výzkumu rovněž vyplývá, že lncRNA jsou velmi často komplementární ke kódujícím RNA řetězcům a jejich promotory jsou regulovány jak transkripčními faktory, tak epigeneticky pomocí specifických modifikací histonů [6]. Exprese lncRNA může být vývojově a tkáňově specifická a samotné molekuly jsou spojovány se širokým spektrem buněčných procesů, jako jsou alternativní sestřih, modulace proteinové aktivity, změny proteinové lokalizace a epigenetické regulace. lncRNA mohou být prekurzory krátkých nekódujících RNA nebo naopak součástí mechanismu jejich umlčení [7–13]. Nicméně jejich hlavní úloha se zdá být přímo v regulaci genové exprese, a to jak na transkripční, tak post-transkripční úrovni (obr. 2) [14]. Není proto překvapující, že deregulovaná exprese lncRNA byla pozorována u mnoha multifaktoriálně podmíněných chorob, včetně nádorových onemocnění, ischemické choroby srdeční [15] a Alzheimerovy choroby [16], a je se vznikem a progresí těchto onemocnění funkčně asocio- vána [2]. lncRNA proto představují novou třídu potenciálních biomarkerů a terapeutických cílů u těchto onemocnění [17–20].



Obr. 1. Zastoupení protein-kódujících sekvencí u vybraných eukaryotických a bakteriálních genomů. Upraveno podle [17].



Obr. 2. Schematické znázornění funkce lncRNA.

lncRNA mohou ovlivňovat genovou expresi negativně – inhibicí RNA polymerázy II (1) nebo pozitivně – remodelací chromatinu (2). lncRNA jsou schopné hybridizovat s pre-mRNA, a blokovat tak některá jejich sestřihová místa, a tak může následně dojít k alternativnímu sestřihu primárního transkriptu (3). Zároveň může být vzniklý duplex zpracováván pomocí ribonukleázy Dicer za vzniku endogenních siRNA (4). Vazba lncRNA k mikroRNA má za následek funkční umlčení mikroRNA (5). Komplex lncRNA se specifickým proteinem může modulovat aktivitu tohoto proteinu (6), být zapojen do strukturních a organizačních rolí buňky (7), změnit lokalizaci proteinu (8) a ovlivňovat epigenetické procesy (9). lncRNA mohou být rovněž samy procesovány do krátkých nekódujících RNA (10).

Tento článek je zaměřen na celkový přehled nedávno objevených skupin lncRNA, jejich biologické funkce a zejména na jejich význam v nádorové biologii a translačním onkologickém výzkumu (tab. 1).

Dlouhé mezigenové nekódující RNA

Dlouhé mezigenové nekódující RNA (long non-coding RNA – lincRNA) jsou nově objevenou třídou lncRNA. RNA

této třídy jsou dlouhé od několika stovek až po několik desítek tisíc bází a v genomu se nacházejí vždy mezi dvěma geny. Doposud bylo identifikováno více než 3 000 lidských lincRNA, avšak méně

Tab. 1. Hlavní třídy dlouhých nekódujících RNA. Upraveno podle [17].

Třída	Charakteristika	Asociace s onemocněním / biologická funkce
dlouhé mezigenové nekódující RNA	délka od několika stovek až po desítky tisíc nt; v genomu umístěny mezi dvěma geny	zapojení v tumorigenezi a nádorovém metastazování / regulace genové exprese; imprinting
dlouhé intronové nekódující RNA	v genomu umístěny uvnitř intronů; evolučně konzervované; tkáňová a subbuněčná specifita	aberrantní exprese u nádorových onemocnění / možné zapojení do posttranskripčního umlčování genové exprese
nekódující RNA asociované s telomerami	100 bp až 9 kb; konzervovány napříč eukaryoty; syntetizovány z oblastí bohatých na konstitutivní heterochromatin; polyadenylovány	možný význam u onemocnění asociovaných s délkou telomer, včetně nádorových onemocnění / negativní regulátor kompenzační kapacity telomer
dlouhé nekódující RNA s dvojitou funkcí	regulační funkce nekódujících RNA; za určitých okolností schopnost kódovat proteiny	deregulovány u nádorů prsu a vaječníků / regulace genové exprese
pseudogeny	kopie genů, které ztratily schopnost kódovat proteiny; vzniklé retrotranspozicí; tkáňově specifické	deregulovány v průběhu nádorové iniciace a následné progresu / regulace genové exprese skrze funkční umlčení mikroRNA
přepisované vysoce konzervované oblasti	delší než 200 bp; absolutně konzervované mezi ortologními oblastmi genomů člověka, krysy a myši; umístěny v inter- i intragenových oblastech	aberrantní exprese u mnoha nádorových onemocnění / inhibice protein-kódujících genů a některých nekódujících RNA

než 1 % z nich bylo detailněji charakterizováno [6,21]. Nicméně bylo prokázáno, že lincRNA jsou zapojeny v biologických procesech, jako jsou např. imprinting nebo maligní transformace [11,20,21]. Z nedávných studií rovněž vyplývá, že tyto molekuly mění svůj expresní profil v průběhu fyziologického vývoje jedince, v odpovědi na různé druhy signalizací a vykazují významně odlišné expresní hladiny v primárních nádorech a metastázách ve srovnání s příslušnou nenádorovou tkání [6].

Jednou z prvních detailněji charakterizovaných lincRNA je HULC (Highly Upregulated in Liver Cancer). Tato lincRNA je kódována na lokusu 6p24.3 a nese znaky typické pro mRNA, včetně jednoho intronu ohraničeného sestřihovými místy GT-AG, polyadenylovaného konce a jaderného exportního signálu, díky čemuž je HULC silně lokalizována v cytoplazmě. Ačkoli byla HULC purifikována společně s ribozomy, dosud nebyl detekován žádný její translační produkt [22]. HULC je významně zvýšena u jaterních metastáz kolorektálního karcinomu a v buněčných liniích hepatocelulárního karcinomu [23]. Na základě současných pozorování se zdá, že HULC může vyvolávat jak různé transkripční faktory a signální proteiny, tak některé mikroRNA, čímž zabraňuje jejich vazbě na cílovou

molekulu, a reguluje tak její aktivitu a/nebo expresi. Mezi takto regulované mikroRNA patří také známá onkogenní miR-372, jež post-transkripčně reguluje PRKACB (protein kinase, cAMP-dependent, catalytic, beta), která indukuje fosforylaci proteinu CREB (cAMP responsive element binding protein). Aktivovaný protein CREB je schopný udržovat otevřenou chromatinovou strukturu v oblasti promotoru pro HULC, což následně vede ke zvýšené transkripci HULC, a vytváří tak pozitivní zpětnovazebnou smyčku [24].

Další dobře popsána RNA patří do podskupiny lincRNA je HOTAIR (HOX antisense intergenic RNA). HOTAIR je 2.2 kb dlouhý gen lokalizovaný u člověka uvnitř genového klástru HOXC na dlouhém raménku chromozomu 2. Bylo zjištěno, že tato lincRNA může prostřednictvím navázaného PRC2 (polycomb repressive complex 2) a následné trimetylace lyzinu 27 histonu H3 (H3K27) regulovat geny HOXD [20]. Obecně 5' oblast na HOTAIR váže protein PRC2 (polycomb repressive complex 2), který je zodpovědný za metylaci H3K27, zatímco její 3' oblast váže LSDS1, histon-lyzínovou demetylázu zprostředkovávající enzymatickou demetylaci H3K4Me2. HOTAIR se vyskytuje u savců, má málo

konzervované sekvence, avšak vysoce konzervovanou strukturu a vyvinula se pravděpodobně dříve než okolní HOXC geny [25]. HOTAIR byla jednou z prvních lincRNA, u nichž byla popsána asociace s metastazováním. Hladina její exprese byla v porovnání s odpovídající nenádorovou tkání významně zvýšená u primárních i metastatických nádorů prsu a vysoké hladiny exprese HOTAIR navíc korelují se špatnou prognózou [11]. V případě hepatocelulárního karcinomu je zvýšená exprese HOTAIR kandidátním biomarkerem pro predikci časně rekurence u pacientů, kteří podstoupili transplantaci jater [26].

Cílená regulace nádorově specifických krátkých nekódujících RNA, především mikroRNA, se ukazuje být správným směrem v rámci moderních terapeutických strategií. Z toho důvodu je velmi žádoucí, aby byly navrženy molekuly, jež budou schopny inhibovat také lincRNA. Gupta et al ve své práci ukládali, že tyto molekuly mohou být degradovány pomocí siRNA, avšak tento způsob je z důvodu četných sekundárních struktur lincRNA komplikovaný a neefektivní [11,25]. Nicméně je evidentní, že nádorově asociované lincRNA představují slibnou skupinu lincRNA s potenciálem pro onkologickou diagnostiku a moderní terapie.

Dlouhé intronové nekódující RNA

Ačkoli není doposud biogeneze intronových lncRNA dostatečně popsána, výsledky některých studií nepřímo ukazují, že by v tomto procesu mohla být zapojena RNAPII. Svědčí o tom zejména shodně koregulované expresní profily mnoha intronových lncRNA s příslušnými protein-kódujícími transkripty, významně zapojení transkripčních faktorů asociovaných s RNAPII a v neposlední řadě přítomnost polyA konce [27–31]. Avšak po ovlivnění alfa-amanitinem, specifickým RNAPII inhibítorem, došlo ke zvýšené transkripci u 10 % dlouhých intronových poly(A+) nekódujících RNA oproti pouze 4 % protein-kódujícím genům [27,30,32]. Tato skutečnost tedy naznačuje, že některé tyto intronové lncRNA společně s některými protein-kódujícími RNA jsou z DNA přepisovány pomocí RNAP III nebo spRNAP IV (single-polypeptide nuclear RNA polymerase IV), jejíž aktivita se zdá být zesilována účinky právě zmíněného alfa-amanitinu [27,32–36].

Studie zkoumající evoluční konzervovanost intronových lncRNA napříč různými obratlovci odhalily, že délka konzervovaných sekvencí se pohybuje pouze okolo 100 bp. Ovšem při porovnání více příbuzných druhů, jako je člověk, myš, kráva a pes, vzrostla tato délka až na 750 bp [37,38]. Mezidruhový výskyt, tkáňová a subbuněčná expresní specifita, evoluční konzervovanost, schopnost reagovat na změny vnějšího prostředí a aberantní exprese u lidských nádorových onemocnění svědčí o zapojení intronových lncRNA do regulace genové exprese. Složitost těchto regulačních vztahů pak dokazuje zejména různá exprese intronových lncRNA a k nim korepondujících protein-kódujících sekvencí. Zatímco v některých případech je možné pozorovat vzájemně shodné expresní hladiny, u jiných byla naopak prokázána inverzní korelace [27,30,39,40]. Některé krátké nekódující RNA, jako jsou mikroRNA, bývají kódovány uvnitř intronových oblastí, především pak 5'-orientovaných, přičemž většina intronových lncRNA je také součástí prvních intronů hostitelských genů. Z tohoto důvodu se předpokládá, že mnoho intronových lncRNA je zpracováváno do krátkých ne-

kódujících RNA [27,41,42]. Podobně jako u mezigenových lncRNA byla popsána HOTAIR, mezi intronovými byla identifikována COLDAIR (cold assisted intronic noncoding RNA) zprostředkovávající při dlouhodobém působení nízkých teplot epigenetické umlčení genu FLC (*FLOWERING LOCUS C*) prostřednictvím již zmíněného proteinu PRC2 [43].

Velmi zajímavá studie ukázala, že intronové lncRNA jsou různě exprimovány v primárních a metastatických nádorech pankreatu. Navíc intronové lncRNA, které jsou odlišně exprimovány v metastázách duktálního adenokarcinomu pankreatu, se ve většině případů vyskytují uvnitř genů asociovaných s MAPK signální dráhou [44]. Tato pozorování tedy poukazují na potenciální význam této třídy nekódujících transkriptů v biologických procesech spojených s maligní transformací a metastazováním.

Nekódující RNA asociované s telomerami

Telomery chrání konce lineárních chromozomů před reparačním mechanismem, který by je jinak rozpoznal a zpracoval jako dvouřetězcové zlomy na DNA. Tato ochranná funkce telomer je tedy nezbytná pro stabilitu chromozomů a až do nedávné doby panovala domněnka, že telomery jsou transkripčně neaktivní [45]. Nedávno ovšem několik výzkumných skupin nezávisle na sobě demonstrovalo, že silně metylované subtelomerické a telomerické oblasti, ačkoli postrádají protein-kódující geny, vykazují transkripční aktivitu a přepisují se do telomerových UUAGGG-repetic, čímž vzniká nekódující RNA (TERRA) [46–48]. Molekuly TERRA jsou sekvencně konzervovány napříč eukaryoty, a byly tedy identifikovány i u člověka. Tyto transkripty jsou často syntetizovány z oblastí bohatých na konstitutivní heterochromatin, jsou polyadenylovány a jejich syntéza je senzitivní k působení alfa-amanitinu, což naznačuje, že jsou přepisovány RNAPII [45,49].

Délka TERRA se pohybuje v rozmezí od 100 bp až po více než 9 kb, jsou exprimovány v různých fázích buněčného cyklu a bylo zjištěno, že jejich exprese ovlivňuje několik faktorů, mezi něž patří délka telomer, buněčný stres, stu-

peň buněčné diferenciace, struktura telomerického heterochromatinu, ale také například stadium nádorového onemocnění [45,48]. Bylo zjištěno, že poškození některých klíčových buněčných procesů, jako je např. dráha zajišťující odbourávání aberantních transkriptů u člověka nebo ztráta 5'-3' exonukleázy Rat1p u *Saccharomyces cerevisiae*, je asociováno s významně zvýšenými hladinami TERRA. Vysoké hladiny TERRA pak korelují se ztrátou kompenzační kapacity telomer [46,48,49]. Je tedy velmi pravděpodobné, že TERRA jsou důležitými regulátory telomerázové aktivity [45,47,49]. Sampl et al zjistili, že expresní hladiny TERRA negativně korelují s malignitou gliomů [50]. Tyto výsledky navíc korespondují s pozorováním u nádorů hrtanu, tlustého střeva a lymfatických uzlin [47]. Molekuly TERRA se proto zdají být zajímavým směrem nejen ve výzkumu telomer, ale také nádorových onemocnění, u kterých je porucha na úrovni telomerických sekvencí velice častá [51].

Dlouhé nekódující RNA s dvojitou funkcí

Ještě do nedávné doby byly nekódující RNA striktně považovány za molekuly s regulačními funkcemi a nebyla jim přisuzována žádná protein-kódující kapacita typická pro mRNA. Ovšem nedávne studie identifikovaly a charakterizovaly bifunkční RNA transkripty vykazující jak funkci regulační, tak schopnost kódovat proteiny. Tato pozorování naznačují, že jednoznačná kategorizace některých molekul RNA nebude možná [52]. Mezi molekuly tohoto typu patří např. SRA (steroid receptor RNA activator), který vykazuje vlastnosti a funkce nekódující RNA, avšak začlenění specifické oblasti na jeho 5' konec vede k translaci a vzniku proteinu SRA (SRAP) [53–55]. SRA je známý RNA-koaktivátor mnoha jaderných receptorů, a je tedy schopen regulovat genovou expresi. Stejnou funkci plní i ve formě proteinu [52,53,56]. SRA byl identifikován v mnoha lidských tkáních. Jeho zvýšená exprese pak byla pozorována v játrech, kosterní svalovině, nadledvinkách a hypofýze. Nižší exprese naopak vykazovaly placenta, plíce, ledviny a slinivka [53]. Vysoká exprese SRA

byla rovněž popsána u nádorů vaječníků a prsu [57–59]. Navíc serózní karcinomy vaječniku vykazují vyšší hladinu SRA než jejich granulózní formy. SRA tak nejenže představuje potenciální diagnostický biomarker, ale především je zcela novým fenoménem v oblasti biologie RNA, kdy jediný RNA transkript může vést jak ke vzniku funkčního proteinového produktu, tak setrvat na úrovni RNA a realizovat regulační funkce jako nekódující RNA [52,57].

Pseudogeny

Pseudogeny jsou kopiemi genů, které ztratily schopnost kódovat protein. Typicky to bývají poškozené nebo nekompletní protein-kódující sekvence, dlouho označované jako „junk“ DNA, tedy jako nepotřebná DNA vznikající během evoluce genomu [60,61]. Pseu-

dogeny vznikají retrotranspozicí mRNA, většinou potom jako vedlejší produkty LINE-1 (long interspersed nuclear elements) retrotranspozice. Jsou tedy zpětně přepisovány a reintegrovány do genomické DNA. Proto původní „rodičovská“ sekvence nemusí být nutně na stejném chromozomu jako její retrotranspozonová kopie [62,63]. Takto reintegrovaná DNA může mít v zásadě tři funkce; jednak může být zcela neporušená, a zachovat si tak schopnost kódovat proteiny, a nebo může dojít k jejímu porušení a vzniku pseudogenu, který se v závislosti na míře poškození a umístění může i nemusí přepisovat do RNA [60]. Nedávná velmi zajímavá pozorování ukázala, že transkribované pseudogeny pravděpodobně mohou regulovat expresi jejich vývojově příbuzných protein-kódujících sekvencí [60,61]. Za-

jímavé rovněž je, že některé z těchto molekul vykazují tkáňově specifickou expresi.

Bylo zjištěno, že pseudogeny přepsané do lncRNA mohou být dále procesovány do krátkých RNA, které jsou schopny posttranskripčně regulovat genovou expresi prostřednictvím RNA interference. Kromě toho bylo zjištěno, že miR-220 a miR-492, mikroRNA specifické pro primáty, leží obě uvnitř pseudogenů [64]. Jiný a zcela odlišný mechanismus regulace genové exprese pak spočívá v působení přepsaných pseudogenů jako „vychytávačů“ mikroRNA, které po navázání na tyto lncRNA nemohou dále regulovat své cílové sekvence [61,63].

Několik studií popisuje deregulaci exprese pseudogenů v průběhu nádorové progresi, což naznačuje možné funkční zapojení těchto molekul do procesu kan-

Tab. 2. lncRNA deregulované u nádorových onemocnění. Upraveno podle [112].

LncRNA	Velikost	Lokalizace	Nádorové onemocnění	Reference
HOTAIR	2 158 nt	12q13.13	karcinom prsu	[11,20]
MALAT1/α/NEAT2	7.5 kb	11q13.1	karcinom prsu, plic, dělohy, slinivky, kolorektální karcinom, karcinom prostaty, hepatocelulární karcinom, osteosarkom, neuroblastom, karcinom děložního hrdla	[76–81]
HULC	500 nt	6p24.3	hepatocelulární karcinom	[82,83]
BC200	200 nt	2p21	karcinom prsu, děložního hrdla, jícnu, plic, vaječníků, příušní žlázy, jazyka	[13,84]
H19	2.3 kb	11p15.5	karcinom močového měchýře, plic, hepatocelulární karcinom, karcinom prsu, endometria, děložního hrdla, jícnu, vaječníků, prostaty, kolorektální karcinom	[22–24,85]
BIC/MIRHG155/MIRHG2	1.6 kb	21q11.2	B-buněčný lymfom	[86]
PRNCR1	13 kb	8q24.2	karcinom prostaty	[87]
LOC285194	2 105 nt	3q13.31	osteosarkom	[88]
PCGEM1	1 643 nt	2g32.2	karcinom prostaty	[89–91]
UCA1/CUDR	1.4–2.7 kb	19p13.12	karcinom močového měchýře, kolorektální karcinom, karcinom děložního hrdla, plic, štítné žlázy, hepatocelulární karcinom, karcinom prsu, jícnu, žaludku	[92–93]
DD3/PCA3	0.6–4 kb	9q21.22	karcinom prostaty	[94,95]
anti-NOS2A	1.9 kb	17q23.2	nádory CNS	[96]
uc.73A	201 nt	2q22.3	kolorektální karcinom	[70]
uc.338	590 nt	12q13.13	hepatocelulární karcinom	[97]
ANRIL/p15AS/CDK2BAS	34.8 kb	9p21.3	karcinom prostaty, leukemie	[98–101]
MEG3	1.6 kb	14q32.2	nádory CNS	[102–104]
GAS5/SNHG2	isoforms	1q25.1	karcinom prsu	[105]
SRA-1/SRA	1 965 nt	5q31.3	karcinom prsu, dělohy, vaječníků	[71,106]
PTENP1	3.9 kb	9p13.3	karcinom prostaty	[107,108]
ncRAN	2 186 nt 2 087 nt	17q25.1	karcinom močového měchýře, neuroblastom	[109,110]
LSINCT5	2.6 kb	5p15.33	karcinom prsu, vaječníků	[111]

cerogeneze a představuje je jako nové potenciální diagnostické nádorové biomarkery a terapeutické cíle. Jedním z takových pseudogenů je MYLK1 (myosin light chain kinase pseudogen), který je částečně duplikován z původního genu *MYLK* (myosin light chain kinase). Funkční gen *MYLK* kóduje dvě izoformy, nmMLCK (nonmuscle myosin light chain kinase) a smMLCK (smooth muscle myosin light chain kinase) a reguluje buněčné kontrakce a cytokinezi. Navzdory významné homologii obou promotorů (~ 90 %) vykazuje promotor pro MYLK1 ve zdravých bronchiálních epiteliálních buňkách oproti promotoru pro smMLCK minimální aktivitu. V buňkách adenokarcinomu plic však byl pozorován opačný jev, kdy promotor pro MYLK1 vykazoval mnohonásobně vyšší aktivitu. Stejný trend byl pozorován rovněž ve tkáni kolorektálního karcinomu v porovnání s nenádorovou tkání tlustého střeva. Z funkčního hlediska se tedy zdá, že MYLK1 inhibuje expresi smMLCK, což vede ke zvýšené buněčné proliferaci [65]. Kromě MYLK1 byl u karcinomu prostaty popsán KLK31P, další pseudogen hrající pravděpodobně roli v kancerogenezi, avšak jeho detailnější charakterizace ještě nebyla provedena [66].

Tyto nálezy nejenže staví pseudogeny do role slibných diagnostických biomarkerů, ale především pseudogenům, které byly mnoho let považovány za pouhé evoluční relikt, přiřazují biologickou funkci.

Přepisované vysoce konzervované oblasti

V současné době je popsáno 481 sekvencí delších než 200 bp, které jsou vysoce konzervované mezi ortologními oblastmi lidského, kryšního a myšího genomu. Tyto vysoce konzervované oblasti (ultraconserved regions – UCR) jsou lokalizovány jak v intra-, tak i v intergenových regionech. U člověka jsou pak některé z těchto UCR přepisovány do RNA (transcribed-ultraconserved regions – T-UCR) [67].

Z funkčního hlediska působí UCR jako zesilovače genové transkripce [68], zatímco T-UCR se na základě dosavadních poznatků jeví spíše jako inhibitory protein-kódujících genů, ale i některých ne-

kódujících RNA, včetně mikroRNA. Vztah mezi T-UCR a mikroRNA ovšem není jednostranný a některé mikroRNA mohou pravděpodobně zpětně regulovat T-UCR. Tento předpoklad vyplývá především ze zjištění, že mnoho T-UCR obsahuje sekvence komplementární s některými mikroRNA. Mezi těmito navzájem komplementárními molekulami byla opakovaně pozorována negativní korelace jejich exprese [69,70].

Nedávné studie naznačily, že exprese T-UCR je u vybraných nádorových onemocnění, například chronické lymfatické leukémie, kolorektálního a hepatocelulárního karcinomu a neuroblastomu deregulována a koreluje s klinickopatologickými charakteristikami pacientů [70–72]. Navíc v případě neuroblastomu bylo zjištěno zapojení těchto molekul do procesů buněčné apoptózy a diferenciace [73]. U mnoha nádorových onemocnění je velmi častým jevem hypermetylace CpG ostrůvků v T-UCR genech, čímž dochází k jejich epigenetické inaktivaci. Tato skutečnost tedy podporuje obecný předpoklad, že jak genetické, tak i epigenetické změny u protein-kódujících, ale i nekódujících DNA sekvencí přispívají k maligní transformaci [69]. Význam UCR v kancerogenezi naznačil i vztah jednonukleotidových polymorfizmů (SNP) rs9572903 a rs2056116 nacházejících se v UCR oblastech se zvýšeným rizikem familiárního karcinomu prsu [74,75].

Závěr

Majoritní část transkriptomu tvoří nekódující RNA, které jsou významnými regulátory genové exprese. Významnou podskupinou těchto RNA jsou lncRNA o délce od 200 nt až po více než 100 kb. LncRNA jsou zapojeny do mnoha buněčných procesů, včetně alternativního sestřihu, modulace proteinové aktivity, změny proteinové lokalizace a především transkripční i post-transkripční regulace genové exprese. Díky těmto vlastnostem jsou lncRNA významnými molekulami v rámci buněčné biologie, nepostradatelné při udržování fyziologického stavu buňky. Alterace jejich hladin mohou mít zásadní důsledky a významně přispívat k procesu maligní transformace u mnoha nádorových onemocnění (tab. 2). Ln-

cRNA tak představují slibné diagnostické, prognostické a prediktivní biomarkery a také potenciální terapeutické cíle. Přestože v posledních letech bylo dosaženo významného pokroku v oblasti studia lncRNA, funkce a přesné mechanismy, kterými se lncRNA zapojují do kancerogeneze jednotlivých nádorových onemocnění, nejsou stále uspokojivě objasněny.

Literatura

- Stein LD. Human genome: end of the beginning. *Nature* 2004; 431(7011): 915–916.
- Taft RJ, Pang KC, Mercer TR et al. Non-coding RNAs: regulators of disease. *J Pathol* 2010; 220(2): 126–139.
- Mattick JS. Non-coding RNAs: the architects of eukaryotic complexity. *EMBO Rep* 2001; 2: 986–991.
- Zhang R, Zhang L, Yu W. Genome-wide expression of non-coding RNA and global chromatin modification. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2012; 44(1): 40–47.
- Pagano A, Castelnovo M, Tortelli F et al. New small nuclear RNA gene-like transcriptional units as sources of regulatory transcripts. *PLoS Genet* 2007; 3(2): e1.
- Guttman M, Amit I, Garber M et al. Chromatin signature reveals over a thousand highly conserved large non-coding RNAs in mammals. *Nature* 2009; 458(7235): 223–237.
- Costa FF. Non-coding RNAs: Meet thy masters. *Bioessays* 2010; 32(7): 599–608.
- Chen Y, Song Y, Wang Z et al. Altered expression of MiR-148a and MiR-152 in gastrointestinal cancers and its clinical significance. *J Gastrointest Surg* 2010; 14(7): 1170–1179.
- Lipovich L, Johnson R, Lin CY. MacroRNA underdogs in a mikroRNA world: evolutionary, regulatory, and biomedical significance of mammalian long non-protein-coding RNA. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1799(9): 597–615.
- Tripathi V, Ellis JD, Shen Z et al. The nuclear-retained noncoding RNA MALAT1 regulates alternative splicing by modulating SR splicing factor phosphorylation. *Mol Cell* 2010; 39(6): 925–938.
- Gupta RA, Shah N, Wang KC et al. Long non-coding RNA HOTAIR reprograms chromatin state to promote cancer metastasis. *Nature* 2010; 464(7291): 1071–1076.
- Orom UA, Derrien T, Beringer M et al. Long noncoding RNAs with enhancer-like function in human cells. *Cell* 2010; 143(1): 46–58.
- Iacoangeli A, Lin Y, Morley EJ et al. BC200 RNA in invasive and preinvasive breast cancer. *Carcinogenesis* 2004; 25(11): 2125–2133.
- Mattick JS, Amaral PP, Dinger ME et al. RNA regulation of epigenetic processes. *Bioessays* 2009; 31(1): 51–59.
- Ishii N, Ozaki K, Sato H et al. Identification of a novel non-coding RNA, MIAT, that confers risk of myocardial infarction. *J Hum Genet* 2006; 51(12): 1087–1099.
- Faghihi MA, Modarresi F, Khalil AM et al. Expression of a noncoding RNA is elevated in Alzheimer's disease and drives rapid feed-forward regulation of beta-secretase. *Nat Med* 2008; 14(7): 723–730.
- Sana J, Faltejsova P, Svoboda M et al. Novel classes of non-coding RNAs and cancer. *J Transl Med* 2012; 10(1): 103.
- Costa FF. Non-coding RNAs: new players in eukaryotic biology. *Gene* 2005; 357(2): 83–94.
- Okamura K, Chung WJ, Ruby JG et al. The Drosophila hairpin RNA pathway generates endogenous short interfering RNAs. *Nature* 2008; 453(7196): 803–806.

20. Rinn JL, Kertesz M, Wang JK et al. Functional demarcation of active and silent chromatin domains in human HOX loci by noncoding RNAs. *Cell* 2007; 129(7): 1311–1323.
21. Khalil AM, Guttman M, Huarte M et al. Many human large intergenic noncoding RNAs associate with chromatin-modifying complexes and affect gene expression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106(28): 11667–11672.
22. Brannan CI, Dees EC, Ingram RS et al. The product of the H19 gene may function as an RNA. *Mol Cell Biol* 1990; 10(1): 28–36.
23. Gabory A, Jammes H, Dandolo L. The H19 locus: role of an imprinted non-coding RNA in growth and development. *Bioessays* 2010; 32(6): 473–480.
24. Hibi K, Nakamura H, Hirai A et al. Loss of H19 imprinting in esophageal cancer. *Cancer Res* 1996; 56(3): 480–482.
25. Tsai MC, Manor O, Wan Y et al. Long noncoding RNA as modular scaffold of histone modification complexes. *Science* 2010; 329(5992): 689–693.
26. Yang Z, Zhou L, Wu LM et al. Overexpression of long non-coding RNA HOTAIR predicts tumor recurrence in hepatocellular carcinoma patients following liver transplantation. *Ann Surg Oncol* 2011; 18(5): 1243–1250.
27. Louro R, Smirnova AS, Verjovski-Almeida S. Long intronic noncoding RNA transcription: expression noise or expression choice? *Genomics* 2009; 93(4): 291–298.
28. Louro R, Nakaya HI, Amaral PP et al. Androgen responsive intronic non-coding RNAs. *BMC Biol* 2007; 5: 4.
29. Cawley S, Bekiranov S, Ng HH et al. Unbiased mapping of transcription factor binding sites along human chromosomes 21 and 22 points to widespread regulation of noncoding RNAs. *Cell* 2004; 116(4): 499–509.
30. Nakaya HI, Amaral PP, Louro R et al. Genome mapping and expression analyses of human intronic noncoding RNAs reveal tissue-specific patterns and enrichment in genes related to regulation of transcription. *Genome Biol* 2007; 8(3): R43.
31. Dinger ME, Amaral PP, Mercer TR et al. Long noncoding RNAs in mouse embryonic stem cell pluripotency and differentiation. *Genome Res* 2008; 18(9): 1433–1445.
32. Kravchenko JE, Rogozin IB, Koonin EV et al. Transcription of mammalian messenger RNAs by a nuclear RNA polymerase of mitochondrial origin. *Nature* 2005; 436(7051): 735–739.
33. Li SC, Tang P, Lin WC. Intronic mikroRNA: discovery and biological implications. *DNA Cell Biol* 2007; 26(4): 195–207.
34. Borchert GM, Lanier W, Davidson BL. RNA polymerase III transcribes human mikroRNAs. *Nat Struct Mol Biol* 2006; 13(12): 1097–1101.
35. Massone S, Vassallo I, Castelnovo M et al. RNA polymerase III drives alternative splicing of the potassium channel-interacting protein contributing to brain complexity and neurodegeneration. *J Cell Biol* 2011; 193(5): 851–866.
36. Massone S, Vassallo I, Fiorino G et al. 17A, a novel noncoding RNA, regulates GABA B alternative splicing and signaling in response to inflammatory stimuli and in Alzheimer disease. *Neurobiol Dis* 2011; 41(2): 308–317.
37. Louro R, El-Jundi T, Nakaya HI et al. Conserved tissue expression signatures of intronic noncoding RNAs transcribed from human and mouse loci. *Genomics* 2008; 92(1): 18–25.
38. Rearick D, Prakash A, McSweeney A et al. Critical association of ncRNA with introns. *Nucleic Acids Res* 2011; 39(6): 2357–2366.
39. Mercer TR, Dinger ME, Sunkin SM et al. Specific expression of long noncoding RNAs in the mouse brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105(2): 716–721.
40. Katayama S, Tomaru Y, Kasukawa T et al. Antisense transcription in the mammalian transcriptome. *Science* 2005; 309(5740): 1564–1566.
41. Filipowicz W, Pogacic V. Biogenesis of small nucleolar ribonucleoproteins. *Curr Opin Cell Biol* 2002; 14(3): 319–327.
42. Hirose T, Ideue T, Nagai M et al. A spliceosomal intron binding protein, IBP160, links position-dependent assembly of intron-encoded box C/D snoRNP to pre-mRNA splicing. *Mol Cell* 2006; 23(5): 673–684.
43. Heo JB, Sung S. Vernalization-mediated epigenetic silencing by a long intronic noncoding RNA. *Science* 2011; 331(6013): 76–79.
44. Tahira AC, Kubrusly MS, Faria MF et al. Long noncoding intronic RNAs are differentially expressed in primary and metastatic pancreatic cancer. *Mol Cancer* 2011; 10: 141.
45. Isken O, Maquat LE. Telomeric RNAs as a novel player in telomeric integrity. *F1000 Biol Rep* 2009; 1: 90.
46. Azzalin CM, Reichenbach P, Khorai L et al. Telomeric repeat containing RNA and RNA surveillance factors at mammalian chromosome ends. *Science* 2007; 318(5851): 798–801.
47. Schoeftner S, Blasco MA. Developmentally regulated transcription of mammalian telomeres by DNA-dependent RNA polymerase II. *Nat Cell Biol* 2008; 10(2): 228–236.
48. Schoeftner S, Blasco MA. A 'higher order' of telomere regulation: telomere heterochromatin and telomeric RNAs. *EMBO J* 2009; 28(16): 2323–2336.
49. Luke B, Panza A, Redon S et al. The Rat1p 5' to 3' exonuclease degrades telomeric repeat-containing RNA and promotes telomere elongation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Cell* 2008; 32(4): 465–477.
50. Sampl S, Pramhas S, Stern C et al. Expression of Telomeres in Astrocytoma WHO Grade 2 to 4: TERRA Level Correlates with Telomere Length, Telomerase Activity, and Advanced Clinical Grade. *Transl Oncol* 2012; 5(1): 56–65.
51. Schoeftner S, Blasco MA. Chromatin regulation and non-coding RNAs at mammalian telomeres. *Semin Cell Dev Biol* 2010; 21(2): 186–193.
52. Ulveling D, Francastel C, Hube F. When one is better than two: RNA with dual functions. *Biochimie* 2011; 93(4): 633–644.
53. Lanz RB, McKenna NJ, Onate SA et al. A steroid receptor coactivator, SRA, functions as an RNA and is present in an SRC-1 complex. *Cell* 1999; 97(1): 17–27.
54. Kawashima H, Takano H, Sugita S et al. A novel steroid receptor co-activator protein (SRAP) as an alternative form of steroid receptor RNA-activator gene: expression in prostate cancer cells and enhancement of androgen receptor activity. *Biochem J* 2003; 369(Pt 1): 163–171.
55. Chooniedass-Kothari S, Emberley E, Hamedani MK, et al. The steroid receptor RNA activator is the first functional RNA encoding a protein. *FEBS Lett* 2004; 566(1–3): 43–47.
56. Xu K, Liang X, Cui D et al. miR-1915 inhibits Bcl-2 to modulate multidrug resistance by increasing drug-sensitivity in human colorectal carcinoma cells. *Mol Carcinog* 2011. [Epub ahead of print].
57. Hussein-Fikret S, Fuller PJ. Expression of nuclear receptor coregulators in ovarian stromal and epithelial tumours. *Mol Cell Endocrinol* 2005; 229(1–2): 149–160.
58. Lanz RB, Chua SS, Barron N et al. Steroid receptor RNA activator stimulates proliferation as well as apoptosis in vivo. *Mol Cell Biol* 2003; 23(20): 7163–7176.
59. Leygue E, Dotzlaw H, Watson PH et al. Expression of the steroid receptor RNA activator in human breast tumors. *Cancer Res* 1999; 59(17): 4190–4193.
60. Harrison PM, Zheng D, Zhang Z et al. Transcribed processed pseudogenes in the human genome: an intermediate form of expressed retrosequence lacking protein-coding ability. *Nucleic Acids Res* 2005; 33(8): 2374–2383.
61. Pink RC, Wicks K, Caley DP et al. Pseudogenes: pseudofunctional or key regulators in health and disease? *RNA* 2011; 17(5): 792–798.
62. Esnault C, Maestre J, Heidmann T. Human LINE retrotransposons generate processed pseudogenes. *Nat Genet* 2000; 24(4): 363–367.
63. Terai G, Yoshizawa A, Okida H et al. Discovery of short pseudogenes derived from messenger RNAs. *Nucleic Acids Res* 2010; 38(4): 1163–1171.
64. Devor EJ. Primate mikroRNAs miR-220 and miR-492 lie within processed pseudogenes. *J Hered* 2006; 97(2): 186–190.
65. Han YJ, Ma SF, Yourek G et al. A transcribed pseudogene of MYLK promotes cell proliferation. *FASEB J* 2011; 25(7): 2305–2312.
66. Lu W, Zhou D, Glusman G et al. KLK31P is a novel androgen regulated and transcribed pseudogene of kallikreins that is expressed at lower levels in prostate cancer cells than in normal prostate cells. *Prostate* 2006; 66(9): 936–944.
67. Bejerano G, Pheasant M, Makunin I et al. Ultraconserved elements in the human genome. *Science* 2004; 304(5675): 1321–1325.
68. Nobrega MA, Ovcharenko I, Afzal V et al. Scanning human gene deserts for long-range enhancers. *Science* 2003; 302(5644): 413.
69. Lujambio A, Portela A, Liz J et al. CpG island hypermethylation-associated silencing of non-coding RNAs transcribed from ultraconserved regions in human cancer. *Oncogene* 2010; 29(48): 6390–63401.
70. Calin GA, Liu CG, Ferracin M et al. Ultraconserved regions encoding ncRNAs are altered in human leukemias and carcinomas. *Cancer Cell* 2007; 12(3): 215–229.
71. Scaruffi P, Stigliani S, Moretti S et al. Transcribed-Ultra Conserved Region expression is associated with outcome in high-risk neuroblastoma. *BMC Cancer* 2009; 9: 441.
72. Sana J, Hankeova S, Svoboda M et al. Expression levels of transcribed ultraconserved regions uc.73 and uc.388 are altered in colorectal cancer. *Oncology* 2012; 82(2): 114–118.
73. Mestdagh P, Fredlund E, Pattyn F et al. An integrative genomics screen uncovers ncRNA T-UCR functions in neuroblastoma tumours. *Oncogene* 2010; 29(24): 3583–3592.
74. Catucci I, Verderio P, Pizzamiglio S et al. SNPs in ultraconserved elements and familial breast cancer risk. *Carcinogenesis* 2009; 30(3): 544–545; author reply 6.
75. Yang R, Frank B, Hemminki K et al. SNPs in ultraconserved elements and familial breast cancer risk. *Carcinogenesis* 2008; 29(2): 351–355.
76. Ji P, Diederichs S, Wang W et al. MALAT-1, a novel non-coding RNA, and thymosin beta4 predict metastasis and survival in early-stage non-small cell lung cancer. *Oncogene* 2003; 22(39): 8031–8041.
77. Lin R, Maeda S, Liu C et al. A large noncoding RNA is a marker for murine hepatocellular carcinomas and a spectrum of human carcinomas. *Oncogene* 2007; 26(6): 851–858.
78. Davis IJ, Hsi BL, Arroyo JD et al. Cloning of an Alpha-TFEB fusion in renal tumors harboring the t(6;11)(p21;q13) chromosome translocation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100(10): 6051–6056.
79. Guo F, Li Y, Liu Y et al. Inhibition of metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1 in CaSki human cervical cancer cells suppresses cell proliferation and invasion. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2010; 42(3): 224–229.
80. Fellenberg J, Bernd L, Delling G et al. Prognostic significance of drug-regulated genes in high-grade osteosarcoma. *Mod Pathol* 2007; 20(10): 1085–1094.
81. Koshimizu TA, Fujiwara Y, Sakai N et al. Oxytocin stimulates expression of a noncoding RNA tumor marker in a human neuroblastoma cell line. *Life Sci* 2010; 86(11–12): 455–460.
82. Panzitt K, Tschernatsch MM, Guelly C et al. Characterization of HULC, a novel gene with striking up-regulation in hepatocellular carcinoma, as noncoding RNA. *Gastroenterology* 2007; 132(1): 330–342.
83. Matouk IJ, Abbasi I, Hochberg A et al. Highly upregulated in liver cancer noncoding RNA is overexpressed in

- hepatic colorectal metastasis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2009; 21(6): 688–692.
84. Chen W, Bocker W, Brosius J et al. Expression of neural BC200 RNA in human tumours. *J Pathol* 1997; 183(3): 345–351.
 85. Berteaux N, Lottin S, Adriaenssens E et al. Hormonal regulation of H19 gene expression in prostate epithelial cells. *J Endocrinol* 2004; 183(1): 69–78.
 86. Eis PS, Tam W, Sun L et al. Accumulation of miR-155 and BIC RNA in human B cell lymphomas. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102(10): 3627–3632.
 87. Chung S, Nakagawa H, Uemura M et al. Association of a novel long non-coding RNA in 8q24 with prostate cancer susceptibility. *Cancer Sci* 2011; 102(1): 245–252.
 88. Pasic I, Shlien A, Durbin AD et al. Recurrent focal copy-number changes and loss of heterozygosity implicate two noncoding RNAs and one tumor suppressor gene at chromosome 3q13.31 in osteosarcoma. *Cancer Res* 2010; 70(1): 160–171.
 89. Petrovics G, Zhang W, Makarek M et al. Elevated expression of PCGEM1, a prostate-specific gene with cell growth-promoting function, is associated with high-risk prostate cancer patients. *Oncogene* 2004; 23(2): 605–611.
 90. Srikantan V, Zou Z, Petrovics G et al. PCGEM1, a prostate-specific gene, is overexpressed in prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97(22): 12216–12221.
 91. Fu X, Ravindranath L, Tran N et al. Regulation of apoptosis by a prostate-specific and prostate cancer-associated noncoding gene, PCGEM1. *DNA Cell Biol* 2006; 25(3): 135–141.
 92. Wang XS, Zhang Z, Wang HC et al. Rapid identification of UCA1 as a very sensitive and specific unique marker for human bladder carcinoma. *Clin Cancer Res* 2006; 12(16): 4851–4858.
 93. Wang F, Li X, Xie X et al. UCA1, a non-protein-coding RNA up-regulated in bladder carcinoma and embryo, influencing cell growth and promoting invasion. *FEBS Lett* 2008; 582(13): 1919–1927.
 94. Bussemakers MJ, van Bokhoven A, Verhaegh GW et al. DD3: a new prostate-specific gene, highly overexpressed in prostate cancer. *Cancer Res* 1999; 59(23): 5975–5979.
 95. de Kok JB, Verhaegh GW, Roelofs RW et al. DD3(PCA3), a very sensitive and specific marker to detect prostate tumors. *Cancer Res* 2002; 62(9): 2695–2698.
 96. Korneev SA, Korneeva EI, Lagarkova MA et al. Novel noncoding antisense RNA transcribed from human anti-NOS2A locus is differentially regulated during neuronal differentiation of embryonic stem cells. *RNA* 2008; 14(10): 2030–2037.
 97. Braconi C, Valeri N, Kogure T et al. Expression and functional role of a transcribed noncoding RNA with an ultra-conserved element in hepatocellular carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108(2): 786–791.
 98. Yu W, Gius D, Onyango P et al. Epigenetic silencing of tumour suppressor gene p15 by its antisense RNA. *Nature* 2008; 451(7175): 202–206.
 99. Folkersen L, Kyriakou T, Goel A et al. Relationship between CAD risk genotype in the chromosome 9p21 locus and gene expression. Identification of eight new ANRIL splice variants. *PLoS One* 2009; 4(11): e7677.
 100. Yap KL, Li S, Munoz-Cabello AM et al. Molecular interplay of the noncoding RNA ANRIL and methylated histone H3 lysine 27 by polycomb CBX7 in transcriptional silencing of INK4a. *Mol Cell* 2010; 38(5): 662–674.
 101. Pasmant E, Laurendeau I, Heron D et al. Characterization of a germ-line deletion, including the entire INK4/ARF locus, in a melanoma-neural system tumor family: identification of ANRIL, an antisense noncoding RNA whose expression coclusters with ARF. *Cancer Res* 2007; 67(8): 3963–3969.
 102. Miyoshi N, Wagatsuma H, Wakana S et al. Identification of an imprinted gene, Meg3/Gtl2 and its human homologue MEG3, first mapped on mouse distal chromosome 12 and human chromosome 14q. *Genes Cells* 2000; 5(3): 211–220.
 103. Zhang X, Zhou Y, Mehta KR et al. A pituitary-derived MEG3 isoform functions as a growth suppressor in tumor cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88(11): 5119–5126.
 104. Zhang X, Rice K, Wang Y et al. Maternally expressed gene 3 (MEG3) noncoding ribonucleic acid: isoform structure, expression, and functions. *Endocrinology* 2010; 151(3): 939–947.
 105. Mourtada-Maarabouni M, Pickard MR, Hedge VL et al. GAS5, a non-protein-coding RNA, controls apoptosis and is downregulated in breast cancer. *Oncogene* 2009; 28(2): 195–208.
 106. Chooniedass-Kothari S, Hamedani MK, Troup S et al. The steroid receptor RNA activator protein is expressed in breast tumor tissues. *Int J Cancer* 2006; 118(4): 1054–1059.
 107. Poliseno L, Salmena L, Zhang J et al. A coding-independent function of gene and pseudogene mRNAs regulates tumour biology. *Nature* 2010; 465(7301): 1033–1038.
 108. Alimonti A, Carracedo A, Clohessy JG et al. Subtle variations in Pten dose determine cancer susceptibility. *Nat Genet* 2010; 42(5): 454–458.
 109. Zhu Y, Yu M, Li Z et al. ncRAN, a newly identified long noncoding RNA, enhances human bladder tumor growth, invasion, and survival. *Urology* 2011; 77(2): 510e1–510e5.
 110. Yu M, Ohira M, Li Y et al. High expression of ncRAN, a novel non-coding RNA mapped to chromosome 17q25.1, is associated with poor prognosis in neuroblastoma. *Int J Oncol* 2009; 34(4): 931–938.
 111. Silva JM, Boczek NJ, Berres MW et al. LSINCT5 is overexpressed in breast and ovarian cancer and affects cellular proliferation. *RNA Biol* 2011; 8(3): 496–505.
 112. Gibb EA, Brown CJ, Lam WL. The functional role of long non-coding RNA in human carcinomas. *Mol Cancer* 2011; 10: 38.

Léčba histiocytózy z Langerhansových buněk kladribinem dosáhla u 9 z 10 dospělých pacientů dlouhodobé kompletní remise

Treatment of Langerhans Cells Histiocytosis by Cladribin Reached Long-Term Complete Remission in 9 out of 10 Adult Patients

Adam Z.¹, Szturz P.¹, Ďuraš J.², Pour L.¹, Krejčí M.¹, Řehák Z.³, Koukalová R.³, Navrátil M.¹, Hájek R.¹, Král Z.¹, Mayer J.¹

¹ Interní hematologická klinika, LF MU a FN Brno

² Ústav klinické hematologie, FN Ostrava

³ Oddělení nukleární medicíny, centrum PET, MOÚ Brno

Souhrn

Východiska: Účinnost kladribinu závisí na poměru aktivačního enzymu (deoxycytidinkinázy) a deaktivčního enzymu (5-nukleotidázy). Tento poměr je vysoký nejen v klidových lymfocytech, ale také v Langerhansových buňkách a v některých dalších histiocytárních buňkách. Proto má kladribin vysokou účinnost u pacientů s histiocytózou z Langerhansových buněk (LCH). V roce 2003 byla zveřejněna první zpráva o vynikajících výsledcích aplikace kladribinu v první léčebné linii u pacientů s multisystémovou či multifokální formou LCH. Proto na našem pracovišti používáme kladribin nejen pro dospělé nemocné s relabující formou LCH, ale také v rámci léčby první linie multifokální a multisystémové formy LCH. **Soubor pacientů a metody:** Od roku 2001 jsme léčili kladribinem celkem 10 dospělých (9 mužů a 1 žena). Medián věku stanovení diagnózy je 31,5 (5–45) roku. Choroba měla u 8 pacientů formu multiorgánového postižení a u 2 pacientů formu multifokální kostní formy s agresivním průběhem. Kladribin jsme podávali v dávce 5 mg/m²/den s.c. 5 dní po sobě ve 28denních intervalech. V případě nedostatečné účinnosti jsme u dvou nemocných po třetím cyklu kladribinu v monoterapii přešli na kombinovanou léčbu kladribin 5 mg/m²/den, cyklofosfamid 150 mg/m²/den a dexametazon 20 mg/den, vše 1. až 5. den. Maximálně jsme plánovali 6 cyklů. **Výsledky:** Medián podaných cyklů kladribinu byl 5 (4–6). Celkem 10 pacientů ukončilo léčbu a z nich 9 (90 %) je v kompletní remisi s mediánem sledování 26 měsíců (16–94). Pouze u jednoho pacienta byla léčba neúspěšná – nemoc progredovala do 60 dnů od ukončení léčby a vyžadovala další léčbu (CHOEP, vysokodávkovou chemoterapii BEAM s autologní transplantací, následně léčbu revlimidem a alogenní transplantací). Léčebnou odpověď – vymizení infiltrátu v infundibulu hypofýzy – jsme pozorovali u 2 pacientů s ložiskem LCH v infundibulu hypofýzy. **Závěr:** Kladribin je vhodným lékem pro multiorgánové a multifokální formy LCH. V našem kolektivu deseti hodnocených nemocných dosáhla léčba kladribinem 90 % dlouhodobých kompletních remisí. Tři pacienti měli postižení CNS a u všech třech bylo dosaženo léčebné odpovědi.

Klíčová slova

kladribin – 2-chlorodeoxyadenosin – histiocytóza z Langerhansových buněk – diabetes insipidus

Práce byla podpořena grantem IGA ČR NT 12215-4, granty MŠMT MSM0021622434, LC06027 a granty IGA MZ NT11154, NT12130, NT12215 a NS10408.

This study was supported by grant of Internal Grant Agency of the Czech Ministry of Health NT 12215-4, grants of the Czech Ministry of Education, Youth and Sports MSM0021622434, LC06027, grants of Internal Grant Agency of the Czech Ministry of Health NT11154, NT12130, NT12215 and NS10408.

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: 20. 9. 2011

Přijato/Accepted: 28. 10. 2011

Summary

Background: The effectiveness of cladribine depends on the ratio of activating (deoxycytidine kinase) and inactivating (5-nucleotidase) enzymes. Not only is this ratio high in resting lymphocytes but also in Langerhans cells as well in some other histiocytic cells. Therefore, cladribine shows high effectiveness in patients with Langerhans cell histiocytosis (LCH). In 2003, the first report on excellent results with cladribine in first line treatment of patients with multisystem or multifocal LCH was published. That is why we use cladribine for adult patients with relapsing form of LCH and also for first line treatment of multifocal and multisystem LCH at our department. **Patients and Methods:** Since 2001, we have treated altogether 10 adults (9 male and 1 female) with cladribine. The median age at diagnosis was 31.5 years (range: 5–45). The multiorgan form of the disease was present in 8 patients, and 2 patients had the multifocal skeletal form with aggressive disease course. Cladribine at a dose of 5 mg/m² SC per day was given as a 5-day course at 28-day intervals. In cases of insufficient effectiveness, in two patients after the 3rd cycle with cladribine monotherapy, we proceeded to combination therapy with cladribine of 5 mg/m² per day, cyclophosphamide 150 mg/m² per day and dexamethasone 20 mg per day, all on days 1–5. We planned 6 cycles at the most. **Results:** The median of cladribine cycles was 5 (range: 4–6). Altogether, 10 patients finished therapy; out of them 9 are in complete remission with the follow-up median of 26 months (range: 16–94). Treatment failure was noted only in 1 patient – in 60 days after therapy cessation the disease progressed and required further treatment (CHOEP, high-dose BEAM chemotherapy with autologous transplantation followed by Revlimid treatment and allogeneic transplantation). Treatment response – disappearance of infiltrate in the pituitary infundibulum – was observed in 2 patients with LCH affecting the pituitary infundibulum. **Conclusion:** Cladribine is a suitable medication for multiorgan and multifocal forms of LCH. In our group of ten evaluated patients, cladribine therapy resulted in 90% of long-term complete remissions. Three patients had CNS involvement and in all three patients, treatment responses have been achieved.

Key words

cladribine – 2-chlorodeoxyadenosine – Langerhans cell histiocytosis – diabetes insipidus

Úvod

Histiocytóza z Langerhansových buněk má velmi široké spektrum projevů, od jednoho osteolytického ložiska až po generalizovanou formu nemoci postihující více orgánů. A stejně tak pestrý je průběh choroby, na jedné straně jsou případy se spontánními remisemi, na druhé straně případy s postupnou progresí nemoci vedoucí ke smrti [1]. Ale i opakované relapsy, které neohrožují život nemocného, výrazně zhoršují jeho kvalitu [2].

Pro histiocytózu z Langerhansových buněk (Langerhans Cell histiocytosis – LCH) se nepoužívá klasická TNM klasifikace (obvyklá u solidních tumorů), ale podobně jako u většiny hematologických chorob je pro vyjádření rozsahu nemoci používána specifická klasifikace vytvořená Histiocytární společností (Histiocyt Society). Dle míry postižení organismu se rozlišují následující tři formy:

- forma solitární – pouze jedno ložisko v organismu,
- forma multifokální – omezena pouze na jeden orgán či systém, ale s více ložisky v rámci této tkáně či orgánu,
- forma multiorgánová – postihuje více orgánů a tkání současně.

Solitární forma nemoci se léčí lokálními postupy. Multifokální a multiorgá-

nová forma nemoci vyžaduje systémovou léčbu.

U dětí jsou jasně definovány takzvané rizikové orgány, při jejichž postižení je prognóza nemoci nepříznivá a nemoc je často rezistentní na léčbu. Těmito rizikovými orgány u dětí jsou játra, slezina, plíce a kostní dřev. U dětí dále platí, že při postižení obratlů, kostí tváře nebo kostí přední a střední jámy lebni hrozí zvýšené riziko postižení CNS, a to jak hypotalamu a hypofýzy, tak ostatního mozkového parenchymu [3].

U dospělých nemocných nebyly jednoznačně definovány orgány, při jejichž postižení by nemoc měla nepříznivý průběh. Prognostické ukazatele ověřené v pediatrických kolektivech nebyly u dospělých nemocných ověřeny pro vzácnost LCH s multiorgánovým postižením u osob starších 18 let. Nicméně i u dospělých osob s LCH platí, že multiorgánové postižení signalizuje méně příznivý průběh než postižení pouze jednoho orgánu či tkáně. Časná recidiva po léčbě signalizuje agresivní průběh choroby jak u dětí, tak u dospělých pacientů [1].

Léčebné postupy u dospělých se odvozují od zkušeností s léčbou dětských pacientů, protože u dospělých pacientů nebyla dokončena ani jedna klinická studie. Prvním úspěšným cytostatikem pro léčbu LCH byl vinblastin a svoje posta-

vení „zlatého standardu“ pro léčbu LCH si stále udržuje. V rámci léčby první linie se klasicky kombinoval s prednisonem a případně s merkaptopurinem.

Léčba vinblastinem a kortikoidy má u dospělých pacientů četnější rizika než u dětských pacientů, a proto je vhodné ji nahradit cladribinem. Limitujícím nežádoucím účinkem vinkristinu a vinblastinu je neuropatie. Neuropatie způsobuje nejen parestezie, ale může oblenit i peristaltiku, způsobit obstrukci a ta v případě divertikulózy sigmoidu může vyvolat další komplikace. Extrémní formou neuropatie, ke které může dojít při přehlédnutí varovných příznaků, je paralytický ileus. Dalším problémem při dlouhodobé léčbě vinblastinem a vinkristinem je vznik nekrózy při nechtěném úniku léčiva mimo žílu do podkoží (paravazace). Třetí nevýhodou léčby vinblastinem dle pediatrických protokolů je dlouhá doba léčby. Prednison, který se standardně podává v kombinaci s vinblastinem, může způsobit u dospělých pacientů manifestaci diabetu mellitu II. typu.

Pro léčbu rezistentních či relabujících forem LCH u dětí i u dospělých se od počátku 90. let používá cladribin. Vzhledem k velmi dobré toleranci a velmi vysoké účinnosti je od roku 2003 v zahraničí používán u dospělých jako lék

Tab. 1. Stručná charakteristika rozsahu choroby u 10 pacientů s LCH v době zahájení léčby kladribinem.

	věk léčby 2-CDA	jen multi- fokální	multi orgá- nová forma	kosti	játra	kůže	plic	lymf. uzliny	hypofýza	CNS	ORL	čelist
muž 1976	25	–	+	+	+	+	+	–	+	–	–	
muž 1972	31	–	+	+	–	–	+	–	–	–	–	
muž 1978	25	+	–	+	–	–	–	–	–	–	–	
muž 1973	35	–	+	–	–	+	–	–	+	–	–	+
muž 1974	36	–	+	–	–	–	+	–	+	–	+	–
muž 1969	40		+	–	–	+	+	–	–	–	–	–
muž 1963	46	–	+	+	–	–	+	–	–	–	+	+
muž 1973	36	–	+	+	–	+	+	+	–	–	–	–
žena 1953	57	–	+	+	–	+	+	–	+	+	+	–
muž 1980	29	+	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–
celkem		2	8	7	1	5	7	1	4	1	3	2

první volby pro multifokální či multiorgánové formy nemoci.

Publikované zprávy popisující velmi dobrý účinek při minimu nežádoucích účinků nás vedly k tomu, že u dospělých nemocných tento lék používáme pro léčbu multifokální a multiorgánové formy LCH jak v rámci iniciální léčby, tak v rámci léčby relapsu. Efekt léčby kladribinem nastupuje rychle, je excelentně tolerována a dosažené remise jsou dlouhodobé. V následujícím textu shrnujeme naše zkušenosti s touto léčbou.

Soubor pacientů a léčba

Soubor pacientů

Léčbu kladribinem absolvovalo celkem 10 pacientů (9 mužů a 1 žena). Pouze u jednoho nemocného byla diagnóza LCH stanovena v dětství, v 5 letech, u ostatních byla diagnóza LCH stanovena v dospělosti.

Medián věku stanovení diagnózy celého souboru je 31,5 (5–45 let) roku. Medián věku stanovení diagnózy u 9 pacientů, u nichž byla choroba diagnostikována v dospělém věku, je 34 (21–45) let.

Medián věku, v němž byla zahájena léčba kladribinem, byl 33 (21–55) let.

U 2 z 10 z pacientů byl postižen pouze skelet, u ostatních 8 pacientů bylo postiženo více orgánů či tkání (multiorgánová forma LCH).

Dva pacienti z deseti měli agresivní multifokální postižení skeletu, u jednoho z nich masy LCH expandovaly z okcipitální kosti intrakraniálně a komprimovaly okcipitální lalok, což vedlo

k výpadkům zrakového pole. A podobně i u druhého pacienta s agresivním multifokálním postižením se jednalo o mnohočetné postižení skeletu i s postižením obratlů, žeber a kalvy. Osm pacientů z desetičlenného léčeného kolektivu mělo multiorgánovou.

Rozsah nemoci při zahájení léčby kladribinem ukazuje tab. 1.

Z hlediska frekvence orgánové lokalizace bylo přítomno:

- postižení skeletu u 7 (70 %);
- postižení plic u 7 (70 %);
- postižení kůže u 5 (40 %), z toho u tří pacientů se jednalo o postižení kůže v oblasti anogenitální a u dvou v oblasti zapárkových lokalizací, axilly, třísla, pod prsy;
- postižení hypotalamo-hypofyzární osy s diabetem insipidem u 4 (40 %) pacientů;
- infiltrace v oblasti zevního ucha (otitis externa) u 3 (30 %) pacientů, v jednom případně byla tato forma zachycena v počátečním stadiu jako otitis externa, v dalších dvou případech až ve stadiu, kdy nemoc způsobila již destrukci kostních struktur spánkové kosti;
- infiltrát LCH v mozku mimo hypotalamo-hypofyzární osu u 1 (10 %) pacienta;
- intrakraniální expanze z kostního ložiska s neurologickými příznaky u 1 (10 %) pacienta;
- infiltrace jater u 1 (10 %) pacienta;
- mnohočetné postižení lymfatických uzlin u 1 (10 %) pacienta;

- postižení čelisti podobné paradentóze s vypadáním zubů u dvou pacientů bylo velmi suspektní, ale nebylo histologicky verifikováno.

Vzhledem k tomu, že tato nemoc má charakter chameleóna a u každého pacienta se manifestovala jiným způsobem, doplňujeme informace o souboru pacientů v tab. 2.

Léčba

U 8 z 10 pacientů byl kladribin použit jako chemoterapie první linie. U dvou pacientů předcházela léčbě kladribinem několik desetiletí trvající průběh nemoci s opakovanými atakami, které byly léčeny chemoterapií (vinblastin a prednison a také etoposid) a radioterapií.

Všichni uvedení pacienti byli léčeni 2-chlorodeoxyadenosinem (kladribinem) v dávce 5 mg/m²/den, 5 dní po sobě. První pacient dostal tuto léčbu ve formě nitrožilních infuzí, ostatní nemocní pak ve formě podkožních injekcí. Tyto cykly se opakovaly v měsíčních intervalech, maximálně 6krát. Medián počtu aplikovaných cyklů chemoterapie byl 5 (4–6). Vyhodnocení účinnosti léčby jsme prováděli po 2. a 3. cyklu.

Ve dvou případech, kdy nemoc vykazovala známky rychlého a velmi agresivního průběhu, jsme před aplikací kladribinu provedli sběr kmenových krvetvorných buněk, které jsme zamrazili pro pozdější případné použití. Vzhledem k tomu, že pro dospělé pacienty nebyly definovány prognostické ukazatele, závi-

Tab. 2. Základní informaci o průběhu nemoci před léčbou a rozsah nemoci při zahájení léčby kladribinem.

Pacient datum narození	Rok a věk dg.	Rozsah nemoci před zahájením léčby kladribinem
1. pacient muž 1976	1981 (5 let)	v 5 letech diabetes insipidus + kožní infiltráty LCH; opakovaná léčba vinblastinem a prednisonem v dětském věku; od 18 let dalších 5 cyklů léčby; při zahájení aplikace kladribinu se jednalo o multiorgánovou recidivu s mnohočetnými kostními ložisky skeletu včetně kalvy, recidivu infiltrace kůže perianálně a o nově diagnostikovanou infiltraci jater; trval diabetes insipidus + panhypopituitarismus a byla přítomna počínající neurodegenerativní poškození CNS; exitus 84 měsíců od ukončení léčby bez známek recidivy nemoci
2. pacient muž 1972	1993 (21 let)	dg. stanovena v roce 1993 z osteolytického ložiska v obratli Th 12 a ve femoru; léčen pouze operačně; v roce 2003 histologicky verifikovaná recidiva ve formě mnohočetných osteolytických ložisek v kalvě, žebrech a v páteři; dále dle HRCT přítomna plicní forma LCH; kladribin podán v roce 2003 pro multiorgánovou recidivu nemoci jako první linie chemoterapie; při poslední kontrole bez recidivy
3. pacient muž 1978	2003 (25 let)	dg. stanovena v roce 2003 z osteolytického ložiska femuru, současně mnohočetná kostní osteolytická ložiska kalvy a dalších kostní; z okcipitálního kostního ložiska expandovaly hmoty LCH intrakraniálně a komprimovaly okcipitální lalok a způsobovaly poruchou zraku; kladribin podán v rámci léčby první linie agresivně se chovající multifokální formy LCH; při poslední kontrole bez recidivy
4. pacient muž 1973	2007 (34 let)	2005 – diabetes insipidus a hypogonadismus, infiltrát infundibula hypofýzy, dg. LCH stanovena až 2007 z infiltrátu v perianální krajině; kladribin podán v roce 2007 v rámci první linie léčby multiorgánové formy LCH s infiltrátem stopky hypofýzy, kožním perianálním infiltrátem; bylo podezření na orofaciální formu s postižením gingivy a s uvolňováním zubů, histologicky však neověřováno; při poslední kontrole bez recidivy
5. pacient muž 1969	2009 (40 let)	2009 – opakované pneumotoraxy, při třetím torakoskopickém řešení pneumothoraxu odebrána histologie z plic a ověřena plicní forma LCH; při vyšetření s cílem stanovit rozsah nemoci histologicky verifikováno i kožní postižení; v roce 2009 podán kladribin v rámci iniciální léčby multiorgánové formy nemoci, postihující plic a kůži; při poslední kontrole bez recidivy
6. pacient muž 1963	2008 (45 let)	2006 – nerozpoznaná plicní forma LCH sledovaná plicními lékaři jako emfyzém později léčba pro výtok z ucha, mylně veden ORL lékaři dva roky jako otitis externa; v listopadu 2008 dg. histologicky ověřena při operaci spánkové kosti pro osteolyzu mastoidea a pyramidy; v roce 2009 podán kladribin v rámci iniciální léčby multiorgánové formy nemoci, postihující plic a skelet kalvy a velmi pravděpodobně byla LCH příčinou ztráty všech zubů; při poslední kontrole bez recidivy
7. pacient muž 1973	2008 (35 let)	2008 – generalizovaná lymfadenopatie s B symptomy, infiltrace kůže perianální krajiny a postižení plic; přítomny B-symptomy (úbytek hmotnosti > 10 %, teploty, noční pocení a fatigue; kladribin podán v roce 2009 v rámci iniciální léčby multiorgánové formy LCH; nemoc recidivovala do 60 dnů od ukončení léčby; t.č. probíhá alogenní transplantace kostní dřeně
8. pacient muž 1974	2009 (35 let)	2007 – diabetes insipidus, bez objasnění příčiny; další vyšetření až 2009 hypogonadismus a infiltrace stopky hypofýzy dle MR zobrazení; v roce 2009 metodou HRCT plic a bronchoalveolární laváží prokázána plicní forma LCH; kladribin podán v rámci iniciální léčby v roce 2010 pro multiorgánovou formu nemoci, postihující CNS (zvětšující se infiltrát infundibula), postižení plic a postižení zevního zvukovodu; při poslední kontrole bez recidivy
9. pacient žena 1955	1976 (21 let)	ve 21 letech (1976) kožní forma, infiltrace v oblasti anogenitální, později vznik diabetu insipidu, postižení zevního ucha a přiléhajících kostních struktur, a posléze nejen kostí kalvy, ale i krční páteře; v průběhu 37 let trvání nemoci byla opakovaně léčena; v roce 2010 při zahájení léčby 2-CDA bylo aktivní postižení kůže v zapářkových lokalizacích, postižení kosti spánkové a dále ložisko LCH v oblasti temporálního laloku a byla přítomna plicní forma nemoci dle HRCT vyšetření plic; při poslední kontrole bez recidivy
10. pacient muž 1980	2009 (29 let)	muž s četnými osteolytickými ložisky skeletu; kladribin aplikován v rámci léčby první linie; při poslední kontrole bez recidivy

selo rozhodnutí o provedení sběru PBSC na posouzení agresivity nemoci ošetřujícím lékařem. Přihlíželi jsme k rychlosti nástupu příznaků, masivnosti postižení,

k případné extramedulární propagaci původně na kost limitované nemoci, k rozsahu multiorgánového postižení a k přítomnosti B-symptomů (= úbytek

hmotnosti větší než 10 % za 6 měsíců, subfebrilie či febrilie, noční pocení).

Před sběrem kmenových buněk krevetvorby z periferní krve jsme podá-

vali stimulační režim (cyklofosfamid 2 g/m²/den 1 s aplikací mesny, etoposid 200 mg/m² den 1–3) a leukocytární růstový faktor G-CSF (filgrastim) v dávce 10 mikrogramů/kg/den rozdělené do dvou denních dávek od 3. dne po ukončení chemoterapie až do ukončení sběru kmenových krvetvorných buněk.

Ve dvou případech jsme ke kladribinu při nedostatečném efektu prvních 3 cyklů léčby přidali dexametazon 20 mg/den a cyklofosfamid 150 mg/m²/den, vše po dobu 3–5 dnů.

Výsledky léčby

Léčebný efekt jsme u všech pacientů hodnotili na základě výsledků PET a později PET-CT vyšetření. Prováděli jsme i další zobrazovací vyšetření (rentgenové snímky skeletu, scintigrafii skeletu, funkční plicní testy a endokrinologické testy), ale základem pro hodnocení efektu léčby byla pozitronová emisní tomografie.

Z popisovaného souboru 10 nemocných zemřel pouze 1 pacient 84 měsíců od ukončení léčby kladribinem. U pacienta sice progredovaly pozdní neurodegenerativní změny CNS, které jej invalidizovaly tak, že nebyl schopen chůze, ale při kontrolních vyšetřeních jsme neprokázali recidivu nemoci. Pacient zemřel na plicní embolii bez prokazatelné recidivy nemoci. Ostatních 9 pacientů žije s mediánem sledování 26 měsíců (16–94).

Ihned po ukončení léčby kladribinem jsme dosáhli u všech pacientů vymizení symptomů nemoci, nicméně u jednoho pacienta nemoc relabovala již po 8 týdnech od ukončení chemoterapie, takže jsme nedosáhli klinicky relevantní odpovědi. Klinicky relevantní léčebné odpovědi hodnocené jako CR, ověřené PET-CT vyšetřením, dosáhlo 9 z 10 pacientů (90 %).

Za klinicky relevantní léčebnou odpověď typu kompletní remise považujeme naprosté vymizení symptomů nemoci potvrzené negativitou PET-CT vyšetření a trvající nejméně 60 dní. Časové kritérium trvání léčebné odpovědi (trvání nejméně 60 dní od ukončení léčby) bylo nedávno zavedeno pro hodnocení léčebné odpovědi u mnohočetného myelomu a my je aplikujeme i na LCH.

Pouze u jednoho nemocného nebylo dosaženo klinicky relevantní léčebné odpovědi kladribinem, ke kterému byl od 4. cyklu přidán cyklofosfamid a dexametazon. Nemoc do 8 týdnů od ukončení 6. cyklu chemoterapie prudce relabovala, a to ve všech původních lokalizacích: lymfatických uzlinách, plicích, perianální kůži. Navíc přibýlo postižení kostí, které předtím nebylo detekováno. Obnovily se B-symptomy. Jednalo se velmi aktivní formu nemoci, která vyžadovala opakované léčebné intervence a t.č. je pacient po vysokodávkované chemoterapii s alogenní transplantací kostní dřeně.

Hodnocení přechodu z monoterapie kladribinem na kombinaci kladribinu, cyklofosfamidu a dexametazonu

Pouze u dvou pacientů jsme přešli po 3 cyklech kladribinu v monoterapii na kombinaci kladribinu (5 mg/m²/den s.c., 3–5 dní po sobě) s cyklofosfamidem (150 mg/m² celková dávka/den, 3–5 dní po sobě) a dexametazonem (20 mg/den, 3–5 dní po sobě). U prvního z nich (pacient č. 5, plicní a kožní forma) se kožní projevy po prvních třech cyklech jen částečně zmenšily, ale nevymizely, proto jsme od 4. cyklu přidali cyklofosfamid a dexametazon a aplikovali další 3 cykly této trojkombinace. Po ukončení chemoterapie kožní projevy vymizely.

U druhého z nich (pacient č. 7, uzlinová forma, B-symptomy + kožní forma + plicní forma) jsme pozorovali po počáteční léčebné odpovědi stabilní stav bez prohlubování léčebné odpovědi po 2. a 3. cyklu kladribinu v monoterapii. Proto od 4. cyklu jsme podali kladribin ve výše uvedené kombinaci. Po této změně došlo k výraznému zmenšení uzlin, takže v době ukončení posledního cyklu dle klinického i sonografického vyšetření bychom mohli odpověď hodnotit jako kompletní remisi. Nicméně již 8. týden od ukončení chemoterapie PET-CT kontrola i klinický stav signalizovaly progresi nemoci, takže výsledek léčby hodnotíme tak, že nebylo dosaženo klinicky relevantní léčebné odpovědi.

Tolerance léčby a nežádoucí účinky

Kladribin má výrazný imunosupresivní účinek. Přesto jsme v celém souboru

v průběhu léčby zaznamenali pouze jednu infekční komplikaci (pneumonii v terénu plicí postižené LCH) vyžadující hospitalizaci a 2 infekce horních dýchacích cest, které byly zvládnuty ambulantní antibiotickou léčbou.

Tolerance kladribinu podávaného v monoterapii byla velmi dobrá. Lokální aplikace kladribinu byla tolerována bez nežádoucích účinků a žádný z pacientů léčených pouze kladribinem neměl neutropenii či trombocytopenii III. či IV. stupně dle WHO klasifikace nežádoucích účinků a po ukončení léčby měli všichni pacienti normální hodnoty krevního obrazu.

V případné použití kombinace kladribinu s cyklofosfamidem a dexametazonem jsme při kontrole krevního obrazu 14 dní od ukončení léčby zaznamenali neutropenii III. stupně, která však byla dočasná a nevedla ke změně léčebného plánu. Výsledky léčby shrnuje tab. 3.

Diskuze

U dětí byla léčba LCH ověřena klinickými studiemi a z nich jsou odvozeny také léčebná doporučení pro dospělé, jejich přehled uvádí [3,10]. Klasické pediatrické léčebné protokoly jsou založeny na vinblastinu, prednisonu, merkaptopurinu. Dalšími účinnými medikamenty pro léčbu LCH jsou etoposid a metotrexát, oba však mají intenzivnější nežádoucí účinky než vinblastin, a proto vinblastinové režimy zůstávají zlatým standardem pro léčbu LCH.

Léčba dle těchto pediatrických protokolů trvá dlouho, může trvat až rok. Při jejich použití u dospělých bývá často závažným problémem neurotoxicita vinblastinu, v případě aplikace mimo žílu komplikace způsobené paravazací. Nepřehlédnutelným problémem u dospělých pacientů jsou komplikace vyvolané dlouhodobým podáváním kortikoidů (diabetes mellitus II. typu, trombózy apod.).

Experimentální testy prováděné v devadesátých letech prokázaly, že účinnost kladribinu se velmi liší tkáň od tkáně. To, zda na buňku bude mít kladribin cytotoxický efekt, závisí na poměru aktivačního enzymu (deoxycytidinkinázy) a deaktivního enzymu (5-nukleotidázy). V buňkách, kde je tento poměr

Tab. 3. Shrnutí výsledků léčby souboru 10 dospělých pacientů s LCH, kteří byli léčeni kladribinem.

Pacient	Věk stanovení diagnózy (roky)	Rok a věk zahájení léčby	Léčba	Léčebná odpověď	Trvání Léčebné odpovědi (měsíce)
1. muž 1976	5	2001 (25 let)	2-CDA 6 cyklů	CR	84 exitus plicní embolie
2. muž 1972	21	2003 (31 let)	2-CDA 4 cyklů	CR	92+
3. muž 1978	25	2003 (25 let)	sběr PBSC + + 2-CDA 4 cykly	CR	94+
4. muž 1973	35	2007 (35 let)	2-CDA 4 cykly	CR	48+
5. muž 1969	40	2009 (40 let)	2-CDA+ celkem 6x od 4. cyklu + CFA + dexta	CR	24+
6. muž 1963	46	2009 (46 let)	2-CDA 4 cyklů + radioter. 20 Gy	CR	26+
7. muž 1973	36	2009 (36 let)	sběr PBSC 2-CDA 6 cyklů, od 4. cyklu + CFA + dexta	NR	progrese do 60. dne od ukončení léčby
8. muž 1974	35	2010 (35 let)	6 cyklů 2-CDA	CR	15+
9. žena 1955	21	2010 (55 let)	4 cyklů 2-CDA	CR	12+
10. muž 1980	29	2009 (29 let)	2-CDA 4 cykly	CR	16+

vysoký, má kladribin intenzivní cytotoxický efekt. Vysoká aktivita deoxycytidinkinázy a nízká aktivita 5-nukleotidázy se vyskytuje v histiocytárních buňkách, v dendritických Langerhansových buňkách, v monocitech a také v klidových formách lymfocytů. Proto tento lék dosahuje léčebné odpovědi u nízké agresivních lymfoproliferativních chorob, ale také u chorob odvozených z dendritických histiocytů, tedy z Langerhansových buněk, a také u chorob odvozených od fagocytujících monocytů (skupina juvenilního xantogranulomu). Díky dobré průchodnosti hematocefalickou bariérou účinkuje i na infiltráty v CNS [4–10].

Od roku 1993 se objevují četné zprávy o výborné účinnosti kladribinu u LCH, obvykle ve formě popisu případu. V prvních publikovaných případech byl kladribin použit v rámci léčby druhé či vyšší linie a v roce 2003 se začal používat v rámci iniciační léčby agresivních multifokálních nebo multiorgánových forem. Vzhledem k tomu, že to je velmi vzácné onemocnění, a tedy se obtížně provádějí klinické studie, tak zkušenosti s léčbou LCH kladribinem byly publikovány ve formě popisů případů. Několik publikací o účinnosti kladribinu

u dětské formy LCH pochází i od českých autorů [11,12].

V literatuře jsme našli pouze 4 publikace, které popisují zkušenosti s kladribinem u 10 a více pacientů. Jednalo se však o dětské pacienty, případně soubory obsahující jak děti, tak i dospělé [13–16].

U dospělých pacientů s LCH nelze léčbu odvozovat od randomizovaných klinických studií, protože u dospělých nebyla ani jedna studie dokončena. Studie, která měla za cíl ověřit účinek vinblastinu u dospělých, nebyla uskutečněna, snad kvůli problémům s nežádoucími účinky tohoto léku u dospělých.

Proto se léčba dospělých pacientů odvíjí od zkušeností získaných v pediatrických studiích a dále od publikovaných popisů jednotlivých případů či menších souborů dospělých nemocných.

Vysoce pozitivní zkušenosti s kladribinem u relabujících forem a známé nežádoucí účinky vinblastinu u dospělých pacientů vedly lékaře na Mayo Clinic v USA k preferenci kladribinu před vinblastinem u dospělých pacientů s LCH v rámci léčby první linie. Jejich publikace z roku 2003 jako první popisuje excelentní účinnost kladribinu aplikovaného

u dospělých pacientů s LCH v rámci léčby první linie [17].

Na základě excelentních publikovaných zkušeností s kladribinem použitým pro léčbu první linie anebo pro léčbu recidivy LCH jsme přikročili k léčbě kladribinem v rámci iniciační léčby multiorgánové či multifokální formy LCH.

V našem souboru 10 pacientů bylo u 9 (90 %) dosaženo kompletní remise nemoci, pouze u jednoho pacienta, u něhož byl kladribin použit v rámci první linie, došlo k velmi časnému relapsu nemoci, takže výsledek hodnotíme jako negativní.

Kladribin je považován za nejvhodnější lék při postižení mozku LCH. Z léků, které působí na tuto nemoc, dosahuje nejvyšších intratekálních koncentrací. Proto je pro pacienty s LCH postižující CNS považován za optimální lék. Jeho účinnost potvrzují i četné popisy případů, u nichž léčba vedla k vymizení LCH ložiska v mozku [17–21]. Ottaviano et al v roce 2003 dokonce popsali reverzibilitu diabetu insipidu při časně zahájené léčbě infiltrátů v oblasti hypotalamo-hypofyzární [20]. Velmi dobrý efekt kladribinu byl popsán i u dalšího histiocytárního onemocnění postihujícího

CNS, a sice u juvenilní xantogranulomatózy v CNS [22].

V našem souboru jsme postižení mozku některou z forem LCH pozorovali celkem 4krát, v jednom případě šlo o diabetes insipidus diagnostikovaný již v dětství, zde jsme v dospělosti oblast hypofýzy a hypotalamu již nevyšetřovali. U dvou našich pacientů byl v dospělosti diagnostikován diabetes insipidus s jasným patologickým infiltrátem stopky hypofýzy, který po léčbě vymizel.

Izolovaná plicní forma LCH se obvykle vyskytuje pouze u kuřáků a její průběh, pokud se podaří překonat závislost na cigaretách a ukončit kouření, bývá příznivý. V případě, že plicní postižení je součástí multiorgánového poškození, je spontánní vymizení aktivity nemoci po ukončení kouření málo pravděpodobné. Klasicky se používají kortikoidy, případně vinblastin. V literatuře však byla na více případech dokumentována účinnost kladribinu u pacientů s plicní formou postižení [23–25]. Také u našich pacientů s plicním postižením při multiorgánové formě LCH jsme pozorovali léčebnou odpověď, dokumentovanou PET-CT a HRCT vyšetřením.

Závěr

Kladribin je excelentní lék první volby pro multiorgánové formy nebo agresivní formy postihující multifokálně jeden systém. Kladribin je u těchto pacientů velmi dobře tolerován, nepozorovali jsme žádnou toxicitu III. a IV. stupně dle WHO. U některých hematologických onemocnění s infiltrací kostní dřeně byl po kladribinu popisován myelosupresivní účinek. U pacientů s Langerhan-

sovou histiocytózou, u níž nedochází k infiltraci kostní dřeně, jsme tento nežádoucí účinek nepozorovali. V případě kombinace kladribinu s cyklofosfamidem však již může dojít k myelosupresi i u pacientů s LCH [26].

Literatura

1. Aricò M, Girschikovsky M, Gèneau T et al. Langerhans cell histiocytosis in adults. Report from the International Registry of the Histiocyte Society. *Eur J Cancer* 2003; 39(16): 2341–2348.
2. Haupt R, Nanduri V, Calevo MG et al. Permanent consequences in Langerhans cell histiocytosis patients: a pilot study from the Histiocyte Society-Late Effect Study Group. *Pediatr Blood Cancer* 2004; 42(5): 438–444.
3. Allen CE, McClain KL. Langerhans cell histiocytosis: a review of past, current and future therapies. *Drugs Today* 2007; 43(9): 627–643.
4. Carrera CJ, Terai C, Piro LD et al. Potent toxicity of 2-chlorodeoxyadenosine toward human monocytes in vitro and in vivo. A novel approach to immunosuppressive therapy. *J Clin Invest* 1996; 86(5): 1480–1488.
5. Liliemark J. The clinical pharmacokinetics of cladribine. *Clin Pharmacokinet* 1997; 32(2): 120–131.
6. Brysin MH, Sordin EM. Cladribine: A review of its pharmacodynamics and pharmacokinetics properties and therapeutic potential in hematologic malignancies. *Drugs* 1993; 46(5): 872–891.
7. Liliemark J, Albertoni F, Hasan M et al. On the bioavailability of oral and subcutaneous 2-chlorodeoxyadenosine in humans: alternative routes of administration. *J Clin Oncol* 1992; 10(10): 1514–1518.
8. Robak T, Lech-Maranda E, Korycka A et al. Purine nucleoside analogs as immunosuppressive and antineoplastic agents: Mechanism of action and clinical activity. *Curr Med Chem* 2006; 13(26): 3165–3189.
9. Adam Z. Hematologické choroby nízkého stupně malignity. Standardní léčebné postupy a zhodnocení účinnosti 2-chlorodeoxyadenosinu. Brno: MU Brno 1998.
10. McClain KL. Drug therapy for the treatment of Langerhans cell histiocytosis. *Expert Opin Pharmacother* 2005; 6(14): 2435–2441.
11. Mottl H, Ganevová M, Radvanská J et al. Treatment results of Langerhans cell histiocytosis with LSH II protocol. *Cas Lek Cesk* 2005; 144(11): 753–755.
12. Mottl H, Starý J, Chánová M et al. Treatment of recurrent Langerhans cell histiocytosis in children with 2-chlorodeoxyadenosine. *Leuk Lymphoma* 2006; 47(9): 1881–1884.
13. Saven A, Burian C. Cladribine activity in adult Langerhans-cell histiocytosis. *Blood* 1999; 93(12): 4125–4130.
14. Weitzman S, Wayne AS, Arcenci R et al. Nucleoside analogues in the therapy of Langerhans cell histiocytosis: a survey of members of the histiocyte society and review of the literature. *Med Pediatr Oncol* 1999; 33(5): 476–481.
15. Imamura T, Sato T, Shiota Y et al. Outcome of pediatric patients with Langerhans cell histiocytosis treated with 2-chlorodeoxyadenosine: a nationwide survey in Japan. *Int J Hematol* 2010; 91(4): 646–651.
16. Weitzman S, Braier J, Donadieu J et al. 2'-Chlorodeoxyadenosine (2-CdA) as salvage therapy for Langerhans cell histiocytosis (LCH): results of the LCH-S-98 protocol of the Histiocyte Society. *Pediatr Blood Cancer* 2009; 53(7): 1271–1276.
17. Pardanani A, Phylly RL, Li CY et al. 2-Chlorodeoxyadenosine therapy for disseminated Langerhans cell histiocytosis. *Mayo Clin Proc* 2003; 78(3): 301–306.
18. Watts J, Files B. Langerhans cell histiocytosis: central nervous system involvement treated successfully with 2-chlorodeoxyadenosine. *Pediatr Hematol Oncol* 2001; 18(3): 199–204.
19. Dhall G, Finlay JL, Dunkel IJ et al. Analysis of outcome for patients with mass lesions of the central nervous system due to Langerhans cell histiocytosis treated with 2-chlorodeoxyadenosine. *Pediatr Blood Cancer* 2008; 50(1): 72–79.
20. Ottaviano F, Finlay JL. Diabetes insipidus and Langerhans cell histiocytosis: a case report of reversibility with 2-chlorodeoxyadenosine. *J Pediatr Hematol Oncol* 2003; 25(7): 575–577.
21. Stine KC, Saylor RL, Saccente S et al. Efficacy of continuous infusion 2-CdA (cladribine) in pediatric patients with Langerhans cell histiocytosis. *Pediatr Blood Cancer* 2004; 43(1): 81–84.
22. Rajendra B, Duncan A, Parslew R et al. Successful treatment of central nervous system juvenile xanthogranulomatosis with cladribine. *Pediatr Blood Cancer* 2009; 52(3): 413–415.
23. Aerni MR, Aubry MC, Myers JL et al. Complete remission of nodular pulmonary Langerhans cell histiocytosis lesions induced by 2-chlorodeoxyadenosine in a non-smoker. *Respir Med* 2008; 102(2): 316–319.
24. Lazor R, Etienne-Mastroianni B, Khouatra C et al. Progressive diffuse pulmonary Langerhans cell histiocytosis improved by cladribine chemotherapy. *Thorax* 2009; 64(3): 274–275.
25. Fichter J, Doberauer C, Seegenschmiedt H. Langerhans cell histiocytosis in adults: An interdisciplinary challenge. *Dtsch Arztebl* 2007; 104(34–35): A2347–A2353.
26. Robak T, Kordek R, Robak E et al. Langerhans cell histiocytosis in a patient with systemic lupus erythematosus: a clonal disease responding to treatment with cladribine, and cyclophosphamide. *Leuk Lymphoma* 2002; 43(10): 2041–2046.

Comparision of Histological Types of Primary and Subsequent Relapsing Basal Cell Carcinomas of the Skin

Porovnávanie histologických typov primárnych a korešpondujúcich recidivujúcich bazocelulárnych karcinómov kože

Bartos V.¹, Adamicova K.², Kullova M.³, Pec M.⁴

¹ Department of Pathological Anatomy, Faculty Hospital in Zilina, Zilina, Slovak Republic

² Institute of Pathological Anatomy, Jessenius faculty of Medicine in Martin, Martin, Slovak Republic

³ Department of Dermatovenereology, Faculty Hospital in Zilina, Zilina, Slovak Republic

⁴ Institute of Medical Biology, Jessenius faculty of Medicine in Martin, Martin, Slovak Republic

Summary

Background: Basal cell carcinoma (BCC) recurrences are relatively frequent event in a routine dermatologic practice. One of the most important factor which impacts risk of their development is a histomorphological appearance of tumor. **Design:** The purpose of our study was to compare histological types of primary and corresponding relapsing BCCs of the skin. **Material and methods:** The study included 36 cases of BCC recurrences from 34 patients, 17 women and 17 men. The patients ranged in age from 32 to 97 years, with a mean age of 67.1 years at the time of (the first) recurrence. **Results:** Both tumor groups generally exhibited the same proportion of indolent and aggressive histological phenotype. In 21 cases (58.4%), we found an identical histological BCC type in primary and subsequent relapsing lesion. In 3 cases (8.3%), primary lesion showed indolent histological features without aggressive-growth component, while recurrent tumor already manifested it. Conversely, in next 3 cases (8.3%) primary tumor exhibited focal infiltrative-growth features and corresponding relapsing lesion did not. Of the remainig 9 cases (25%), histomorphological phenotype was not identical, but it showed the same prognostic histological tumor variant. **Conclusion:** Based on the results of our study it can be assumed that a BCC recurrence is a dynamic histogenetic process, during which the phenotypic transformation and the changes in histomorphological picture of lesions occur, probably as a result of the interactions between cancer cells and re-modulated surrounding stroma.

Key words

basal cell carcinoma – tumor recurrence

The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning drugs, prducts, 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.



Vladimir Bartos, MD

Department of Pathological Anatomy

Faculty Hospital in Zilina

V. Spanyol 43

012 07 Zilina

Slovak Republic

e-mail: bartos@jfmed.uniba.sk

Submitted/Obdrženo: 16. 12. 2011

Accepted/Přijato: 29. 1. 2012

Súhrn

Východiská: Recidívy bazocelulárneho karcinómu (BCC) sú pomerne častým fenoménom v bežnej dermatologickej praxi. Jeden z najvýznamnejších faktorov, ktoré ovplyvňujú riziko ich vzniku, je histomorfologický vzhľad nádoru. **Cieľ:** Cieľom našej práce bolo porovnávanie histologických typov primárnych a korešpondujúcich recidivujúcich BCC kože. **Materiál a metodika:** V štúdií bolo zahrnutých 36 prípadov nádorových recidív BCC od 34 pacientov, 17 žien a 17 mužov. Vekové rozpätie pacientov variovalo od 32 do 97 rokov, priemerný vek v čase (prvej) recidívy bol 67,1 rokov. **Výsledky:** V oboch skupinách sme vo všeobecnosti preukázali rovnaké zastúpenie indolentného a agresívneho histologického fenotypu. V 21 prípadoch (58,4 %) sme potvrdili v primárnej aj recidivujúcej lézii identický histologický typ BCC. V 3 prípadoch (8,3 %) mala primárna lézia indolentné črty bez agresívne rastúcej zložky, pričom recidivujúca lézia už túto komponentu obsahovala. Naopak, v ďalších 3 prípadoch (8,3 %) primárny nádor vykazoval fokálne infiltratívne rastové črty a korešpondujúca recidivujúca lézia ich neobsahovala. V ostatných 9 prípadoch (25 %) nemali primárne a recidivujúce lézie úplne rovnaký histomorfologický fenotyp, ale ich obraz sa menil iba v rámci rovnakého prognostického histologického variantu. **Záver:** Z výsledkov našej štúdie vyplýva, že recidivovanie BCC kože predstavuje dynamický histogenetický proces, počas ktorého dochádza k fenotypovej transformácii a zmenám v histomorfologickom obraze lézií, pravdepodobne ako následok interakcií medzi nádorovými bunkami a remodulovanou okolitou strómou.

Kľúčové slová

bazocelulárny karcinóm – nádorové recidívy

Introduction

Basal cell carcinoma (BCC) of the skin is currently the most common malignancy in humans [1–3]. This cancer usually occurs in the elderly people, but there are also known some rare hereditary disorders, in which cutaneous BCCs develop at an early age, such as Gorlin-Goltz syndrome or xeroderma pigmentosum [4,5]. In contrast to the other malignancies, cutaneous BCC is generally characterized by an indolent clinical course, favourable prognosis and minimal metastatic potential [1,2]. However, one of the most negative event in routine clinical practice are relatively frequent tumor recurrences. Although their reliable prediction on the basis of common demographical, clinical and histopathological parameters is very limited [6], some may indicate an increased likelihood of their development. Among them, histomorphological appearance of tumor represents one of the most important prognostic indicator. The results of several studies [6–12] have shown that BCC recurrences were mostly associated with aggressive-growth histological variants (i.e. infiltrative, morpheic BCC, and metatypical carcinoma). These variants are microscopically characterized by irregular, invasive growing tumor nests with deeper infiltration into the soft tissue causing their difficult surgical removal. Since there are not uncommon recurrences of the indolent (superficial and nodular) BCC variants as well,

according to some authors [13], no definite correlation could be established between BCC subtypes and recurrence, and histopathological criteria are limited for prognostification. Better understanding of pathogenesis and histogenetic evolution of BCC relapses may be obtained by comparing the individual morphological features and biological characteristics of primary and subsequent relapsing lesions. However, there have been only a few such relevant data published in the literature to date [9,14–16], including our previous recent paper [17]. Herein, we focused our study to compare histological types of primary and corresponding recurrent BCCs of the skin in biopsy specimens.

Material and Methods

The study included 36 cases of BCC recurrences, whose primary and subsequent relapsing lesions were histologically diagnosed at the Department of Pathology in Faculty Hospital in Zilina, and whose original tumor and each subsequent recurrence were able to retrospectively reviewed. Individual cancers were obtained from 34 subjects. Seventeen patients were women and seventeen were men. The patients ranged in age from 32 to 97 years, with a mean age of 67.1 years at the time of (the first) recurrence. The most common sites of presentation were nose and paranasal regions (n = 11), auricles and periauricular areas (n = 6) and eyelids and periorcular parts (n = 5) with

other tumors located on temporal region (n = 3), cheeks (n = 3), forehead (n = 2), mandibular region (n = 2), neck (n = 2), scalp (n = 1) and back (n = 1). Three women suffered from a repeated re-recurrence of the same carcinoma. Two men had 2 separate relapsing cancers on the different anatomical site. Of the primary BCCs, a total surgical excision of lesion was attempted in 31 cases, 3 patients underwent a partial (probatory) excision, one patient underwent an excochleation and one woman a partial craniectomy. In excisional biopsies, none of the incompletely removed tumors was immediately re-excised. The adjuvant postoperative therapeutic modality (local radiotherapy, photodynamic therapy, administration of Imiquimod or Efudix) were applied when required according to the individual decision of the clinicians. A biopsy material was fixed in buffered formalin, embedded in paraffin blocks, stained with hematoxylin and eosin and slides were reviewed by pathologists in the light microscope. Histological BCC types were categorized into the aggressive-growth and indolent-growth variants according to conventional classification reported in the literature [1]. Aggressive-growth variants included infiltrative (morpheic) type, micronodular type and metatypical carcinoma, whereas indolent-growth variants comprised superficial type, nodular type, and BCC with adnexal (trichoepithelial) differentiation.

Results

Histologically, there was considerable variation in morphology in both, primary and recurrent BCCs, which shows either homogeneous or mixed pattern. In primary BCCs group, in order of frequency, the histological tumor types were following: nodular type ($n = 10$), nodular BCC with focal infiltrative-growth features ($n = 8$), infiltrative type ($n = 7$), nodular BCC with trichoepithelial features ($n = 3$) (Fig. 1), morpheic type ($n = 2$), trichoepithelial BCC ($n = 2$), nodular BCC with micronodular component ($n = 1$), „pure“ metatypical carcinoma ($n = 1$) (Fig. 2), metatypical carcinoma combined with nodular and infiltrative BCC component, and superficial BCC ($n = 1$). In summary, more than half of all cases ($n = 20$, 55.5%) demonstrated (at least partial) aggressive-growth histological component. Of the recurrent lesions, histological tumor types were as follows: nodular type (10 cases), nodular BCC with focal infiltrative-growth features (8 cases), infiltrative type (6 cases), „pure“ metatypical carcinoma (3 cases), morpheic type, superficial type, trichoepithelial BCC and nodular BCC with trichoepithelial features (2 cases each), and metatypical carcinoma combined with nodular and infiltrative BCC component (1 case). In general, both groups exhibited the same proportion of indolent and aggressive histologic phenotype. When we compared the corresponding primary and recurrent lesions, there were 21 cases (58.4%) with absolutely identical histological type. In 3 cases (8.3%) primary lesion showed indolent histological features only without aggressive-growth component, while recurrent tumor already manifested it (for example nodular type → nodular-infiltrative type). Conversely, in next 3 other cases (8.3%), primary tumor exhibited focal infiltrative-growth features and corresponding relapsing lesion did not (for example nodular-infiltrative type → nodular type). Of the remaining 9 cases (25%), the histomorphological phenotype of primary and recurrent tumors was not identical, but they displayed some changes only within the same prognostic growth variant (for example nodular → superficial, or morpheic type → metatypical carcinoma). In 3 cases of tumor re-recurrences, all lesions (primary, the first and the second recurrence) had an identical histological BCC type, all of which manifested an aggressive-growth component (Graph 1). A majority of relapsing lesions showed a marked dermal fibroplasia accompanied by a chronic inflammatory infiltration of various intensity, and sometimes

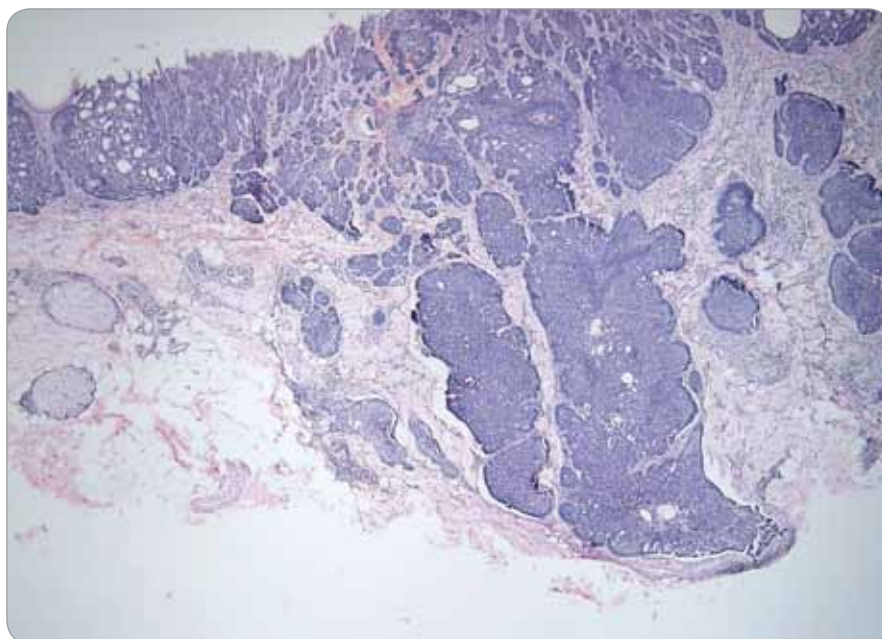


Fig. 1. Histomorphological picture of nodular BCC with trichoepithelial growth features (hematoxylin and eosin staining, magnification 40x).

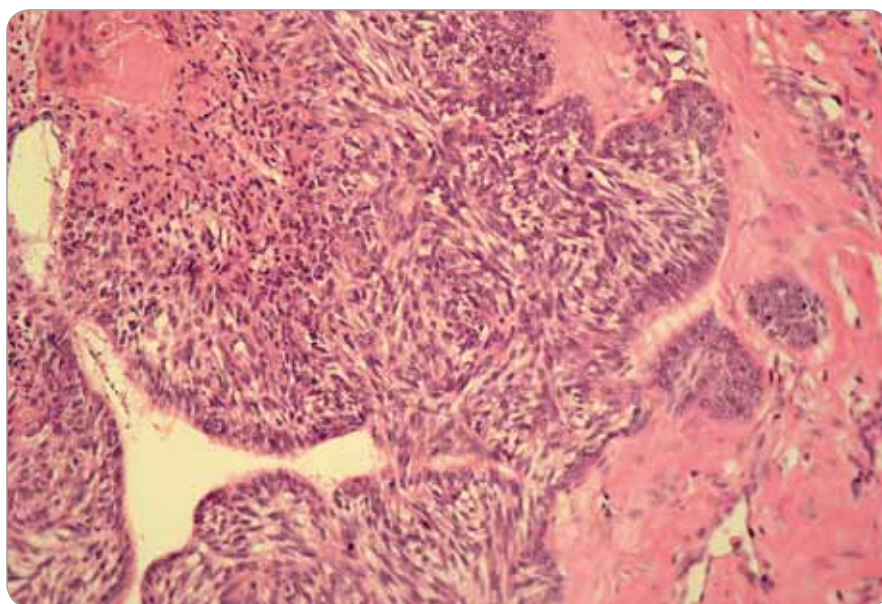
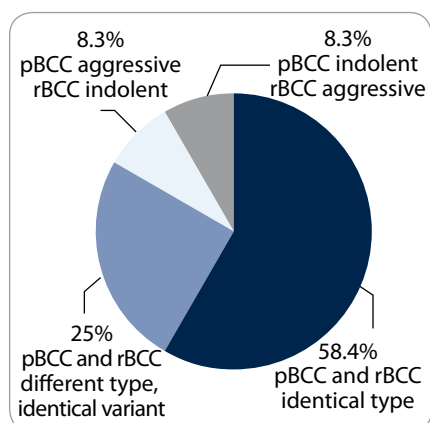


Fig. 2. Histomorphological picture of metatypical carcinoma (hematoxylin and eosin staining, magnification 120x).

by granulomatous giant cell reaction. In all 36 cases assessed, a recurrence interval varied between 2–176 months (mean 25.2 months). When we evaluated a relationship between recurrence interval and histologic types of relapsing BCCs we had found, indolent BCC variants slightly predominated in cases of earlier recurrences within 2 years. However, a further increase of recurrence inter-

by granulomatous giant cell reaction. In all 36 cases assessed, a recurrence interval varied between 2–176 months (mean 25.2 months). When we evaluated a relationship between recurrence interval and histologic types of relapsing BCCs we had found, indolent BCC variants slightly predominated in cases of earlier recurrences within 2 years. However, a further increase of recurrence inter-



Graph 1. Graphical overview of the changes in histomorphological phenotype of tumors (pBCC – primary basal cell carcinoma, rBCC – corresponding recurrent basal cell carcinoma).

val was generally accompanied by decreased percentage of indolent-growth variants and increased percentage of aggressive-growth BCC variants (including BCC with partial aggressive-growth histological component). All cases of late recurrence that developed within 4 years and later after therapy had exhibited aggressive histological phenotype only (Tab. 1).

Discussion

Recurrent BCCs may clinically manifest as area of induration, erythema, ulceration or bleeding at a prior operative site for known primary lesion [1]. The vast majority of them develop within 3 years after treatment of primary lesion [7,14]. According to several papers [12,14–16], supported also by our present study it is obvious that BCC recur-

rence represents a dynamic histogenetic process. Although Başer et al [9] observed an identical histological type in primary and corresponding relapsing BCCs, there was very small number of cases consisting of 5 recurrences only. Boulínquez et al [15] compared 33 primary and subsequent recurrent BCCs and found that 20 of original tumors had exhibited microscopic features of non-aggressive, and remaining 13 lesions of aggressive tumor variant. During recurrence, 20% of originally non-aggressive carcinomas became histologically aggressive, and 31% of originally aggressive BCCs developed even more aggressive component. Similarly, in an earlier study, Lang and Maize [14] observed that 65% of all primary BCCs had demonstrated aggressive histomorphology characterized by poor palisading and an infiltrating and/or micronodular pattern. The subsequent recurrent lesions developed a more aggressive histologic feature in 23.5%, but in 13.7%, microscopic appearance became „more benign“. Lee et al [16] studied 21 recurrent BCCs and found that 6 cases (28.5%) of primary nodular BCCs had transformed to aggressive histologic variant when they recurred. In study of Pieh et al [12], repeated recurrences were related to increasing percentage of sclerosing BCC type. While this type was found in 14.4% of all primary tumors (which later recur), it was diagnosed in 35.3% of the first recurrence, in 70.0% of the second recurrence and finally, all third and fourth recurrences represented only sclerosing histological type. In our study, we have shown that during the recurrence, 8.3% of all can-

cers had developed a „more aggressive“ histologic features, and the same percentage became microscopically „more indolent“. Moreover, about one quarter of all cases displayed the changes within the same prognostic growth variant. These results (as well as the results of the papers mentioned above) confirmed a fact, primary and subsequent relapsing tumors have not always manifest the same histomorphology, and hence, they may also exhibit a different biological behaviour. On this occasion it is worth to mention a stepwise model of BCC progression previously postulated by Kaur et al [18]. This theory supposes that various BCCs exhibit distinct epithelial-stromal-inflammatory patterns that correlate with the individual BCC subtypes, tumor progression and neoplastic evolution from low risk to high risk tumor for local recurrence and implicates a histologic continuum reflecting dynamic host-BCC interactions. If we consider the individual morphological types of BCC being the „levels“ in their (usually slow) developmental process, this may explain, why some recurrent tumors did not manifest identical histological type in comparison to their primary lesions. It is most likely that this diversity in microscopical picture reflects a different evolutionary stage of „re-carcinogenesis“. In such cases, tumor histomorphology (and hence biological behaviour) may be significantly influenced by local reparative and inflammatory changes of tissue after previous surgery, during which a remodulation of stromal component become. In addition, even a form of adjuvant therapy probably plays an important role in transformation of tumor phenotype. For example, two decades ago Lang and Maize [14] supposed that development of the infiltrative and more invasive recurrent BCC types could be directly related to squamous differentiation of malignant cells induced by previous radiotherapy.

Conclusion

Based on the results of our study it can be concluded that like the normal mechanisms of BCC carcinogenesis, even BCC recurrence is a dynamic histogenetic process, during which the phenoty-

Tab. 1. Relationship between the interval of (the first) tumor recurrence and percentage of individual histological variants of recurrent basal cell carcinoma (rBCC). Indolent rBCC types with (at least) focal aggressive-growth component were included into the group of aggressive rBCCs.

Recurrence onset	Number	Indolent rBCC	Aggressive rBCC
during the 1st year	15	8 (53.3%)	7 (46.7%)
during the 2nd year	7	4 (57.1%)	3 (42.9%)
during the 3rd year	7	3 (42.9%)	4 (57.1%)
during the 4th year	2	1 (50%)	1 (50%)
during the 5th year	3	0	3 (100%)
≥ the 6th year	2	0	2 (100%)

pic transformation and the changes (at least to some extent) in histomorphology of lesions and their biological characteristics occur. This transformation is probably a result of the interactions between neoplastic cells and re-modulated surrounding microenvironment.

Acknowledgements

We would like to thank Dr. Pokorný Dusan, Dr. Zacharova Olga, Dr. Haluska Pavel and Dr. Doboszova Jana for their practical and educational participation in diagnostic process of tumors presented in this study.

References

1. Crowson AN. Basal cell carcinoma: biology, morphology and clinical implications. *Mod Pathol* 2006; 19 (Suppl 2): S127–S147.
2. Bartoš V, Adamicová K, Kullová M et al. Bazocelulárny karcinóm kože – biologické správanie nádoru a prehľad najvýznamnejších molekulových ukazovateľov progresie ochorenia v praxi patológa. *Klin Onkol* 2011; 24(1): 8–17.
3. Adamkov M, Halasova E, Rajcani J et al. Relation between expression pattern of p53 and survivin in cutaneous basal cell carcinomas. *Med Sci Monit* 2011; 17(3): BR74–BR80.
4. Plevová P, Krutílková V, Puchmajerová A et al. Gorlinův syndrom. *Klin Onkol* 2009; 22 (Suppl): S34–S35.
5. Plevová P, Šilhánová E, Foretová L. Vzácné hereditární syndromy s vyšším rizikem vzniku nádorů. *Klin Onkol* 2006; 19 (Suppl): S68–S75.
6. Kyrgidis A, Vahtsevanos S, Tzellos TG et al. Clinical, histological and demographic predictors for recurrence and second primary tumours of head and neck basal cell carcinoma. A 1,062 patient-cohort study from a tertiary cancer referral hospital. *Eur J Dermatol* 2010; 20(3): 276–282.
7. Santiago F, Serra D, Vieira R et al. Incidence and factors associated with recurrence after incomplete excision of basal cell carcinomas: a study of 90 cases. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2010; 24(12): 1421–1424.
8. Zimmermann AC, Klaus V. Predictors of recurrent basaloma of the eyelids and periorbital region. *Ophthalmologie* 2001; 98(6): 555–559.
9. Başer TN, Bulutoğlu R, Barutcu AY et al. Evaluation of basal cell carcinomas with positive surgical margins: A five year retrospective analysis. *Turk J Cancer* 2008; 38(1): 16–19.
10. Sexton M, Jones DB, Maloney ME. Histologic pattern analysis of basal cell carcinoma. Study of a series of 1,039 consecutive neoplasms. *J Am Acad Dermatol* 1990; 23(6 Pt 1): 1118–1126.
11. Bumpous JM, Padhya TA, Barnett SN. Basal cell carcinoma of the head and neck: identification of predictors of recurrence. *Ear Nose Throat J* 2000; 79(3): 200–204.
12. Pieh S, Kuchar A, Novak P et al. Long-term results after surgical basal cell carcinoma excision in the eyelid region. *Br J Ophthalmol* 1999; 83(1): 85–88.
13. Thomas J, McKiernan M, Rao GS. Basal cell carcinoma: how long a follow-up is needed? A surgical audit. *Eur J Plast Surg* 1996; 19: 318–319.
14. Lang PG Jr, Maize JC. Histologic evolution of recurrent basal cell carcinoma and treatment implications. *J Am Acad Dermatol* 1986; 14(2 Pt 1): 186–196.
15. Boulinquez S, Grison-Tabone C, Lamant L et al. Histological evolution of recurrent basal cell carcinoma and therapeutic implications for incompletely excised lesions. *Br J Dermatol* 2004; 151(3): 623–626.
16. Lee JS, Yi JH, Yun SK et al. Clinicohistopathological study of recurrent basal cell carcinomas after surgical excision. *Korean J Dermatol* 2010; 48(6): 453–459.
17. Bartoš V, Pokorný D, Zacharová O et al. Recurrent basal cell carcinoma: a clinicopathological study and evaluation of histomorphological findings in primary and recurrent lesions. *Acta Dermatovenereol Alp Panonica Adriat* 2011; 20(2): 67–75.
18. Kaur P, Mulvaney M, Carlson A. Basal cell carcinoma progression correlates with host immune response and stromal alterations: a histological analysis. *Am J Dermatopathol* 2006; 28(4): 293–307.

Mutace genu EGFR u pacientů s pokročilým NSCLC

EGFR Mutations in Patients with Advanced NSCLC

Fiala O.¹, Pešek M.², Fínek J.¹, Brůha F.², Bortlíček Z.³, Krejčí J.⁴, Benešová L.⁵, Minárik M.⁵

¹ Onkologické a radioterapeutické oddělení, FN Plzeň

² Klinika TRN, FN Plzeň

³ Institut biostatistiky a analýz, MU Brno

⁴ Klinika pneumologie a hrudní chirurgie, FN Na Bulovce Praha

⁵ Centrum aplikované genomiky solidních nádorů (CEGES), Genomac výzkumný ústav, Praha

Souhrn

Východiska: Léčba tyrozinkinázovými inhibitory, které blokují aktivaci kaskády receptoru pro epidermální růstový faktor (EGFR-TKI), představuje jednu z nových modalit léčby pokročilého NSCLC. Mutace genu EGFR, delece na 19. exonu a bodová mutace na 21. exonu (L858R) jsou prediktorem dobré odpovědi na léčbu EGFR-TKI. Zmapovali jsme incidenci mutací genu EGFR u pacientů s pokročilým NSCLC v naší populaci a posoudili jejich vliv na efekt léčby EGFR-TKI.

Soubor pacientů a metody: Genetické vyšetření (delece na 19. exonu a bodová mutace na 21. exonu) bylo provedeno u 613 pacientů s pokročilým NSCLC (stadium IIIB, IV). Efekt léčby (PFS, OS) EGFR-TKI byl hodnocen u 410 pacientů léčených EGFR-TKI. Přežití bylo hodnoceno metodikou podle Kaplana-Meiera a statistické srovnání bylo provedeno log-rank testem.

Výsledky: Mutace genu EGFR byla prokázána u 73 (11,9 %) pacientů, 540 pacientů bylo nositeli *wild-type* EGFR genu. Delece na 19. exonu byla zjištěna u 49 pacientů, bodová mutace na 21. exonu (L858R) byla zjištěna u 22 pacientů, obě mutace byly zjištěny u 2 pacientů. Byl prokázán zvýšený výskyt mutací genu EGFR u pacientů s adenokarcinomem (14,9 % vs 7,8 %, $p = 0,008$), žen (20,2 % vs 7,1 %, $p < 0,001$) a nekuřáků (29,9 % vs 7,0 %, $p < 0,001$). Šedesát pacientů s mutací genu EGFR a 350 pacientů s *wild-type* EGFR genem bylo léčeno EGFR-TKI. Medián PFS při léčbě EGFR-TKI u pacientů s mutací EGFR činil 7,2 vs 2,0 měsíce u pacientů s *wild-type* EGFR ($p < 0,001$), medián OS u pacientů s mutací EGFR činil 14,5 vs 7,5 měsíce u pacientů s *wild-type* EGFR ($p = 0,019$). **Závěr:** Výskyt mutací genu EGFR u NSCLC v naší populaci i jejich zvýšený výskyt u pacientů s adenokarcinomem, žen a nekuřáků koreluje s daty, která byla publikována v literatuře. Výsledky analýzy přežití u pacientů léčených EGFR-TKI potvrzují vysoký potenciál aktivačních mutací EGFR pro predikci dobrého efektu léčby EGFR-TKI.

Klíčová slova

NSCLC – EGFR gen – EGFR protein – tyrozinkinázové inhibitory – EGFR mutace – molekulárně cílená léčba

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. Ondřej Fiala

Onkologické a radioterapeutické oddělení

FN Plzeň

Alej Svobody 80

304 60 Plzeň-Lochotín

e-mail: fiala.o@centrum.cz

Obdrženo/Submitted: 10. 1. 2012

Přijato/Accepted: 24. 2. 2012

Summary

Background: Molecular targeted therapy based on tyrosine kinase inhibitors, directed at the epidermal growth factor receptor (EGFR) is one of novel options for management of NSCLC. EGFR gene mutations, exon 19 deletions and exon 21 point mutations (L858R) are good predictors of response to EGFR-TKI treatment. The aim of this study was to assess the incidence of EGFR mutations in a large cohort of Europeans with advanced NSCLC and subsequently to evaluate their impact on the effect of EGFR-TKI treatment. **Patients and Methods:** In total, 613 patients with advanced stage NSCLC (IIIB, IV) were genetically tested. The effect of treatment was evaluated in 410 patients treated with EGFR-TKI. Survival was evaluated using Kaplan-Meier method, and statistical comparison was performed using log-rank test. **Results:** EGFR mutations were detected in 73 (11.9%) patients. Exon 19 deletions were detected in 49 patients, exon 21 point mutations (L858R) were detected in 22 patients, and both mutation types were detected in 2 patients. An increased incidence of EGFR mutations among patients with adenocarcinoma (14.9% vs 7.8%, $p = 0.008$), women (20.2% vs 7.1%, $p < 0.001$) and nonsmokers (29.9% vs 7.0%, $p < 0.001$) was demonstrated. Sixty patients with EGFR mutation and 350 patients with wild-type EGFR were treated with EGFR-TKI. Median PFS in patients harboring EGFR mutation was 7.2 vs 2.0 months in patients harboring wild-type EGFR ($p < 0.001$), median OS in patients harboring EGFR mutation was 14.5 vs 7.5 months in patients harboring wild-type EGFR ($p = 0.019$). **Conclusion:** The incidence of EGFR mutations in the studied population, their increased incidence among patients with adenocarcinoma, women and non-smokers correlated with data previously published. Results of survival analysis in patients treated with EGFR-TKI confirmed high potential of EGFR mutations to predict good effect of the EGFR-TKI treatment. Genetic testing in patients with NSCLC should be a standard part of diagnostic procedures

Key words

NSCLC – EGFR gene – EGFR protein – protein kinase inhibitors – EGFR mutation – molecular targeted therapy

Východiska

Karcinom plic zaujímá přední místa v incidenci i mortalitě nádorových onemocnění, a to jak celosvětově, tak i v České republice. Nemalobuněčný karcinom plic (NSCLC) je nejčastějším histologickým typem, který představuje více než 80 % všech plicních karcinomů. Léčba pokročilých stadií NSCLC je velmi obtížná i přes nepochybně významné pokroky zaznamenané v posledních letech. K prodloužení přežití pacientů s pokročilým stadiem NSCLC významně přispívá zavedení molekulárně cílené léčby tyrozinkinázovými inhibitory, které blokují aktivaci kaskády receptoru pro epidermální růstový faktor (*epidermal growth factor receptor*, EGFR). Mechanismus účinku EGFR tyrozinkinázových inhibitorů (EGFR-TKI) spočívá v inhibici fosforylace tyrozinkinázové domény, která je lokalizována na intracelulární části receptoru. V léčbě NSCLC jsou běžně užívány dva EGFR-TKI, erlotinib (Tarceva®) a gefitinib (Iressa®). Význam mutací genu EGFR jako prediktoru dobré odpovědi na léčbu EGFR-TKI byl poprvé popsán autory Lynchem a Paezem v roce 2004 [1,2] a následně byl potvrzen řadou dalších prací, včetně velkých klinických studií [3–13]. Delece na 19. exonu a bodové mutace na 21. exonu (L858R) představují více než 90 % všech mutací genu EGFR a jsou standardně testovány [14]. Mutace genu EGFR se nachází cca u 10–15 % pacientů kavkazské popu-

lace, výskyt je nejvyšší u žen, nekuřáků a pacientů s adenokarcinomem [15–18]. Cílem předkládané práce bylo zmapovat incidenci mutací genu EGFR v naší populaci na relativně velkém souboru geneticky vyšetřených pacientů s pokročilým

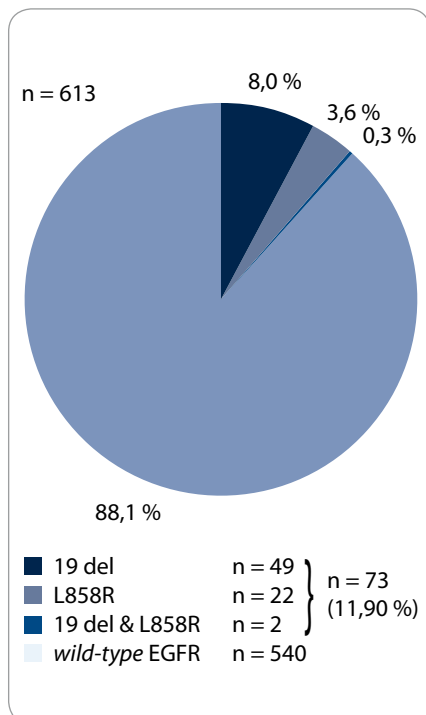
NSCLC a posoudit vliv těchto mutací na efekt léčby EGFR-TKI.

Soubor pacientů a metody

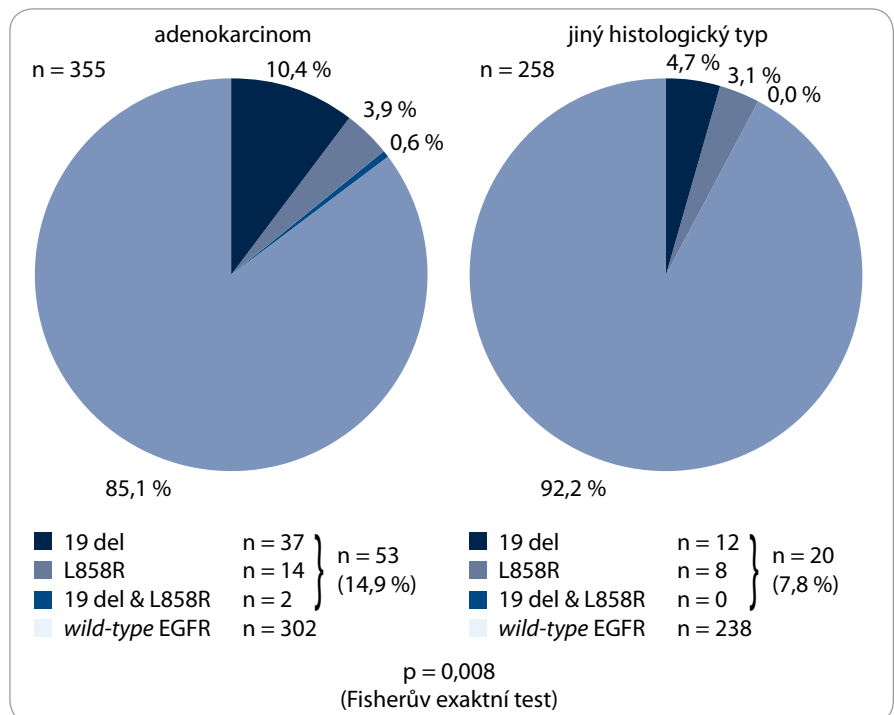
V letech 2002–2011 bylo provedeno genetické vyšetření na přítomnost mu-

Tab. 1. Charakteristika souborů pacientů geneticky vyšetřených a léčených EGFR-TKI.

	Vyšetření pacienti (n = 613)		Vyšetření, léčení EGFR-TKI (n = 410)	
pohlaví				
ženy	228	37,19 %	155	37,80 %
muži	385	62,81 %	255	62,20 %
věk				
medián	64		64	
průměr	63		63	
kouření				
nekuřák	127	20,72 %	85	20,73 %
kuřák, bývalý kuřák	453	73,90 %	308	75,12 %
neznámo	33	5,38 %	17	4,15 %
histologický typ				
adenokarcinom	355	57,91 %	227	55,37 %
skvamocelulární karcinom	198	32,30 %	147	35,85 %
špatně diferencovaný NSCLC	53	8,64 %	32	7,80 %
bronchioloalveolární karcinom (BAC)	7	1,15 %	4	0,98 %
EGFR-TKI léčba				
erlotinib (Tarceva®)			218	53,20 %
gefitinib (Iressa®)			191	46,60 %
erlotinib (Tarceva®), gefitinib (Iressa®) (změna pro intoleranci)			1	0,20 %



Graf 1. Výskyt mutací genu EGFR a jejich jednotlivých typů u pacientů s NSCLC.



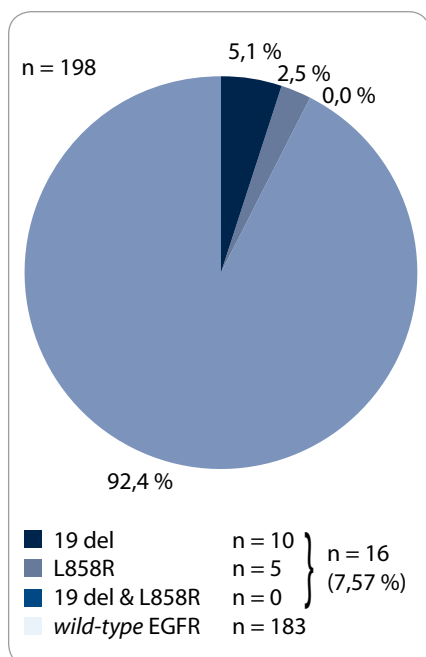
Graf 2. Výskyt mutací genu EGFR a jejich jednotlivých typů podle histologického typu NSCLC.

tace genu EGFR celkem u 613 pacientů s cytologicky nebo histologicky verifikovaným NSCLC. Jednalo se o pacienty s pokročilým stadiem NSCLC (stadium IIIB, IV). Souhrnná charakteristika

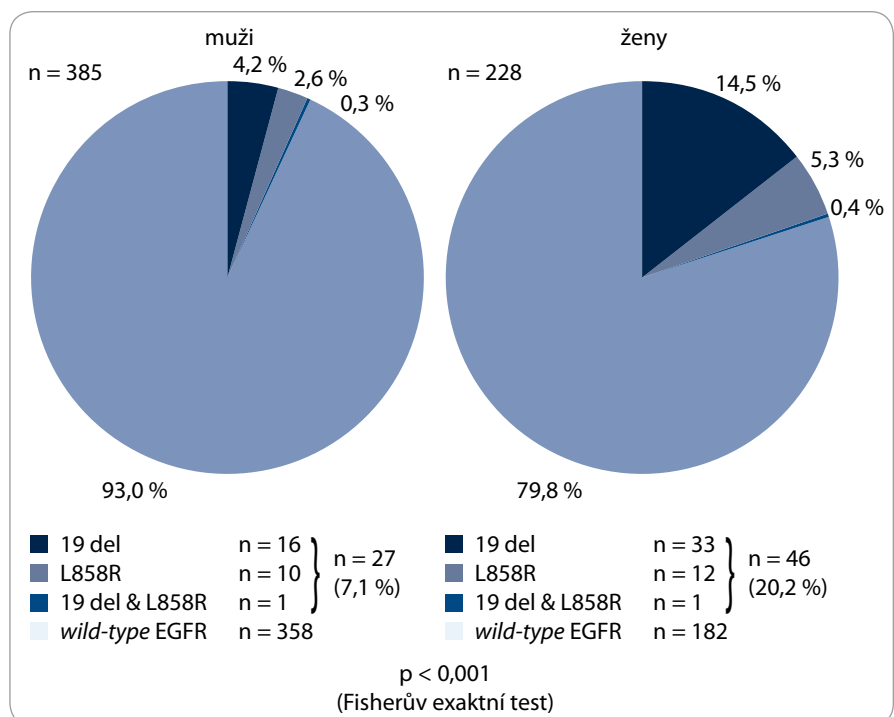
souboru vyšetřených pacientů je uvedena v tab. 1.

Vzorky tumorózní tkáně byly získávány v průběhu bronchoskopického vyšetření, případně jako resekáty. Vzorky byly proce-

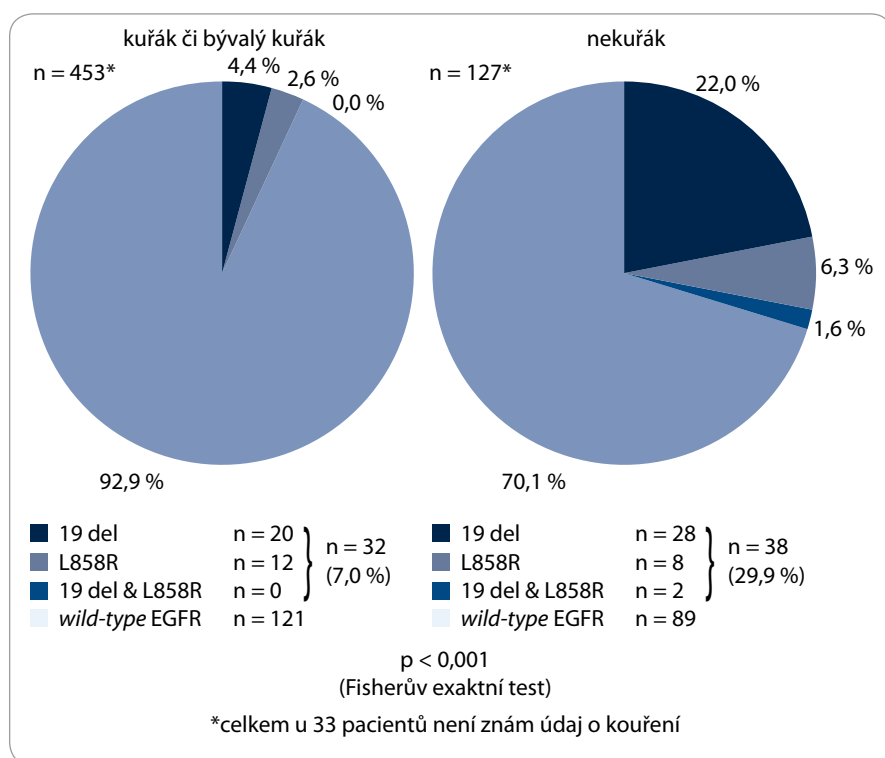
sovány buď jako cytologické nátěry, nebo formalínem fixované bločky. Oblasti nádorových buněk byly vždy viditelně označeny. U vzorků s nízkým poměrem nádorových buněk k buňkám nenádorovým



Graf 3. Výskyt mutací genu EGFR a jejich jednotlivých typů u pacientů se skvamocelulárním typem NSCLC.



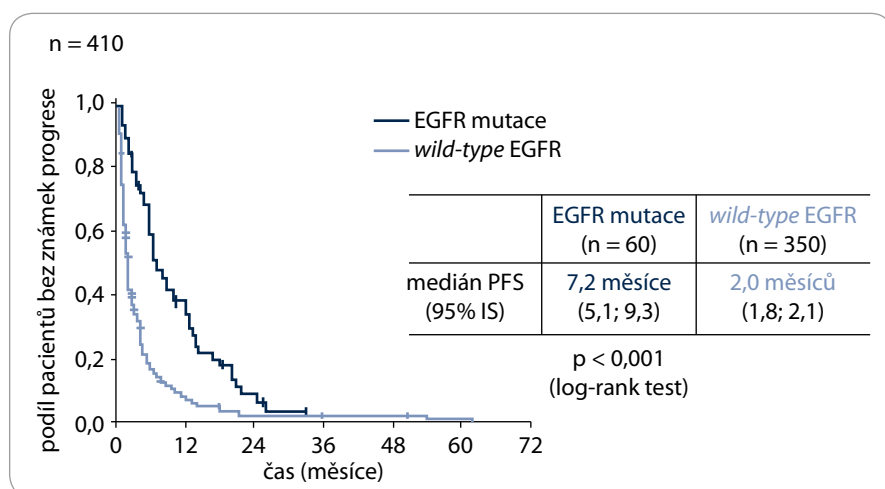
Graf 4. Výskyt mutací genu EGFR a jejich jednotlivých typů podle pohlaví.



Graf 5. Výskyt mutací genu EGFR a jejich jednotlivých typů podle kuřáctví.

byly nádorové buňky selektivně extrahovány metodou laserové mikrodisekce s použitím přístroje PALM Microlaser (Carl Zeiss Microimaging GmbH, Německo). Genomová DNA byla izolována pro mutační analýzu standardní kolonkovou metodou s použitím kitu JetQuick tissue kit (Genomed, G.m.b.H, Loehne, Německo). Přítomnost EGFR delecí v exonu 19 genu EGFR byla detekována pomocí fragmentační analýzy. Bodové mutace v exonu 21

genu EGFR byly analyzovány použitím vysoce citlivé metody denaturační kapilární elektroforézy. Tato metoda je založena na kapilárně-elektroforetické separaci heteroduplexů za podmínek jejich částečné denaturace. Fragmentační analýza a denaturační kapilární elektroforéza byly prováděny na 96-kapilárním sekvenátoru (MegaBACE 1000, GE Biosciences, New Jersey, USA) vybaveném robotickým podavačem vzorků Caddy 1000 (Watrex



Graf 6. Srovnání přežití bez známek progresse (PFS) mezi pacienty s mutací genu EGFR a pacienty s wild-type EGFR genem.

Praha, Praha, Česká republika) umožňujícím automatickým provozem analyzátoru.

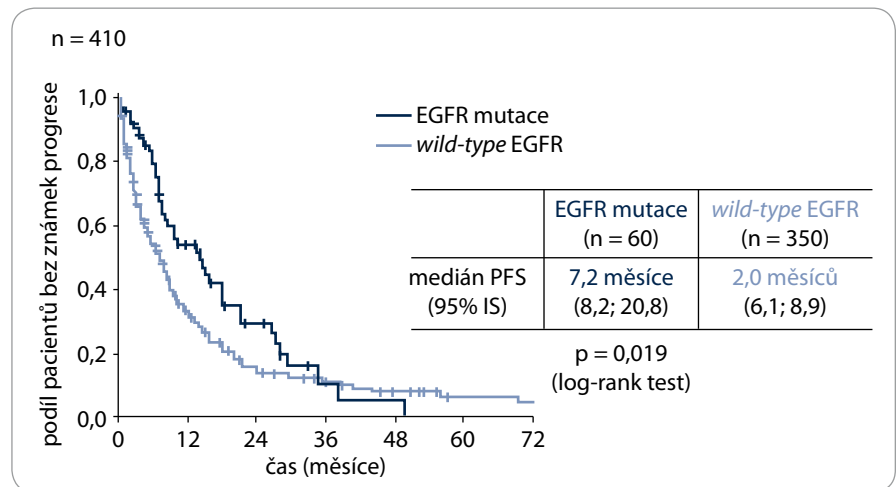
Při statistickém hodnocení incidence mutací ve vybraných skupinách pacientů byl užít Fischerův exaktní test. Z celkového počtu geneticky vyšetřených pacientů bylo celkem 433 pacientů léčeno EGFR-TKI (erlotinib nebo gefitinib, u 1 pacienta došlo ke změně preparátu z důvodu intolerance), z toho u 410 léčených pacientů byl v době analýzy dat hodnotitelný léčebný efekt. Souhrnná charakteristika souboru léčených pacientů je uvedena v tab. 1. Přežití pacientů bylo hodnoceno metodikou podle Kaplana-Meiera a srovnání přežití bylo provedeno log-rank testem.

Výsledky

Mutace genu EGFR byla prokázána celkem u 73 vyšetřených pacientů (11,9 %), 540 pacientů bylo nositeli wild-type EGFR genu. Delece na 19. exonu byla zjištěna u 49 pacientů (8,0 %), bodová mutace na 21. exonu (L858R) byla zjištěna u 22 pacientů (3,6 %), obě mutace byly zjištěny u 2 pacientů (0,3 %), viz graf 1. Ve skupině pacientů s prokázanou mutací genu EGFR bylo 53 pacientů s adenokarcinomem, 16 pacientů se skvamocelulárním karcinomem, 3 pacienti se špatně diferencovaným NSCLC a 1 pacient s bronchioloalveolárním karcinomem (BAC), 27 mužů, 46 žen, 32 pacientů s pozitivní kuřáckou anamnézou a 38 celoživotních nekuřáků. Mutace genu EGFR byla prokázána u 14,9 % pacientů s adenokarcinomem a u 7,8 % pacientů s jiným histologickým typem NSCLC (graf 2). Rozdíl ve výskytu EGFR mutací mezi adenokarcinomem a jinými histologickými typy NSCLC byl statisticky signifikantní ($p = 0,008$). EGFR mutace byla prokázána u 7,5 % pacientů se skvamocelulárním karcinomem (graf 3). EGFR mutace byla prokázána u 20,2 % žen a u 7,1 % mužů (graf 4). Rozdíl ve výskytu EGFR mutací mezi oběma pohlavími byl statisticky signifikantní ($p < 0,001$). EGFR mutace byla prokázána u 29,9 % nekuřáků a u 7,0 % pacientů s pozitivní kuřáckou anamnézou (graf 5). Rozdíl byl statisticky signifikantní ($p < 0,001$).

Medián přežití bez známek progresse (PFS) při léčbě EGFR-TKI u pacientů s mutací genu EGFR činil 7,2 měsíce

a u pacientů s *wild-type* EGFR genem činil 2,0 měsíce (graf 6). Rozdíl v PFS mezi oběma skupinami byl statisticky signifikantní ($p < 0,001$). Medián celkového přežití (OS) od zahájení léčby EGFR-TKI u pacientů s mutací genu EGFR činil 14,5 měsíce, u pacientů s *wild-type* EGFR genem činil 7,5 měsíce (graf 7). Rozdíl v OS mezi oběma skupinami byl statisticky signifikantní ($p = 0,019$). Následně byla provedena subanalýza přežití pacientů podle dvou nejčastějších histologických typů NSCLC (adenokarcinom a skvamocelulární karcinom). U pacientů s adenokarcinomem (včetně BAC), s mutací genu EGFR ($n = 43$) činil medián PFS 10,2 měsíce a medián OS 17,7 měsíce oproti pacientům s *wild-type* EGFR genem ($n = 188$), kde činil medián PFS 1,9 měsíce (graf 8A) a medián OS 7,5 měsíce (graf 9A); rozdíly v PFS ($p < 0,001$) i OS ($p = 0,010$) mezi oběma skupinami byly statisticky signifikantní. U pacientů se skvamocelulárním karcinomem s mutací genu EGFR ($n = 15$) činil medián PFS 4,7 měsíce a medián OS 6,8 měsíce oproti pacientům s *wild-type* EGFR genem ($n = 132$), kde činil



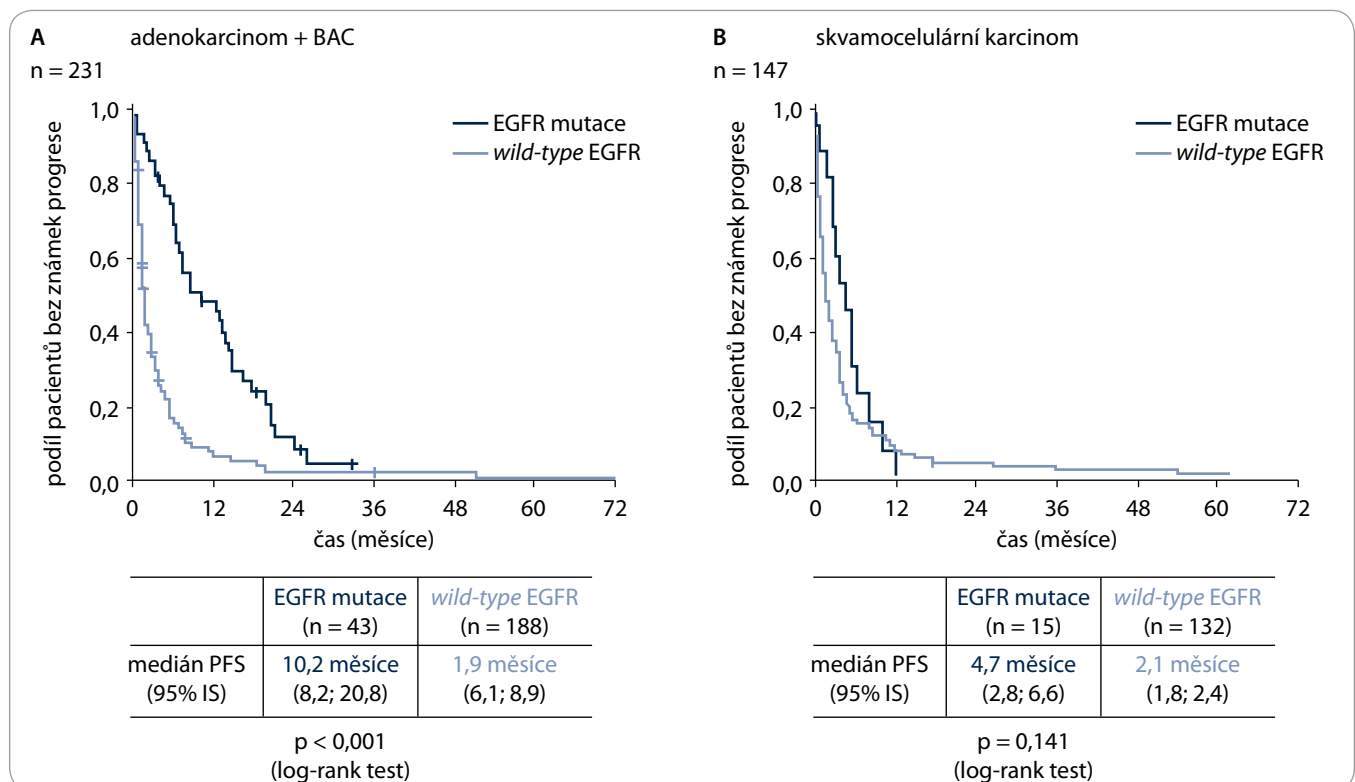
Graf 7. Srovnání celkového přežití (OS) od zahájení léčby EGFR-TKI mezi pacienty s mutací genu EGFR a pacienty s *wild-type* EGFR genem.

medián PFS 2,1 měsíce (graf 8B) a medián OS 7,8 měsíce (graf 9B); rozdíly v PFS ($p = 141$) ani OS ($p = 0,749$) mezi oběma skupinami nebyly statisticky signifikantní.

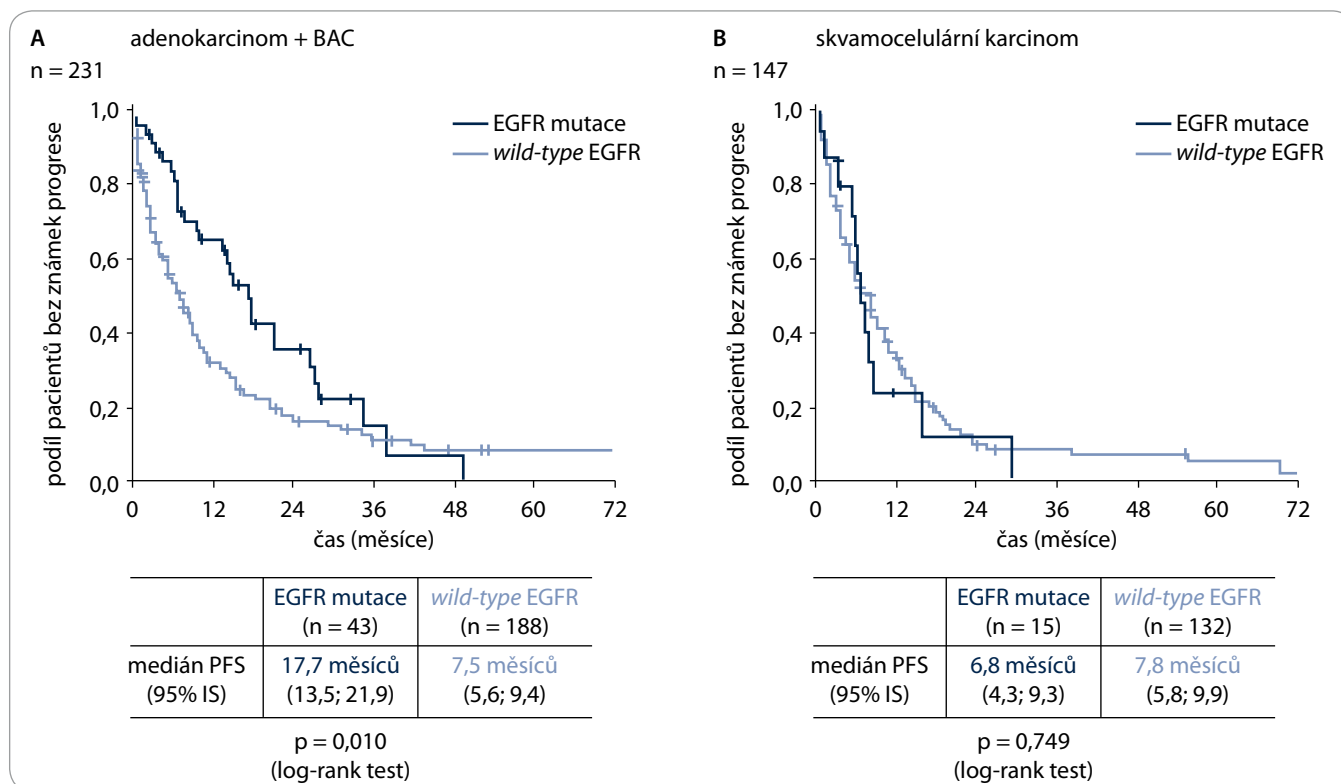
Diskuze

Mutace genu EGFR byla prokázána celkem u 11,9 % geneticky vyšetřených

pacientů. Mutace byly častěji zjištěny u pacientů s adenokarcinomem (14,9 % vs 7,8 %, $p = 0,008$), žen (20,2 % vs 7,1 %, $p < 0,001$) a nekuřáků (29,9 % vs 7,0 %, $p < 0,001$). Výsledky naší provedené studie ukazují častější výskyt mutací genu EGFR u pacientů se skvamocelulárním karcinomem (7,5 %), než je popisován v literatuře (cca 3,4 %) [19].



Graf 8. Srovnání PFS mezi pacienty s mutací genu EGFR a pacienty s *wild-type* EGFR genem podle dvou nejčastějších histologických typů NSCLC (A: adenokarcinom vs B: skvamocelulární karcinom).



Graf 9. Srovnání OS mezi pacienty s mutací genu EGFR a pacienty s *wild-type* EGFR genem podle dvou nejčastějších histologických typů NSCLC (A: adenokarcinom vs B: skvamocelulární karcinom).

Tento rozdíl je zřejmě částečně ovlivněn faktem, že u geneticky testovaných pacientů se skvamocelulárním karcinomem se nejednalo o zcela neselektovanou populaci a genetické vyšetření bylo preferenčně provedeno u žen, nekuřáků nebo pacientů s nižší kuřáckou zátěží. Na druhou stranu i s přihlédnutím k tomuto faktu je výskyt EGFR mutací u pacientů se skvamocelulárním karcinomem relativně vysoký. Velkých studií, které by se zabývaly výskytem mutací genu EGFR u pacientů se skvamocelulárním karcinomem na neselektované evropské populaci, je stále relativně málo. U pacientů nesoucích mutaci genu EGFR bylo dosaženo významně delšího PFS než u pacientů nesoucích *wild-type* EGFR gen (7,2 vs 2,0 měsíce, $p < 0,001$). U pacientů nesoucích EGFR mutaci bylo dosaženo i významně delšího OS (14,5 vs 7,5 měsíce, $p = 0,019$). Subanalýza přežití pacientů léčených EGFR-TKI zaměřená na význam histologického typu NSCLC ukázala, že pacienti s adenokarcinomem (včetně BAC), kteří jsou nositeli mutace genu EGFR, z léčby profitují

významně lépe než pacienti nesoucí *wild-type* EGFR genotyp (PFS: 10,2 vs 1,9 měsíce, $p < 0,001$; OS: 17,7 vs 7,5 měsíce, $p = 0,010$). Oproti tomu u pacientů se skvamocelulárním karcinomem, kteří jsou nositeli mutace genu EGFR, nebyl prokázán statisticky významně lepší efekt léčby EGFR-TKI ve srovnání s pacienty nesoucími *wild-type* EGFR genotyp (PFS: 4,7 vs 2,1 měsíce, $p < 0,141$; OS: 6,8 vs 7,8 měsíce, $p = 0,749$). Tyto výsledky tak zpochybňují prediktivní potenciál mutací genu EGFR u pacientů se skvamocelulárním karcinomem. Na podobné výsledky upozornili v minulosti Shukuya et al v publikované metaanalýze [20]. Jednoznačné vysvětlení pro toto zjištění v současné době neexistuje, ale jako možná hypotéza se nabízí alterace (mutace, amplifikace) genu PI3KCA kódujícího podjednotku PI3K proteinu, který je součástí kaskády startované aktivací EGFR [21], a mohou tak být důvodem rezistence k léčbě cílené na EGFR kaskádu [22]. Tyto genetické alterace se u epidermoidního karcinomu vyskytují výrazně častěji v porovnání s adenokarcinomem [21,23,24].

Závěr

Incidence mutací genu EGFR v naší populaci i jejich zvýšený výskyt u pacientů s adenokarcinomem, žen a nekuřáků dobře korelují s daty, která byla dosud publikována v literatuře. Vyšší incidence mutací genu EGFR u pacientů se skvamocelulárním karcinomem je zřejmě ovlivněna faktem, že se nejednalo o zcela neselektovanou populaci vyšetřených pacientů s tímto histologickým subtypem NSCLC. Analýza přežití pacientů při léčbě EGFR-TKI ukázala významně lepší profit z léčby EGFR-TKI u pacientů nesoucích aktivační mutace genu EGFR, zejména neskvamózního histologického typu NSCLC. U takto geneticky determinované skupiny pacientů s pokročilým NSCLC se volba molekulárně cílené léčby EGFR-TKI v první linii jeví jako jednoznačně nejlepší. Tyto výsledky rovněž korelují s daty publikovanými v literatuře. Genetické testování na přítomnost aktivační mutace genu EGFR je nezbytnou součástí diagnostiky NSCLC a jeho výsledky mají zásadní dopad na volbu optimální onkologické léčby.

Literatura

1. Lynch TJ, Bell DW, Sordella R et al. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med* 2004; 350(21): 2129–2139.
2. Paez JG, Jänne PA, Lee JC et al. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science* 2004; 304(5676): 1497–1500.
3. Gandhi J, Zhang J, Xie Y et al. Alterations in genes of the EGFR signaling pathway and their relationship to EGFR tyrosine kinase inhibitor sensitivity in lung cancer cell lines. *PLoS One* 2009; 4(2): e4576.
4. Minárik M, Benešová L, Belšánová B et al. Vliv mutací genů EGFR a KRAS na prognózu přežití u pacientů s nemalobuněčným karcinomem plic, léčených inhibitory tyrosin-kináz (srovnání výsledků léčby gefitinibem a erlotinibem). *Stud Pneumol Phtiseol* 2009; 69(3): 96–104.
5. Eberhard DA, Johnson BE, Amler LC et al. Mutations in the epidermal growth factor receptor and in KRAS are predictive and prognostic indicators in patients with non-small-cell lung cancer treated with chemotherapy alone and in combination with erlotinib. *J Clin Oncol* 2005; 23(25): 5900–5909.
6. Bonanno L, Schiavon M, Nardo G et al. Prognostic and predictive implications of EGFR mutations, EGFR copy number and KRAS mutations in advanced stage lung adenocarcinoma. *Anticancer Res* 2010; 30(12): 5121–5128.
7. Liu HP, Isaac Wu HD, Chang JW et al. Prognostic implications of epidermal growth factor receptor and KRAS gene mutations and epidermal growth factor receptor gene copy numbers in patients with surgically resectable non-small cell lung cancer in Taiwan. *J Thorac Oncol* 2010; 5(8): 1175–1184.
8. Zhu CQ, da Cunha Santos G, Ding K et al. Role of KRAS and EGFR as biomarkers of response to erlotinib in National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group Study BR.21. *J Clin Oncol* 2008; 26(26): 4268–4275.
9. Hirsch FR, Varella-Garcia M, Bunn PA Jr et al. Molecular predictors of outcome with gefitinib in a phase III placebo-controlled study in advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2006; 24(31): 5034–5042.
10. Douillard JY, Shepherd FA, Hirsh V et al. Molecular predictors of outcome with gefitinib and docetaxel in previously treated non-small-cell lung cancer: data from the randomized phase III INTEREST trial. *J Clin Oncol* 2010; 28(5): 744–752.
11. Cappuzzo F, Ciuleanu T, Stelmakh L et al. Erlotinib as maintenance treatment in advanced non-small-cell lung cancer: a multicentre, randomised, placebo-controlled phase 3 study. *Lancet Oncol* 2010; 11(6): 521–529.
12. Bruggen W, Triller N, Blasinska-Morawiec M et al. Biomarker analyses from the phase III placebo-controlled SATURN study of maintenance erlotinib following first-line chemotherapy for advanced NSCLC. *J Clin Oncol* 2009; 27 (Suppl): 15. Abstract 8020.
13. Pesek M, Benesova L, Belsanova B et al. Dominance of tyrosine-kinase therapy for NSCLC patients stratified by tumor subtype and smoking status. *Anticancer Res* 2009; 29(7): 2767–2773.
14. Gazdar AF. Activating and resistance mutations of EGFR in non-small-cell lung cancer: role in clinical response to EGFR tyrosine kinase inhibitors. *Oncogene* 2009; 28 (Suppl 1): S24–S31.
15. Zhang Z, Stiegler AL, Boggon TJ et al. EGFR-mutated lung cancer: a paradigm of molecular oncology. *Oncotarget* 2010; 1(7): 497–514.
16. Sequist LV, Bell DW, Lynch TJ et al. Molecular predictors of response to epidermal growth factor receptor antagonists in non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2007; 25(5): 587–595.
17. Gandara DR, Lara PN Jr, Mack P et al. Individualizing therapy for non-small-cell lung cancer: a paradigm shift from empiric to integrated decision-making. *Clin Lung Cancer* 2009; 10(3): 148–150.
18. West H, Lilenbaum R, Harpole D et al. Molecular analysis-based treatment strategies for the management of non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol* 2009; 4 (9 Suppl 2): S1029–S1039.
19. Forbes SA, Bhamra G, Bamford S et al. The Catalogue of Somatic Mutations in Cancer (COSMIC). *Curr Protoc Hum Genet* 2008; Chapter 10: Unit 10.11.
20. Shukuya T, Takahashi T, Kaira R et al. Efficacy of gefitinib for non-adenocarcinoma non-small-cell lung cancer patients harboring epidermal growth factor receptor mutations: a pooled analysis of published reports. *Cancer Sci* 2011; 102(5): 1032–1037.
21. Yamamoto H, Shigematsu H, Nomura M et al. PIK3CA mutations and copy number gains in human lung cancers. *Cancer Res* 2008; 68(17): 6913–6921.
22. De Roock W, Claes B, Bernasconi D et al. Effects of KRAS, BRAF, NRAS and PIK3CA mutations on the efficacy of cetuximab plus chemotherapy in chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer: a retrospective consortium analysis. *Lancet Oncol* 2010; 11(8): 753–762.
23. Kawano O, Sasaki H, Endo K et al. PIK3CA mutation status in Japanese lung cancer patients. *Lung Cancer* 2006; 54(2): 209–215.
24. Lee SY, Kim MJ, Jin G et al. Somatic mutations in epidermal growth factor receptor signaling pathway genes in non-small cell lung cancers. *J Thorac Oncol* 2010; 5(11): 1734–1740.

Projekt HARDROCK: parametrický sběr a analýza dat pacientů s nádory hlavy a krku na Klinice onkologické FN Ostrava – důraz na význam frakcionace a definice cílového objemu v radioterapii

HARDROCK Project: Parametric Data Collection and Analysis of Patients with Head and Neck Cancer in the Comprehensive Cancer Centre of Ostrava – Role of Fractionation and Target Volume Definition in Radiotherapy

Halámka M.¹, Feltl D.¹, Cvek J.¹, Dušek L.²

¹ Klinika onkologická, FN Ostrava

² Institut biostatistiky a analýz, Masarykova univerzita Brno

Souhrn

Východiska: Projekt HARDROCK je koncipován jako retrospektivní sběr klinických dat v lokálně provozovaném databázovém systému, který splňuje požadavky na základní verzi elektronické zdravotnické dokumentace onkologického pacienta. Diagnostická skupina nádorů ORL byla vybrána cíleně, neboť představuje velkou zátěž pro Onkologické centrum v Ostravě a její sledování je také aktuální s ohledem na poměrně vysokou incidenci a mortalitu v Moravskoslezském kraji. Cílovými parametry hodnocení jsou krátkodobé i dlouhodobé výsledky léčby pacientů s nádory hlavy a krku hodnocené standardními ukazateli dosažené léčebné odpovědi a přežití. Zvláštní důraz je kladen na hlavní léčebné modality, tedy chirurgii a radioterapii, a na komplikace, které jsou s nimi spojeny. **Soubor pacientů a metody:** V tomto článku prezentujeme malou část výsledků získaných z dat z registru HARDROCK. Data byla rozdělena do dvou skupin podle doby léčby pacientů: data získána od pacientů léčených v letech 2004–2005 a data z let 2006–2010. Toto rozdělení bylo dáno změnou organizace pracoviště a protokolů léčby. V roce 2006 bylo do standardních postupů zavedeno ozáření v akcelerozaném režimu s využitím konkomitantního boostu a dále byly do ozařovacího pole zahrnuty další oblasti lymfatických uzlin (zadní krční uzliny, nadklíčky). Oproti tomu před rokem 2006 byli pacienti ozařováni téměř výhradně v režimu normofrakcionace a hyperfrakcionace. **Výsledky:** Prezentujeme zde, že nové ozařovací techniky nezvyšují podíl časně toxicity, mírně zvyšují počet pacientů s pozdní toxicitou nízkého stupně. Důležitým zjištěním bylo, že u pacientů s onemocněním ve IV. stadiu léčených v letech 2006–2010 došlo ke snížení výskytu relapsů onemocnění a zlepšení celkového přežití. **Závěr:** Výsledky projektu metodicky přispívají k exaktnímu hodnocení diagnostiky a léčby pacientů s touto chorobou a napomohou optimalizaci léčebné péče.

Klíčová slova

nádory hlavy a krku – radioterapie – populační registr

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.



Ing. MUDr. Jakub Cvek, Ph.D.
Klinika onkologická
Fakultní nemocnice Ostrava
17. listopadu 1790
708 52 Ostrava-Poruba
e-mail: jakub.cvek@fno.cz

Obdrženo/Submitted: 18. 1. 2012
Přijato/Accepted: 10. 4. 2012

Summary

Background: The HARDROCK project has been designed as a retrospective data collection study in a locally run database system, which fulfils the requirements on the basic version of electronic medical records of cancer patients. The diagnostic category of head and neck tumors has been selected on purpose, as it presents a major problem in the Comprehensive Cancer Centre of Ostrava, and it is relevant given the high incidence and mortality in the Moravian-Silesian Region. The target parameters of the assessment include short-term as well as long-term treatment results in patients with head and neck tumors, evaluated with standard indicators of treatment response and survival. A special emphasis is put on major treatment modalities, i.e. surgery and radiation therapy, and on related complications. **Patients and Methods:** In this article, we present a sample of collected data. The data from patients has been separated into two groups based on the time of their acquisition: data from patients treated in 2004–2005 versus patients treated in 2006–2010. This division was given by the change of treatment protocols in 2006 introducing accelerated radiotherapy with concomitant boost and expanded lymph node irradiation field compared to normofractionation and hyperfractionation regimes used before 2006. **Results:** Introduction of new irradiation techniques did not increase the rate of acute toxicity but slightly increased late toxicity. Further, we found a decrease of number of relapse and improved overall survival in patients with stage IV disease treated in 2006–2010. **Conclusion:** The project results will contribute methodically to the exact evaluation of diagnostics and treatment of patients with head and neck cancer and will help to optimize their medical care.

Key words

head and neck cancer – radiotherapy – population register

Úvod

Zhoubné nádory otorinolaryngologické a stomatologické oblasti zahrnují malignity dutiny nosní, nazofaryngu, rtů, dutiny ústní, slinných žláz, nádory hltanu a hrtanu. V radioterapeutické terminologii se označují jako tzv. HaN nádory („nádory hlavy a krku“).

Vznik dlaždicobuněčných nádorů HaN je tzv. multifaktoriální. V Evropě a Severní Americe je často nacházena souvislost s chronickým drážděním sliznic při abúzu alkoholu a s kouřením tabákových výrobků. Riziko se zvyšuje při současné kombinaci těchto dvou faktorů – předpokladem je snížená detoxikační schopnost jater a lepší vstřebávání karcinogenů tabákových derivátů v alkoholu [1,2].

Asi u 25–50 % tumorů HaN (nejčastěji těch, které zahrnují postižení tonzile, orofaryngu a dutiny ústní) se při vyšetření biotických vzorků nacházejí onkogenní varianty HPV (human papilloma virus), které se integrují do buněčného genetického materiálu a spouštějí mutace v buněčném genomu. Jedná se o papilomaviry HPV 2, HPV 11 a nejvýznamněji HPV 16 [2–4]. Výskyt dlaždicobuněčných karcinomů v souvislosti s infekcí HPV je častější u mladších skupin pacientů (v průměru o 3–4 roky oproti pacientům bez positivity HPV), dále u bělošské populace – u této skupiny pacientů jsou pozorovány pokročilejší lokoregionální nálezy [5].

Dalšími faktory přispívajícími k výskytu tumorů jsou chronické mechanické dráždění v dutině ústní například špatně nasedajícími zubními náhradami, poškozenými zuby či iritací chronickými infekcemi [2]. Nespecificky se na vzniku nádorů podílí imunodeficeience, avitaminózy a malnutrice, které jsou vzhledem ke stravovacím návykům a abúzu u této skupiny pacientů časté [1].

Data zaznamenávající výskyt nádorů v České republice jsou velmi dobře dokumentována díky Národnímu onkologickému registru a dále zveřejňována v publikacích Ústavu zdravotnických informací a statistiky [6]. Systematický sběr dat dovoluje mít přehled o incidenci a mortalitě nádorů. Incidence (výskyt) všech novotvarů v České republice meziročně mírně stoupá, naopak mortalita (úmrtí) meziročně klesá. Příčiny stoupající incidence v ČR nejsou zcela objasněny. Jednou z příčin je genofond populace a neoptimální životní styl zahrnující nevhodné dietní, pohybové či jiné návyky, dále profesionální expozice rizikům. Dalším faktorem, který sice nezvyšuje incidenci nádorů sensu stricto, nicméně projevuje se takto statisticky, je výrazně zlepšená diagnostika, která detekuje větší množství nádorových onemocnění, která by v minulosti vůbec diagnostikována nebyla. Klesající mortalita je dána několika faktory. Jedním z hlavních faktorů je časná detekce nepokročilých stadií onemocnění (tzv. časných) především díky osvětě a screeningovým

programům. Právě díky zlepšujícímu se odhalování nádorů je možné nasazení účinné onkologické terapie již v léčbě časných stadií onemocnění. Dalším faktorem příznivě ovlivňujícím mortalitu je výrazně se zlepšující onkologická terapie díky výraznému rozvoji všech jejích modalit a zlepšující se podpůrné léčbě.

Léčba nádorů hlavy a krku se odvíjí od stadia pokročilosti onemocnění v době stanovení diagnózy. Právě stadium onemocnění, resekabilita či neresekabilita tumoru, uzlinové postižení a celkový stav pacienta předurčují léčebnou strategii. Často se jedná o multimodální terapii, s individuálním načasováním jednotlivých léčebných modalit. Každého pacienta je nutno posuzovat individuálně v rámci mezioborové spolupráce a doporučit individuální postup, který vychází nejen z určení stadia onemocnění dle TNM (tumour-node-metastasis) klasifikace, z celkového stavu pacienta (KI, WHO PS), z národních či mezinárodních doporučených postupů, ale v neposlední řadě i z preference pacienta.

Onemocnění ve stadiu I a II jsou lokalizovaná a ohraničená daným orgánem či anatomickou oblastí (tzv. časná stadia). Velmi obecně lze říci, že terapií 1. volby v těchto případech bývá léčba chirurgická, která je u těchto stadií onemocnění řešením radikálním. V některých případech operace zajišťující dostatečnou radikalitu může působit zbytečnou mutilaci či ztrátu funkce orgánu/funkční oblasti. Často lze volit i radioterapii ja-

kožto léčbu 1. volby a v těchto stádiích onemocnění mohou obě tyto modality terapie zajistit rovnocenné výsledky léčby [2,7].

U pokročilých stádií onemocnění, stadia III nebo IV, je situace složitější. Zde stomatochirurgové a otorinolaryngologové musejí rozhodnout, zda a za jakých okolností je u daného pacienta možná resekce tumoru, spádových lymfatických uzlin a bezpečnostních lemů okolních tkání. Kritéria resekability nejsou arbitrárně stanovena a jsou závislá nejen na rozsahu onemocnění u daného pacienta, jeho perioperačních zdravotních rizicích, ale také na zkušenostech daného centra, schopnostech operátorů a technickém zázemí pracoviště [7]. Koncept, kdy u resekabilních onemocnění byla vždy prováděna chirurgická resekce s následným pooperačním ozářením, je postupně opouštěn. Čím dále častěji je i u pokročilých stádií onemocnění zařazována předoperační radioterapie či primárně kurativní radioterapie s ponecháním operace jako záchranného výkonu při selhání léčby (tzv. salvage). V různých anatomických lokalizacích je zkoumán přínos toho či onoho přístupu a jsou identifikovány rizikové a prognostické faktory, které by mohly posloužit jako vodítko při rozhodování o strategii léčby [2]. Tam, kde je onemocnění primárně hodnoceno jako neresekabilní, je základem léčby radioterapie. Ke zlepšení výsledků terapie je při kurativním záměru léčby zařazována potenciační chemoterapie, recentně na základě studia nitro-buněčných drah také tzv. biologická terapie [8,9] nebo alternativní (optimalizovaná) schémata radioterapie – akcelerace, hyperfrakcionace [10–12].

Využití hyperfrakcionované radioterapie při ozařování nádorů HaN je založeno na radiobiologických propočtech dle lineární kvadratického modelu (LQ). Hyperfrakcionace dovoluje ozáření cílového objemu vysokou dávkou záření bez navýšení pozdní toxicity okolních zdravých tkání. Např. 6týdenní režim konkomitantní radioterapie využívá faktoru navýšení dávky na den a časového faktoru akcelerace. Parametry výpočtu jsou: celková dávka 72 Gray v 6 týdnech, jednotlivé frakce $30 \times 1,8$ Gy a současně $12 \times 1,5$ Gy v posledních 2,5 týdnech ra-

dioterapie, tj. 54 Gy dopolední dávky, 18 Gy odpolední dávky, α/β poměr pro nádory hlavy a krku = 10, α/β poměr pro pozdní následky na podkoží = 2, faktor zkrácení radioterapie o 1 den ozařování = 0,8 Gy. Po výpočtu dle LQ modelu dojde oproti normofrakcionaci k navýšení dávky na ozařovaný tumor o 4,53 Gy, zatímco pokud se týče pozdních následků radioterapie na zdravé tkáni, je vypočítán pokles dávky o 2 Gy. Podrobné výpočty i tabulky parametrů k výpočtu jsou prezentovány v příručce radiobiologie [13]. Retrospektivní klinická srovnání prokázala, že hyperfrakcionovaná akcelero- vaná radioterapie poskytuje zlepšení lokoregionální kontroly ve srovnání s normofrakcionací [10]. Obdobné výsledky přinesla i meta-analýza zaměřená na celkové přežití zahrnující různá hyperfrakcionační a akcelerační schémata [11].

Nádory HaN mají v Moravskoslezském kraji oproti jiným regionům ČR vysokou incidenci i mortalitu. Na Klinice onkologické Fakultní nemocnice Ostrava byl proto proveden parametrický sběr dat k identifikaci prognostických faktorů, rizik, léčebných postupů a léčebných výsledků (registr HARDROCK – HEAD AND NECK CANCER: ASSESMENT OF RISK FACTORS, STAGE DISTRIBUTION, RADIOTHERAPY OPTIMIZATION, CAUSES OF RELAPSE – KEYPOINTS). Cílovými parametry hodnocení byly krátkodobé i dlouhodobé výsledky léčby pacientů s nádory HaN hodnocené standardními ukazateli dosažené léčebné odpovědi a přežití. Zvláštní důraz v hodnocení sebraných dat byl kladen na hlavní léčebné modality, chirurgii a radioterapii, na techniky iradiace a dále na komplikace, které jsou s nimi spojeny. Prezentace projektu je veřejně přístupná na stránkách <http://hardrock.registry.cz> [14].

Soubor pacientů registru HARDROCK

Sběr dat byl proveden retrospektivně z období od 10/2004–06/2010, celkem bylo hodnoceno 774 pacientů. U 4 pacientů nebylo možno zpětně dohledat základní údaje, a tito 4 pacienti nebyli tedy do prezentovaných analýz zahrnuti. Ročně bylo ve spádovém regionu FN Os-

trava 148 až 167 pacientů s nádory hlavy a krku. V roce 2006 došlo ke změně organizace pracoviště Kliniky onkologické Fakultní nemocnice v Ostravě, byly zavedeny nové metodiky léčby a sledování pacientů, a proto veškeré analýzy a srovnávání byly rozděleny do dvou skupin:

- období 10/2004–12/2005 (163 pacientů),
- období 01/2006–06/2010 (611 pacientů).

Výsledky analýz parametrických dat byly tedy prováděny v rámci těchto 2 skupin a následně byly výstupy srovnávány.

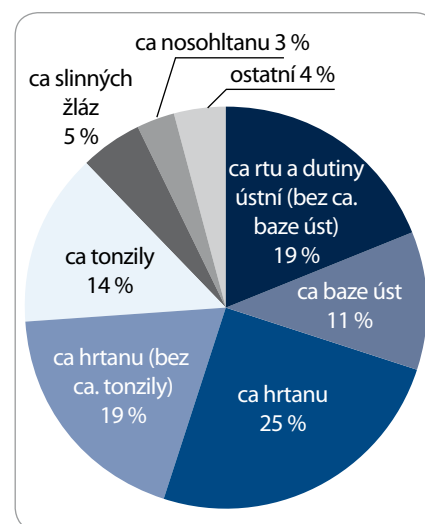
Demografie pacientů

Mezi pacienty je výrazně vyšší zastoupení mužů (80,6 %) než žen (19,4 %). Střední věk mužů při diagnóze je 58 let, žen 62 let.

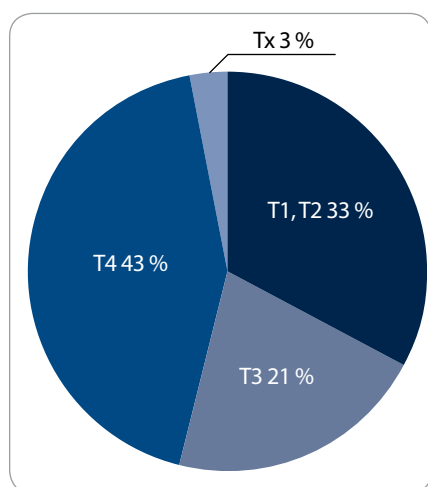
Anatomická distribuce malignit

K nejčastějším diagnózám patřily novotvary rtu a dutiny ústní – 30 % (z toho ústní spodiny – 10,9 %), hrtanu – 24,5 %, hltanu – 33,5 % (z toho tonzily 14,1 %). K minoritním nádorům patřily nádory slinných žláz – 4,7 %, nádory nosohltanu – 2,8 %, nádory dutiny nosní a paranazálních dutin – 2,1 %. U 2,5 % se jednalo o sekundární či neurčené zhoubné nádory (graf 1).

Zastoupení žen u nádorů rtu a dutiny ústní bylo 25 %, u nádorů hltanu 18 %



Graf 1. Procentuální rozložení anatomické lokalizace tumoru HaN.

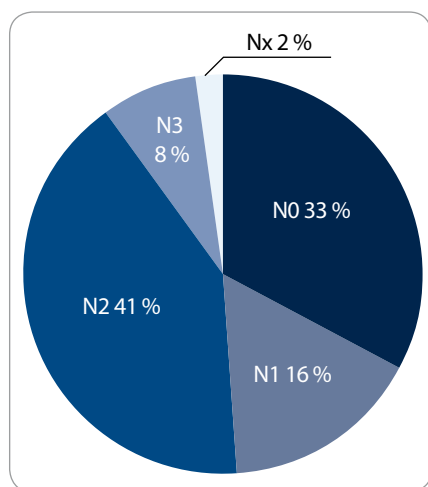


Graf 2. Procentuální rozložení výskytu stadia lokální pokročilosti nádoru (T).

a u nádorů hrtanu 8 %. Podíl žen u nádorů hrtanu je ve srovnání s oběma dalšími početnými skupinami statisticky významně nižší (Fisher exact test, $p < 0,05$).

TNM, stadium

V době zjištění malignity byla většina tumorů v lokálně pokročilém stadiu, 43 % tumorů bylo ve stadiu hodnoceném jako T4, 21 % jako T3, pouze 33 % nádorů bylo lokálně nepokročilých – T1 či T2 (graf 2) (u 4 % nálezů nebyl rozsah tumoru definován). Podíl pokročilých a nepokročilých stadií lokálního nálezu tumoru u jednotlivých anatomických lokalit se samozřejmě lišil, např. u nádorů dásní, spodiny ústní, orofaryngu či hypofaryngu přesáhl počet T4 onemocnění



Graf 3. Procentuální rozložení výskytu stadia regionálního uzlinového postižení (N).

60 %, u nádorů rtů většina onemocnění byla ve stadiu T1 či T2.

Analýza byla provedena i ve vztahu k postižení regionálních lymfatických uzlin (graf 3). U 33 % nádorů hlavy a krku nebyly zaznamenány lokální metastázy do mizních uzlin (N0). U některých diagnóz, jako karcinom hrtanu, paranazálních dutin či slinných žláz, byl podíl N0 až 50 i více procent. Celkově v našem souboru pacientů s nádory hlavy a krku 16 % pacientů mělo uzlinové postižení v rozsahu N1, 41 % pacientů v rozsahu N2 a 8 % v rozsahu N3.

Je obecně známo, že nádory hlavy a krku zakládají vzdálené metastázy pozdně. Analýza z registru HARDROCK ukázala, že v celém souboru pacientů je výskyt metastáz v době diagnózy kolem 5 %. Toto platí pro nádory rtů, hltanu, nosohltanu, hrtanu. U nádorů slinných žláz a dutiny nosní a paranazálních dutin bylo toto procento vyšší.

Ve stadiu IV je diagnostikována většina nádorů hlavy a krku (63 %). Podíl prognosticky výrazně příznivějších stadií I a II činil jen 17 %, lokálně pokročilých nádorů ve stadiu III bylo diagnostikováno také 17 %. Rozložení stadií onemocnění v populaci mužů či žen se neliší. Vzhledem k primárnímu účelu registru (srovnávání úspěšnosti různých léčebných postupů) nás zajímalo, zda skladba pacientů před rokem 2005 a po roce 2005 byla jiná. Ukázalo se, že co se týče stadií onemocnění, byly tyto soubory srovnatelné.

Klinický stav pacientů

Klinický stav pacientů a především jejich výživový status je jedním z faktorů ovlivňujících toleranci léčby a tímto i prognózu pacientů. Do parametrického sledování jsme zahrnuli parametr KI (Karnofsky performance status index), BMI (body mass index) a váhový pokles o více než 10 % v posledním půlroce před stanovením diagnózy. Zjistili jsme, že 35 % pacientů s nádorem hlavy a krku mělo před zahájením léčby KI 90 a více procent (jsou tedy samostatně aktivní), ve stavu vyžadujícím cizí pomoc (KI 60–50 %) bylo 8 % pacientů. 26 % pacientů s nádory hlavy a krku zaznamenalo před zahájením léčby významný váhový úbytek. Mezi ženami a muži

nebyl v těchto kategoriích statisticky významný rozdíl. Zajímavým zjištěním však bylo, že mezi pacienty diagnostikovanými v letech 2004–2005 a pacienty z let 2006–2010 byl statisticky významný rozdíl v kategoriích KI i váhového úbytku. Podíl pacientů s hodnotami KI 90 a více procent v letech před 2005 a po tomto roce je 23 % oproti 39 %. Stejně tak podíl pacientů s váhovým úbytkem 10 a více procent při stejném časovém rozložení je 33 % u pacientů z let 2004–2005 oproti 24 % u pacientů z let 2006–2010. Z uvedeného vyplývá, že pacienti z let 2004–2005 byli před léčbou celkově v horším stavu než pacienti z let 2006–2010. Střední hodnota BMI pacientů s nádory hlavy a krku je 23,4 kg/m². Mezi jednotlivými skupinami diagnóz je statisticky významný rozdíl, nejvyšší hodnoty byly zjištěny u pacientů s nádorem nosohltanu a slinných žláz, nejnižší pak u nádorů rtu a dutiny ústní. Mezi ženami a muži opět nebyl nalezen statisticky významný rozdíl. A stejně tak jako u KI je i u BMI významně vyšší statisticky významný rozdíl u pacientů z let 2006–2010 (Mann-Whitney test, $p = 0,027$).

Rizikové faktory

Samozřejmě že ve sběru dat a jejich analýze jsme se pokusili identifikovat rizikové faktory vzniku onemocnění. Většina pacientů s nádorem hlavy a krku byla aktivními nebo bývalými kuřáky, celkem 85 %. Zastoupení aktivních nebo bývalých kuřáků se statisticky nelišilo mezi obdobími stanovení diagnózy, nicméně podíl aktivních kuřáků byl v období 2006–2010 lehce nižší (64 % proti 67 %). U žen bylo oproti mužům statisticky významně nižší zastoupení aktivních nebo bývalých kuřáků, 66 % u žen oproti 89 % u mužů. U hlavních diagnostických skupin nádorů (nádory rtů, dutiny ústní, hltanu, hrtanu) bylo zastoupení aktivních a bývalých kuřáků 85–89 %. U méně četných diagnóz (nádory nosohltanu, nosních a paranazálních dutin a slinných žláz) byl podíl kuřáků výrazně nižší, 33–56 %.

V projektu HARDROCK byla konzumace alkoholu sledována v relaci na stav v době stanovení diagnózy (současný konzument, dřívější konzumace, abstinence), v případě konzumace alkoholu

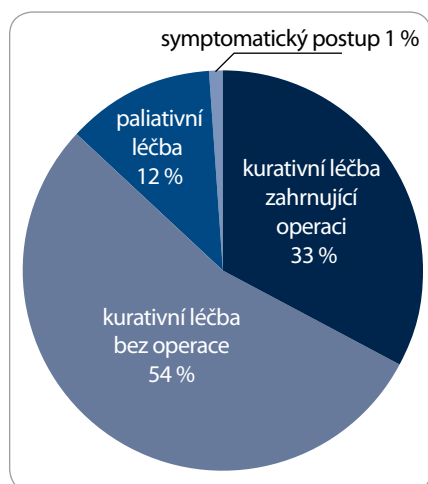
nyní nebo dříve byla dále sledována míra konzumace. Bylo zjištěno, že mezi pacienty s nádorem hlavy a krku bylo 37 % pravidelných nebo závislých konzumentů alkoholu. Zastoupení pravidelných nebo závislých konzumentů bylo významně vyšší u pacientů diagnostikovaných v letech 2004–2005 (52 %) ve srovnání s pacienty z let 2006–2010 (33 %). U mužů bylo zastoupení pravidelných nebo závislých konzumentů významně vyšší než u žen (42 % vs 15 %).

Terapie

Z celkového počtu 774 pacientů bylo indikováno k potenciálně kurativní léčbě 669 z nich (86,4 %), z toho 250 k operativní a 419 k neoperativní – radioterapii či radioterapii s další léčebnou modalitou. 95 pacientů (12,3 %) bylo léčeno paliativně a 10 (1,3 %) symptomaticky (graf 4).

Z pacientů indikovaných ke kurativní léčbě 3 % podstupují pouze operaci, 25 % je operováno s následnou adjuvantní radioterapií a 5 % operováno s další radioterapií s chemoterapií. Samostatnou radioterapii podstupuje 41 % pacientů, 11 % pacientů je léčeno radioterapií a chemoterapií.

Zastoupení klinických stadií onemocnění bylo rozdílné u jednotlivých typů použité léčby. U kurativně léčených pacientů byl zaznamenán největší podíl stadia IV mezi pacienty léčenými pouze radioterapií, radioterapií s chemoterapií či operací v kombinaci s radioterapií a chemoterapií (64–82 %). U pacientů



Graf 4. Procentuální rozložení využitých léčebných strategií.

Tab. 1. Strategie radioterapie v letech 2006–2010.

	Kurativní léčba		Paliativní léčba	
	3D	IMRT	3D	IMRT
CB5w	9,80 %	9,00 %		
CB6w	8,10 %	5,90 %		
HF	1,70 %			
NF	40,30 %	12,60 %	12,40 %	0,20 %

CB5w – režim pětitydenního konkomitantního boostu (67,5 Gray/40 frakcí – fáze 1: 45 Gray/25 frakcí/5 týdnů a fáze 2: 22,5 Gray/15 frakcí/3 týdny)

CB6w – režim šestitýdenního konkomitantního boostu (72 Gray/42 frakcí – fáze 1: 54 Gray/30 frakcí/6 týdnů a fáze 2: 18 Gray/12 frakcí/2,5 týdne)

HF – hyperfrakcionační režimy (různé režimy s více než 1 frakcí denně každý den, redukce dávky na každou frakci)

NF – normofrakcionace (10 Gray/5 frakcí/1 týden)

3D – technika plánování radioterapie s využitím trojrozměrného plánování

IMRT – léčba zářením s modulovanou intenzitou záření

s operací a radioterapií byl podíl IV. stadií 46 %, u pouze operovaných jen 8 %. Zajímavé je, že podíl jednotlivých modalit léčby byl rozdílný v různých časových obdobích. V období 2004–2005 bylo 39 % pacientů léčeno operativně, v období 2006–2010 to bylo jen 32 %. Pouze radioterapii s chemoterapií podstupovala v letech 2004–2005 2 % pacientů, v letech 2006–2010 pak 14 %.

Operační léčba

Operativní léčba byla uplatňována především u nádorů rtu a dutiny ústní (ve 43 %) a u nádorů slinných žláz (v 59 %). U nádorů hltanu, hrtanu a nosních a paranasálních dutin bylo operováno 23–50 % pacientů, u nádorů nosohltanu pouze 5 %. Celkově byla u stadií onemocnění I–III aplikována operativní léčba samozřejmě častěji než u stadia IV (47 % proti 25 %). Naopak u stadia IV byla pak ve srovnání se stadii I–III častěji používána nekurativní léčba a chemoterapie.

U nádorů hlavy a krku celkově byl podíl operací nejvyšší u stadia II, a to ve 49 %. Počet operací klesal s rostoucím stadiem onemocnění, u stadia III to bylo 47 %, u stadia IV jen 26 %. Výjimkou jsou nádory hrtanu, kde podíl operací naopak roste s rostoucím stadiem, stadium I – 2 %, stadium II – 5 %, stadium III – 14 % a 22 % u stadia IV.

Ze 774 pacientů v registru HARDROCK bylo 32,3 % primárně operováno. Z této skupiny pacientů u méně než 10 %

z nich byla operace definitivním řešením, více než 90 % pacientů podstoupilo dále adjuvantní radioterapii či radioterapii a chemoterapii.

Radioterapie

Celkem je radioterapií léčeno 96 % pacientů, z toho 12 % paliativně (tab. 1).

Režim frakcionace záření: V období 2004–2005 byla používána pouze 3D technika radioterapie. V období 2004–2005 byly u radioterapie využívány pouze strategie normofrakcionace (NF) a hyperfrakcionace (HF). Technika konkomitantního boostu v pěti týdnech (CB5w) a šesti týdnech (CB6w) byla používána až v letech 2006–2010. Technika IMRT byla zavedena až v letech 2006–2010.

Celkem bylo v registru HARDROCK zaznamenáno 559 pacientů léčených radioterapií s kurativním záměrem. V letech 2004–2005 bylo léčeno 138 pacientů a byli léčeni v normofrakcionačním či hyperfrakcionačním režimu. Od roku 2006 do 2010 bylo do registru vloženo 507 pacientů. Zde již 37,5 % pacientů bylo ozařováno v režimu 5- či 6týdenního konkomitantního boostu.

Ozařovací objemy: V období 2004–2005 byly používány téměř výhradně objemy záření před míchu. Zadní krční lymfatické uzliny s ozařením nebo bez ozaření nadklíčkových jamek byly do ozařovacího pole zahrnuty až v letech 2006–2010, a to až v 75 % (NB: z toho v 9 % bez nadklíčků).

Dávka záření: U většiny kurativně léčených pacientů (62 %) byla aplikována celková střední dávka záření 66–75 Gy. Pacienti s nízkou dávkou záření do 65 Gy tvořili 25 % z kurativně léčených radio-terapií a pacienti s vysokou dávkou nad 75 Gy pak 13 %. V období 2004–2005 bylo nejčastěji dosaženo celkovou dávkou záření 76–81 Gy, v období 2006–2010 pak dávka 66–75 Gy.

Dodržení léčebného plánu bylo srovnatelné u obou období (u 75–76 % zcela dodrženo).

Výsledky terapie nádorů HaN

Toxicita léčby

Toxicita byla a nadále je na Klinice onkologické Fakultní nemocnice Ostrava hodnocena dle RTOG (Radiation Therapy Oncology Group) kritérií [15]. Akutní toxicitou při léčbě nádorů hlavy a krku radio-terapií jsou nejčastěji postiženy kůže, sliznice dutiny ústní a hltanu, slinné žlázy, hltan a jícen. Do registru HARDROCK byla zanesena nejvyšší toxicita bez ohledu na postiženou lokalizaci (tab. 2). Nejčastější byl výskyt akutní toxicity dle RTOG 1. stupně (42 %) či 2. stupně (37 %). Například co se týče dermatitidy a mukositivity, závažná akutní toxicita 3. či 4. stupně se vyskytla u 5 %, resp. 35 % pacientů. Výskyt toxicity 4. stupně byl velmi vzácný a jednalo se výhradně o přechodné neu-

tropenie, které se vyskytovaly u pacientů léčených chemoterapií.

Pozdní toxicitou při léčbě nádorů hlavy a krku radio-terapií byla nejčastěji postižena kůže, podkoží, sliznice, hrtan a slinné žlázy (tab. 3). Většina pacientů měla mírné potíže stupně 1 či 2. 6 % pacientů nemělo vůbec žádné projevy pozdní toxicity, naopak 1 % pacientů mělo známky pozdní toxicity 3. stupně, většinou se jednalo o postižení hrtanu.

Při srovnání toxicity léčby v období 2004–2005 a 2006–2010 signifikantní rozdíl zjištěn nebyl. U pozdní toxicity je situace jiná. Pozdní toxicita léčby radio-terapií byla v období 2004–2005 nižší než v období 2006–2010 (21 % vs 47 %).

Výsledky léčby

V celém souboru všech pacientů kompletní remise dosáhlo celkem 60 % pacientů, parciální remise dalších 23 %. Nejlepších výsledků dosáhli operovaní pacienti, u nichž byl podíl kompletních remisí 88–92 %. Pacienti léčení radio-terapií (případně s konkomitantní nebo adjuvantní chemoterapií) dosáhli 52–57 % kompletních remisí a 32–35 % parciálních remisí.

Pacienti léčení primárně s kurativním záměrem dosáhli po léčbě kompletní remise v 68 % a parciální remise ve 21 %. Samozřejmě počet dosažených kom-

pletních remisí po kurativně míněné léčbě byl závislý na stadiu onemocnění, v I. a II. stadiu onemocnění bylo dosaženo kompletní remise u více než 90 % pacientů, ve stadiu III již jen u 80 % pacientů a ve stadiu IV u 55 % pacientů.

Dosažené odpovědi na léčbu u kurativně léčených pacientů byly srovnatelné v obou sledovaných obdobích, tj. 2004–2005 a 2006–2010, mezi muži a ženami taktéž nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl. Mohlo by se zdát, že zavedení nových postupů v terapii nepřineslo žádný léčebný benefit, nicméně podrobnější analýzy a delší sledování pacientů odhalily důležité informace.

Co se týče počtů relapsů a progresí onemocnění, ukázalo se, že v období 2004–2005 byl podíl progresí a relapsů vyšší o 11 % než v období 2006–2010 (38 % vs 27 %). Tento rozdíl se v terapeutickém efektu projevil především u pacientů léčených pouze radio-terapií (54 % v letech 2004–2005 oproti 31 % v letech 2006–2010). Největší počet relapsů byl zaznamenán u nádorů ve stadiu IV – 26 % u nádorů hltanu, 42 % u nádorů hrtanu a 49 % u nádorů rtu a dutiny ústní. Jak bylo zmíněno výše, právě v období 2006–2010 došlo ke změně v plánování radio-terapeutických objemů a technik, do ozařovacích objemů byly zahrnuty nadklíčkové a zadní krční lymfatické uzliny a množství pacientů bylo léčeno v akcelerovaných režimech s konkomitantním boostem.

Celkové přežití

Podíl zemřelých ve sledovaném souboru všech pacientů byl 42 %. Podíl úmrtí mezi pacienty diagnostikovanými v období 2004–2005 byl 59 %, mezi pacienty z let 2006–2010 pak 38 %. U kurativně léčených pacientů v obou sledovaných obdobích byl největší podíl zemřelých ve skupině pacientů léčených pouze radio-terapií (76 % u pacientů léčených do roku 2006 a 44 % po roce 2006) a ve skupině léčené kombinací radio-terapie a chemoterapie (75 % u pacientů léčených do roku 2006 a 33 % po roce 2006).

Celkové přežití (overall survival) definované jako interval mezi datem stanovení diagnózy a datem posledního známého stavu pacienta bylo provedeno Kaplanovou-Meierovou metodou.

Tab. 2. Nejčastěji se vyskytující případy akutní toxicity v %.

Grade dle RTOG kritérií	G0	G1	G2	G3	G4
kůže	0	51	44	5	0
sliznice	0	24	40	53	0
slinné žlázy	1	57	42	0	0
hltan, jícen	4	58	29	8	0

G – grade, stupeň závažnosti postižení dle definice RTOG [15]

Tab. 3. Nejčastěji se vyskytující případy pozdní toxicity v %.

Grade dle RTOG kritérií	G0	G1	G2	G3	G4
kůže	11	80	8	1	0
podkoží	1	75	18	0	0
sliznice	7	81	10	0	0
slinné žlázy	1	69	28	1	0
hrtan	7	63	26	4	0

G – grade, stupeň závažnosti postižení dle definice RTOG [15]

V celém netříděném souboru 774 pacientů je 58 % žijících a 42 % zemřelých, medián přežití je 26,5 měsíce.

V celkovém přežití všech pacientů diagnostikovaných v letech 2004–2005 a 2006–2010 nebyl statisticky významný rozdíl (log-rank test, $p = 0,637$). U pacientů z období 2004–2005 byl medián přežití 26,3 měsíce, u pacientů z let 2006–2010 byl medián přežití 27,2 měsíce.

V celkovém přežití kurativně léčených pacientů byl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi stadii onemocnění. Samozřejmě stadia I a II dosahují nejlepšího přežití (17 % zemřelých), nejhoršího přežití dosahují pacienti ve stadiu IV.

Je však zajímavé, že u kurativně léčených pacientů ve stadiu IV se rozdíl v přežití liší u pacientů léčených před rokem 2006 a po roce 2006. Co se týče léčby pacientů, operační postupy nezaznamenaly výraznou změnu, největší rozdíl spočíval v technice záření, jak již bylo zmíněno dříve (graf 5).

Toto bylo potvrzeno i při zhodnocení souborů pacientů, kteří v průběhu své léčby podstoupili radioterapii. U pacientů s onemocněním ve stadiu IV byl opět zjištěn signifikantní profit v celkovém přežití u léčených po roce 2006 oproti pacientům léčeným v letech 2004–2005 (graf 6).

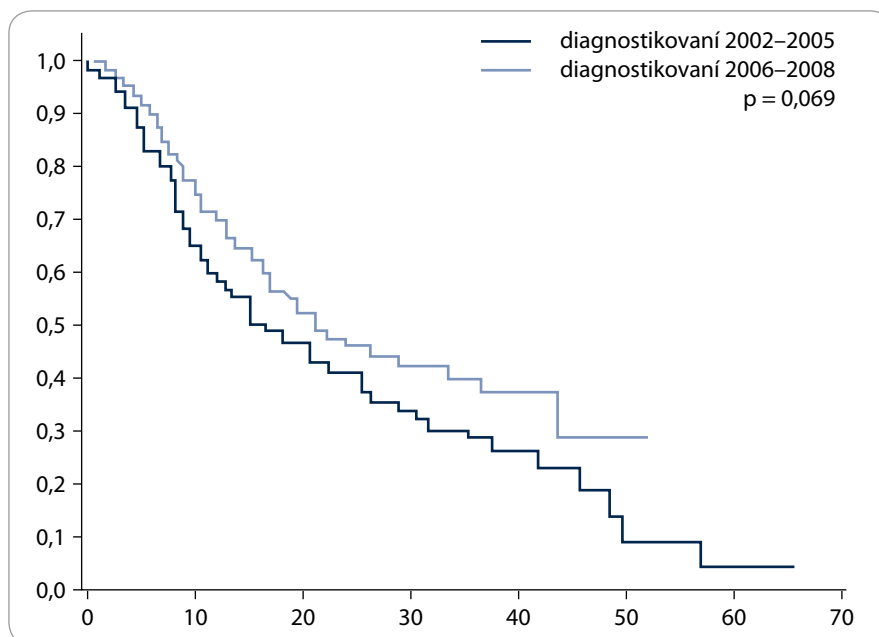
Další zlepšení celkového přežití bylo zaznamenáno u pacientů pod 80 let a bez závislosti na alkoholu (graf 7).

Diskuze

Nádory HaN jsou významnou diagnostickou skupinou v radiační onkologii. Terapie těchto nádorů se v čase mění a upravuje a jsou hledány optimální postupy v jejich léčbě.

Projekt HARDROCK je založen na retrospektivně-prospektivním sběru dat, která mají za cíl vyhodnotit dopad změny léčebného protokolu na terapeutické výsledky. Hlavním výstupem projektu je tedy zpětná vazba v oblasti indikátorů kvality péče. V radiační onkologii můžeme definovat čtyři základní parametry, které definují jakost v nejširším smyslu slova. Pro management kvality potřebujeme znát:

- dostupnost (pacient se včas dostane k léčbě zářením),

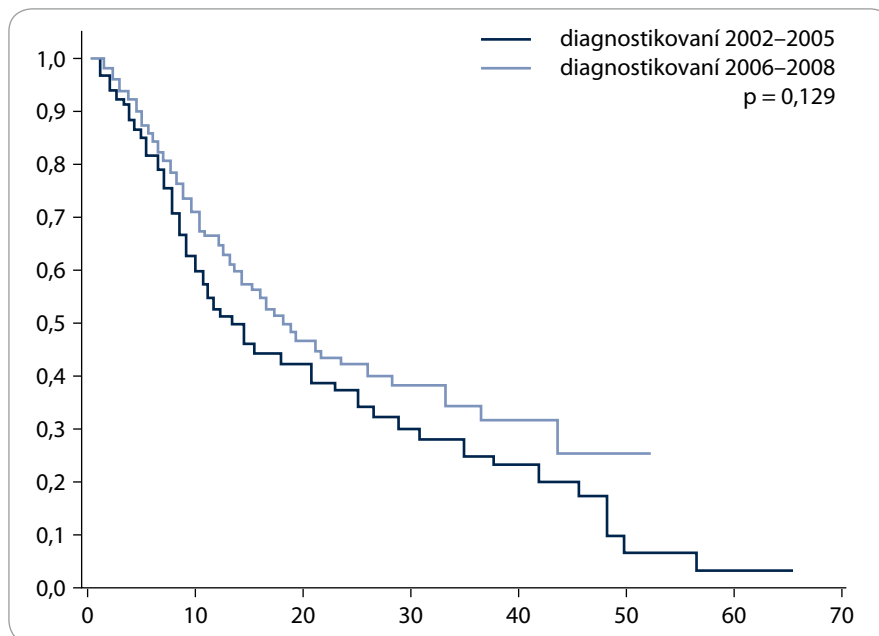


Graf 5. Stratifikovaná analýza přežití dle období stanovení diagnózy: pacienti s kurativní léčbou ve stadiu IV.

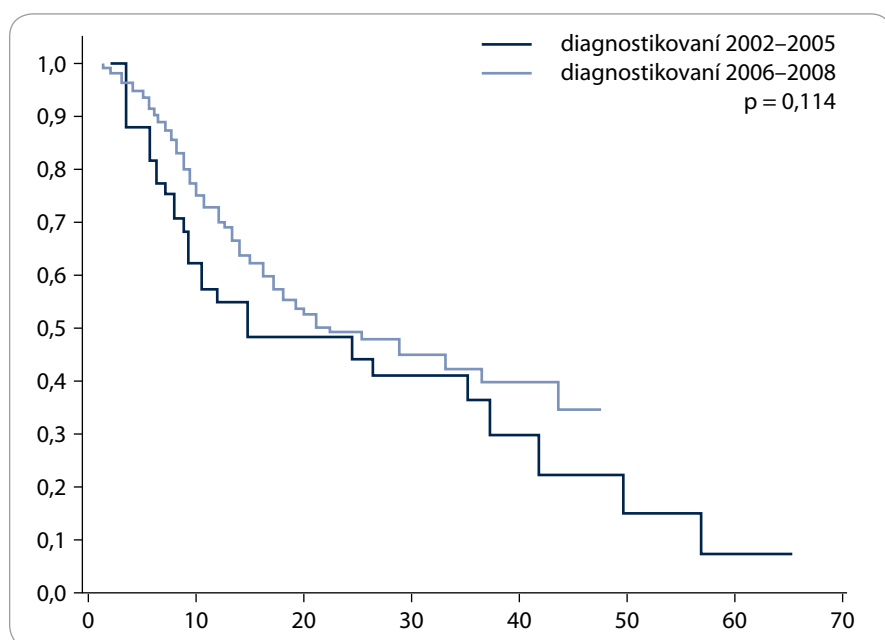
- standardnost (léčba je provedena podle národních či mezinárodních standardů),
- bezpečnost (léčba je bezpečná, jsou monitorovány vedlejší účinky terapie),
- účinnost.

Projekt HARDROCK se při dobré dostupnosti radioterapie na naší klinice

a po změně léčebných standardů zaměřil na parametry bezpečnosti a účinnosti. V první části prezentace dat uvádíme demografický přehled, rozložení tumorů dle anatomických lokalit i rozsah rizikových faktorů. Tato data nepřinášejí průlomové objevy, korespondují s velkými soubory pacientů [10], nic-



Graf 6. Stratifikovaná analýza přežití dle období stanovení diagnózy: pacienti s radioterapií ve stadiu IV.



Graf 7. Stratifikovaná analýza přežití dle období stanovení diagnózy: pacienti s kurativní léčbou, pod 80 let, bez závislosti na alkohol ve stadiu IV.

méně jsou důležitá k hodnocení charakteru patientských souborů. Prezentace výsledků léčby by bez kontextu těchto popisných charakteristik neměla smysl.

Samotné výsledky léčby přinesly přehled o léčbě tumorů HaN za několik let, rozdělení do dvou skupin dle časových období dovoluje srovnání léčebných výsledků.

V léčbě radioterapií jsou mezi obdobími 2004–2005 a 2006–2010 zásadní rozdíly. Změnila se taktika provedení radioterapie, a to jak ve smyslu definice cílového objemu, tak i frakcionace. Hyperfrakcionace a v určitých případech i normofrakcionace byly v kurativní léčbě nahrazeny konkomitantním boostem, tj. akcelerovanou radioterapií.

RTOG akutní toxicita léčby byla srovnatelná u obou období. Pozdní toxicita byla v období 2004–2005 nižší než

v období 2006–2010 z důvodu naprosto nedostatečného zaznamenávání pozdní toxicity ve follow-up v období 2004–2005.

Závěr

Vzhledem k tomu, že do databáze byli zahrnuti všichni pacienti, a data tudíž neprošla žádnou selekcí, můžeme konstatovat, že díky tomuto registru přesně víme, jak tuto konkrétní skupinu diagnóz léčíme, a to včetně vývoje v čase. Zjistili jsme, že změna objemu a frakcionace radioterapie vede ke snížení počtu relapsů a zlepšení celkového přežití u pacientů s onemocněním ve stadiu IV.

Výsledky projektu dále dokazují, že jednotlivé parametry kvality spolu velmi úzce souvisí: změnou standardů se při nezměněné bezpečnosti zvyšuje účinnost terapie.

Podobné projekty doporučujeme jako ideální zdroj indikátorů kvality v onkologii.

Literatura

1. Lingen MW. Head and neck. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N et al (eds). Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. 8th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier 2010: 740–753.
2. Šlampa P, Petera J. Zhoubné nádory hlavy a krku. In: Vošmik M, Šlampa P, Kubeš J et al (eds). Radiační onkologie. Praha: Galén Karolinum 2007: 67–104.
3. Kreimer AR, Clifford MG, Boyle P et al. Human papillomavirus types in head and neck squamous cell carcinomas worldwide: a systematic review. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2005; 14(2): 467–475.
4. Termine N, Panzarella V, Falaschini S et al. HPV in oral squamous cell carcinoma vs head and neck squamous cell carcinoma biopsies: a meta-analysis (1988–2007). Ann Oncol 2008; 19(10): 1681–1690.
5. Chaturvedi AK, Engels EA, Anderson WF et al. Incidence trends for human papillomavirus-related and -unrelated oral squamous cell carcinomas in the United States. J Clin Oncol 2008; 26(4): 612–619.
6. Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR. Novotvary 2005–2007 [online]. Praha: ÚZIS 2005–2007. Dostupné na: <http://www.uzis.cz>.
7. Licitra L, Felip E. ESMO Guidelines Working Group. Squamous cell carcinoma of the head and neck: ESMO clinical recommendations for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol 2009; 20 (Suppl 4): 121–122.
8. Bonner JA, Harari PM, Giralt J et al. Radiotherapy plus cetuximab for squamous-cell carcinoma of the head and neck. N Engl J Med 2006; 354(6): 567–578.
9. Harrington KJ, El-Hariry IA, Holford CS et al. Phase I study of lapatinib in combination with chemoradiation in patients with locally advanced squamous cell carcinoma of the head and neck. J Clin Oncol 2009; 27(7): 1100–1107.
10. Parsons JT, Mendenhall WM, Cassisi NJ et al. Hyperfractionation for head and neck cancer. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1988; 14(4): 649–658.
11. Bourhis J, Overgaard J, Audry H et al. Hyperfractionated or accelerated radiotherapy in head and neck cancer: a meta-analysis. Lancet 2006; 368(9538): 843–854.
12. Terhaard CH, Kal HB, Hordijk GJ. Why to start the concomitant boost in accelerated radiotherapy for advanced laryngeal cancer in week 3. Int J Radiat Oncol Biol Phys 2005; 62(1): 62–69.
13. Feltl D, Cvek J. Klinická radiobiologie. 1st ed. Havlíčkův Brod: Tobiáš 2008: 57–66.
14. HARDROCK, Head and neck cancer: Assessment of risk factors, stage distribution, radiotherapy optimization, causes of relapse – keypoints [online]. Available from: <http://hardrock.registry.cz>.
15. Radiation Therapy Oncology Group, Cooperative Group Common Toxicity Criteria [online]. Available from: <http://www.rtog.org/ResearchAssociates/AdverseEventReporting/AcuteRadiationMorbidityScoringCriteria.aspx>.

Jaký je prognostický význam molekulárně genetických faktorů u karcinomu endometria?

What is the Prognostic Importance of Molecular Genetic Factors in Endometrial Carcinoma?

Křepinská E.¹, Chmelařová M.², Laco J.³, Palička V.², Špaček J.¹

¹ Porodnická a gynekologická klinika, LF UK a FN v Hradci Králové

² Ústav klinické biochemie a diagnostiky, LF UK a FN v Hradci Králové

³ Fingerlandův ústav patologie, LF UK a FN v Hradci Králové

Souhrn

Východiska: Kritické zhodnocení významu vybraných molekulárně genetických ukazatelů u karcinomu endometria na základě analýzy dosud publikovaných prací a u *K-ras* mutace též prezentace vlastních výsledků. Cílem původní části práce bylo porovnat výskyt této mutace v tkáni karcinomu oproti zdravému endometriu u pacientek léčených na našem pracovišti a posléze i zhodnocení jejího podílu na vzniku tohoto onemocnění v rámci multivariační analýzy. **Materiál a metody:** Byla provedena molekulárně biologická analýza vzorků endometriální tkáně pacientek léčených na Porodnické a gynekologické klinice Fakultní nemocnice v Hradci Králové. Vyšetření mutací genu *K-ras* bylo provedeno z DNA získané z formalinem fixovaných a v parafinu zalitých vzorků. K detekci byla použita metoda *K-ras* StripAssay™, ViennaLab Diagnostics GmbH. **Výsledky:** Bylo vyšetřeno 30 vzorků endometroidního karcinomu ve stadiu I (dle FIGO), mutace genu *K-ras* byla prokázána v 7 případech (23%). V kontrolní skupině 20 vzorků normálního endometria byla sledovaná mutace nalezena ve 3 případech (15%). Mutace se častěji vyskytovala u stadia IA a ve skupině dobře diferencovaných nádorů. **Závěr:** Význam molekulárně genetických faktorů u karcinomu endometria se přelomově liší v závislosti na typu nádoru. U častějších endometroidních nádorů prvního typu nejsou dosud publikované výsledky zdaleka tak jasné jako u karcinomů druhého typu, kde je výskyt alterace *p53* uváděn až v 90%. Naše výsledky u představitelů místní populace podporují teorii o možném podílu *K-ras* mutace v procesu endometriální karcinogeneze u nádorů prvního typu ve smyslu časné události.

Klíčová slova

karcinom endometria – gen *K-ras* – mutace

Summary

Background: Evaluation of the importance of molecular genetic factors in endometrial carcinoma based on our review of available literature, and in the case of *K-ras* mutation based on our own data. The aim of the original part of our study was to compare the presence of *K-ras* mutation in early stages of endometroid carcinoma with normal endometrium and evaluate the role of the mutation in endometrial carcinogenesis. **Material and methods:** Molecular biological analysis was performed to detect *K-ras* mutation in samples of endometrial tissue obtained from women treated in the past at the Department of Obstetrics and Gynecology, University Hospital Hradec Kralove. The detection was made from DNA isolated from paraffin-embedded sections using *K-ras* StripAssay™, ViennaLab Diagnostics GmbH. **Results:** *K-ras* mutation was found in 7 out of 30 specimens of endometroid carcinoma in stage I (23%) and in 3 of 20 specimens of normal endometrium in the control group (15%). *K-ras* mutations were more frequent in IA stage and grade 1 of endometroid carcinoma. **Conclusion:** The importance of molecular genetic factors in endometrial carcinoma differs depending on the type of carcinoma. In more common type 1 endometroid cancer, published data are not as clear as in type 2 carcinoma, in which prevalence of alteration of *p53* reaches 90%. Results of our study performed on local population of women support the theory about the possible role of *K-ras* mutation as an early event in the process of endometrial carcinogenesis in type 1 tumors.

Key words

endometrial carcinoma – *K-ras* gene – mutation

Práce byla podpořena grantem Grantové agentury Univerzity Karlovy č. 157310.

This study was supported by grant of Grant Agency of the Charles University No. 157310.

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. Eva Křepinská

Porodnická a gynekologická klinika

LF UK a FN v Hradci Králové

Sokolská 581

500 05 Hradec Králové

e-mail: evajurkova@seznam.cz

Obdrženo/Submitted: 12. 12. 2011

Přijato/Accepted: 27. 6. 2012

Úvod

Karcinom endometria je po karcinomu prsu nejčastější gynekologickou malignitou a jeho incidence neustále narůstá.

Ze zemí Evropské unie je jeho výskyt v České republice nejvyšší.

Od roku 1983 platí dualistická Bokhmanova teorie modelu karcinogeneze endometria, která vychází z klinického pozorování a histopatologických charakteristik [1]. Asi o deset let později byla tato dosud platná teorie podpořena studiemi na molekulární úrovni. Charakteristika obou základních subtypů souvisí i s odlišnou genetickou nestabilitou a molekulárními změnami [2].

U endometroidního karcinomu (typ I) jsou nejčastěji popisovány mutace *PTEN* tumor-supresorového genu [3], mikrosatelitální instabilita [4], mutace *K-ras* protoonkogenu [5] a *β-cateninu* [6]. Pro karcinomy typu II je charakteristická porucha funkce tumor-supresoru *p53* a některé práce uvádějí, že gen *p53* je alterován až v 90 % serózních karcinomů endometria [7]. Na rozdíl od typu I jsou u typu II vzácně popisované mutace *K-ras*, *β-cateninu*, dále mikrosatelitální instabilita a inaktivace *p16* [2,8–11].

V původní části naší práce jsme se zaměřili na úlohu mutace *K-ras* genu v patogenezi endometroidního typu karcinomu endometria.

K-ras patří do rodiny onkogenů *ras*, které jsou nejčastěji spojovány se vznikem lidských maligních nádorů. *Ras* proteiny jsou součástí buněčné membrány a vykazují GTPázovou aktivitu. Podílejí se na spouštění růstu a diferenciaci buňky. Mutovaný *K-ras* protein ztrácí schopnost spontánní inaktivace, což způsobí trvalou stimulaci buněčného růstu [12]. Z dostupných prací se mutace *K-ras* genu vyskytuje u 10–30 % případů endometroidního karcinomu [5,13], a to nejčastěji u nádorů středně a níže diferencovaných [14]. To, že je mutace též přítomna asi v 16 % případů hyperplastického endometria, podporuje hypotézu o časně události v procesu karcinogeneze v této lokalizaci [15]. Jiné zdroje však naopak uvádějí možný vznik karcinomu endometria za přispění mutovaného *K-ras* protoonkogenu bez stadia hyperplazie [16].

Materiál a metody

Byla provedena molekulárně biologická analýza 50 vzorků endometriální tkáně pacientek vyšetřených a léčených na Porodnické a gynekologické klinice LF UK a FN v Hradci Králové. Vzorky byly získány z archivu Fingerlandova ústavu patologie LF UK a FN v Hradci Králové, stáří vyšetřovaného materiálu nepřesáhlo 5 let. Vyšetřeno bylo 30 vzorků s endometroidním karcinomem ve stadiu I dle FIGO klasifikace. Dále byla vyšetřena kontrolní skupina 20 vzorků normálního endometria pacientek operovaných pro jinou, nezhoubnou diagnózu dělohy. Tyto vzorky byly histopatologem hodnoceny jako proliferativní, sekreční či klidové endometrium. Do kontrolní skupiny nebyl zařazen žádný vzorek hyperplastického endometria. Vyšetření mutací genu *K-ras* bylo provedeno z DNA získané z formalinem fixovaných, v parafinu zalitých vzorků tkání. DNA z parafinového bločku byla izolována pomocí kitu firmy Qiagen. Vlastní vyšetření *K-ras* mutace bylo realizováno metodou *K-ras* StripAssay™ (ViennaLab Diagnostics GmbH). Tento test zahrnuje vyšetření 10 mutací v *K-ras* genu (kodon 12 a 13). PCR amplifikace s využitím biotinylovaných primerů byla provedena dle protokolu výrobce, pro analýzu bylo použito 25 ng izolované DNA. Amplifikace byla uskutečněna v termocykléru Veriti (Applied Biosystems, CA). Amplifikační reakce využívala teplotní profil: 94 °C 2 min, 35 cyklů (94 °C 1 min, 70 °C 50 s, 56 °C 50 s, 60 °C 1 min) a 60 °C 3 min. Amplifikaci následovala kontrolní elektroforéza na 2 % agarosovém gelu (délky PCR produktů

151 bp a 204 bp). Amplifikované produkty byly dle protokolu výrobce hybridizovány na testovací strip (proužek) obsahující alelově-specifické imobilizované oligonukleotidové proby. Navázané biotinylované sekvence byly detekovány s využitím streptavidin-alkalické fosfatázy a barevného substrátu.

Ke statistickému zpracování získaných dat byl použit χ^2 test.

Výsledky

Vlastní soubor sestával ze 30 karcinomů a 20 zdravých kontrol. Věkový medián pacientek s karcinomem byl 65 roků (rozmezí 52–77 roků) a 56 roků (rozmezí 50–79 roků) u pacientek kontrolní skupiny.

Vyšetřeno bylo 30 vzorků endometroidního karcinomu ve stadiu I (dle FIGO), mutace genu *K-ras* byla prokázána v 7 případech (23 %). V kontrolní skupině 20 vzorků normálního endometria byla sledovaná mutace nalezena ve 3 případech (15 %). Se spolehlivostí 0,95 je rozmezí výskytu mutace pro ženy s endometroidním karcinomem 10 % až 42 %, pro zdravé ženy je to 3 % až 38 %. Rozdíl mezi četností výskytu mutace v obou skupinách je však statisticky nevýznamný.

S ohledem na jednotlivá stadia a grade nádoru se mutace častěji vyskytovala ve stadiu IA a ve skupině dobře diferencovaných nádorů (tab. 1 a 2).

V kontrolní skupině byla sledovaná mutace popsána ve 3 vzorcích. Ve dvou případech se jednalo o normální proliferativní endometrium a v jednom o klidové endometrium u postmenopauzální ženy.

Tab. 1. *K-ras* mutace ve stadiu I dle FIGO endometroidního karcinomu.

Stadium	IA n = 4	IB n = 18	IC n = 8
<i>K-ras</i> mutace	3 (75 %)	3 (17 %)	1 (13 %)

Tab. 2. *K-ras* mutace s ohledem na grade endometroidního karcinomu.

Grade	1 n = 9	2 n = 18	3 n = 3
<i>K-ras</i> mutace	3 (33 %)	3 (17 %)	1 (33 %)

Tab. 3. Genetické alterace u endometriálního karcinomu.

Genetická alterace	Typ I karcinomu	Typ II karcinomu
<i>K-ras</i>	15–30 %	0–5 %
<i>PTEN</i>	35–50 %	10 %
<i>p53</i>	10–20 %	90 %
<i>Her2/neu</i>	10–20 %	9–30 %
<i>β-catenin</i>	31–47 %	0–3 %
mikrosat. instabilita	20–40 %	0–5 %

Diskuze

Kromě zcela základních charakteristik, ze kterých obvykle vycházíme (stupeň postižení, typ nádoru a grading), existuje řada dalších ukazatelů, které mohou mít svoji prognostickou významnost. Nejínak je tomu u karcinomu endometria. Gynekologické zhoubné nádory představují skupinu chorob, u kterých je prognóza závislá také na subtilních genomických, epigenetických a proteomických změnách.

Tab. 3 ukazuje nejčastěji se vyskytující genetické alterace karcinomu endometria (typ I, II).

Ve vztahu k molekulární genetice je výrazněji profilován druhý typ karcinomu, který je méně častý a prognosticky horší (nevzniká na podkladě hyperplazie a není závislý na estrogení stimulaci). Tento typ karcinomu je molekulárně geneticky charakterizován mutacemi genu *p53* a četnými ztrátami heterozygoty. Některé práce uvádějí, že gen *p53* je alterován až u 90 % serózních karcinomů [7]. Podle jiných autorů je mutace genu *p53* dvakrát častěji popisována u tumorů bez přítomnosti hyperplazie (estrogen non-dependentních) než u tumorů s hyperplazií (estrogen dependentních) [16,17]. Zvýšená exprese *p53* koreluje se špatnou diferenciací nádorů endometria, hloubkou myometriální invaze, pokročilým stadiem a metastatickým šířením [18,19].

Naopak zdaleka ne tak jasná je situace u prvního typu karcinomu, který vzniká na podkladě atypické hyperplazie a je podmíněn estrogení stimulací. Stále není jasně prokázáno, která ze změn maligní transformaci iniciuje. Zdá se, že většina genetických alterací charakteristických pro toto nádorové onemocnění vzniká již na počátku tumorigeneze.

Nejčastěji se vyskytující genetickou poruchou u endometriálního karcinomu je mutace *PTEN* tumor-supresorového genu, která je popisována u 25–83 % všech tumorů [20]. Zatímco u jiných typů nádorů je tato alterace genu *PTEN* asociována s pokročilým onemocněním včetně metastatického postižení, u karcinomu endometria je tomu naopak a ztráta funkce *PTEN* genu je považována za časnou událost a navíc je spojována s velmi dobrou prognózou [21]. K nejčastěji popisovaným molekulárním abnormitám u endometroidního typu karcinomu patří spolu s mutací genu *PTEN* také mikrosatelitální instabilita (MI) způsobená poruchou funkce DNA mismatch repair (MMR) genů. Několik prací uvádí shodu ve výskytu MI a *PTEN* mutací; mutace je popisována u 60–86 % MI-pozitivních endometroidních karcinomů a pouze u 24–35 % tumorů, kde MI prokázána nebyla. Pro sporadické formy endometroidního karcinomu je typická inaktivace MMR genu *MLH1* následovaná poruchou exprese genů *MSH2* a *MSH6* [22]. Přítomnost MI je asociována s dobrou prognózou endometroidního karcinomu [8,23]. *β-catenin* je další z genů, jehož porušená funkce je spojována s procesem endometriálního karcinogeneze. Jeho mutace je signifikantně častěji popisována u endometroidních lézí (31–47 %) ve srovnání s non-endometroidním typem nádorů (0–3 %) [24]. Jiné práce uvádějí častější výskyt u endometriální hyperplazie, což by svědčilo pro podíl této mutace v časné karcinogenezi [25]. *Her2/neu* patří do skupiny protoonkogenů, jehož overexprese je popisována u 10–20 % endometroidních karcinomů se středním a nízkým stupněm diferenciace a některými autory je dáována do souvis-

losti s progresí onemocnění a horší prognózou. Mutace je dále popisována u 9–30 % serózních karcinomů a spolu s alterovaným genem *p53* je asociována s velmi špatnou prognózou u non-endometroidního typu nádorů [26,27].

Z dostupných pramenů je patrné, že mutace *K-ras* protoonkogenu je detekována u 10–30 % případů endometroidního karcinomu [5,13]. Také výsledky naší práce potvrzují účast mutace *K-ras* genu v procesu vzniku karcinomu endometria ve smyslu časné události [28,29]. Prezentace dosavadních výsledků o *K-ras* mutaci u karcinomu endometria a prognostický význam tohoto ukazatele však nejsou jednotné. Například S. F. Lax ve své práci připouští, že pro vznik endometroidního karcinomu lze použít podobný model patogeneze jako u kolorektálního karcinomu. Působení *K-ras* mutace přichází v úvahu jednak na úrovni přechodu z atypické hyperplazie do dobře diferencovaného endometroidního karcinomu, ale především potencuje progresi do méně diferencovaných forem nádoru [9]. Z práce Mizuchiho et al (n = 49) vyplývá, že *K-ras* mutace je nezávislý rizikový faktor odpovědný za agresivní chování endometriálního karcinomu [30]. Podobného názoru jsou i Ito et al (n = 221), kteří mutaci *K-ras* signifikantně spojují s přítomností metastáz v lymfatických uzlinách a předpokládají její důležitou roli v mechanismu odpovědném za nepříznivé biologické chování endometroidního karcinomu u postmenopauzálních pacientek [31].

Semczuk et al (n = 57) na souboru pacientek s karcinomem endometria neprokázali souvislost přítomnosti *K-ras* mutace s věkem, stadiem, hloubkou invaze ani gradingem nádoru. Data podporují hypotézu o náhodné aktivaci *K-ras* genu v lidském neoplastickém endometriu a dále autoři naznačují, že by průkaz mutovaného protoonkogenu mohl být negativním prognostickým faktorem [32]. Naproti tomu práce kolektivu Esteller et al (n = 55) dokazuje, že *K-ras* mutace je relativně běžnou událostí v procesu endometriálního karcinogeneze, ale bez jasného prognostického významu [33]. Ani Jones et al (n = 32) neprokázali vliv přítomnosti

K-ras mutace na prognózu onemocnění. Autoři srovnávali výskyt mutace *p53* a *K-ras* a jejich vztah k celkovému přežití pacientek s karcinomem endometria, kdy mutace *p53* silně korelovala s krátkým přežitím, *K-ras* však nikoli [34]. Studie autorů Pijnenborga et al (n = 44) se zabývala otázkou *K-ras* mutace u recidivujícího endometriálního karcinomu, kdy nebyl pozorován vliv této mutace na vznik recidivy onemocnění [35]. Několik prací se zabývalo také problematikou mutovaného *K-ras* genu u žen léčených Tamoxifenem. Prasad et al (n = 29) porovnávali pacientky s karcinomem endometria vzniklým při léčbě Tamoxifenem s pacientkami se sporadickým endometriálním karcinomem, kdy nebyl prokázán statistický rozdíl mezi četností výskytu mutace u obou vyšetřovaných skupin [36]. Tsujioka et al (n = 28) prokázali mutovaný *K-ras* gen u 46 % pacientek léčených Tamoxifenem. Po zastavení léčby u pacientek mutace již prokázána nebyla. Z práce vyplývá, že ukončení léčby Tamoxifenem by mohlo redukovat riziko vzniku karcinomu endometria cestou mutovaného genu *K-ras* [37].

V porovnání se sporadickými formami endometriálního karcinomu je genetické pozadí u hereditárních forem nádoru mnohem méně prozkoumané. Jedná se především o endometriální karcinomy vznikající v souvislosti s Lynchovým syndromem neboli HNPCC (hereditary nonpolyposis colorectal cancer). Endometriální karcinom je nejčastější malignita, která se u pacientek s Lynchovým syndromem vyskytuje [38]. Lynchův syndrom je spojován s mutací genů patřících do rodiny mismatch repair (MMR), např. *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS1* nebo *PMS2* [39]. Zdá se, že mechanismus vzniku endometriálního karcinomu v rámci HNPCC je důsledkem poruchy odlišných genů, než je tomu u kolorektálního karcinomu. Inaktivace komplexu genů *MSH2/MSH6* hraje pravděpodobně zásadní roli v procesu karcinogeneze [40]. Další genetickou alterací, která se uplatňuje v nádorovém procesu, je mutace *PTEN* genu, která se vyskytuje asi v 90 % případů endometriálního karcinomu u pacientek s Lynchovým syndromem [41].

Závěr

Prognostický význam molekulárně genetických faktorů u karcinomu endometria se přelomově liší v závislosti na typu nádoru. Jasně je definován u tumor-supresorového genu *p53* a nádorů druhého typu, kde koreluje s horší prognózou. U častějších endometroidních nádorů prvního typu však nejsou dosud publikované výsledky zdaleka tak jasné. Jako nejčastější událost na této úrovni je u nich popisována mutace genu *PTEN* a mikrosatelitální instabilita.

Naše výsledky u představitelů místní populace podporují teorii o možném podílu *K-ras* mutace v procesu endometriálního karcinogeneze u nádorů prvního typu ve smyslu časné události.

Literatura

1. Bokhman JV. Two pathogenetic types of endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol* 1983; 15(1): 10–17.
2. Liu FS. Molecular carcinogenesis of endometrial cancer. *Taiwan J Obstet Gynecol* 2007; 46(1): 26–32.
3. Mutter GL. Pten, a protean tumor suppressor. *Am J Pathol* 2001; 158(6): 1895–1898.
4. Esteller M, Levine R, Baylin SB et al. MLH1 promoter hypermethylation is associated with the microsatellite instability phenotype in sporadic endometrial carcinomas. *Oncogene* 1998; 17(18): 2413–2417.
5. Caduff RF, Johnston CM, Frank TS. Mutations of the Ki-ras oncogene in carcinoma of the endometrium. *Am J Pathol* 1995; 146(1): 182–188.
6. Saegusa M, Hashimura M, Yoshida T et al. Beta-catenin mutations and aberrant nuclear expression during endometrial tumorigenesis. *Br J Cancer* 2001; 84(2): 209–217.
7. Tashiro H, Isacson C, Levine R et al. p53 gene mutations are common in uterine serous carcinoma and occur early in their pathogenesis. *Am J Pathol* 1997; 150(1): 177–185.
8. Catusas L, Machin P, Matias Guiu X et al. Microsatellite instability in endometrial carcinomas: clinicopathologic correlations in a series of 42 cases. *Hum Pathol* 1998; 29: 1160–1164.
9. Lax SF. Molecular genetic pathways in various types of endometrial carcinoma: from a phenotypical to a molecular-based classification. *Virchows Arch* 2004; 444(3): 213–223.
10. Tashiro H, Blazes MS, Wu R et al. Mutations in PTEN are frequent in endometrial carcinoma but rare in other common gynecological malignancies. *Cancer Res* 1997; 57(18): 3935–3940.
11. Tashiro H, Lax SF, Gaudin PB et al. Microsatellite instability is uncommon in uterine serous carcinoma. *Am J Pathol* 1997; 150(1): 75–79.
12. Cibula D, Petruželka L et al. *Onkogynéologie*. Praha: Grada Publishing 2009.
13. Engelsens IB, Akslen LA, Salvesen HB. Biologic markers in endometrial cancer treatment. *AMPS* 2009; 117(10): 693–707.
14. Lax SF, Kurman RJ. A dualistic model for endometrial carcinogenesis based on immunohistochemical and molecular genetic analysis. *Verh Dtsch Ges Patol* 1997; 81: 228–232.
15. Sasaki H, Nishii H, Takahashi H et al. Mutation of the Ki-ras protooncogene in human endometrial hyperplasia and carcinoma. *Cancer Res* 1993; 53(8): 1906–1910.

16. Koul A, Willén R, Bendahl PO et al. Distinct sets of gene alteration in endometrial carcinoma implicate alternate modes of tumorigenesis. *Cancer* 2002; 94(9): 2369–2379.
17. Kaku T, Kamura T, Hirakawa T et al. Endometrial carcinoma associated with hyperplasia – immunohistochemical study of angiogenesis and p53 expression. *Gynecol Oncol* 1999; 72(1): 51–55.
18. Pilka R, Mickova I, Lubusky M et al. Expression of p53, Ki-67, bcl-2, c-erb-2, estrogen, and progesterone receptors in endometrial cancer. *Ceska Gynecol* 2008; 73(4): 222–227.
19. Pilka R, Markova I, Duskova M et al. Immunohistochemical evaluation and lymph node metastasi in surgically staged endometrial carcinoma. *Eur J Gynaecol Oncol* 2010; 31(5): 530–535.
20. Bansal N, Yendluri V, Wenham RM. The molecular biology of endometrial cancers and implications for pathogenesis, classification, and targeted therapies. *Cancer Control* 2009; 16(1): 8–13.
21. Risinger JL, Hayes K, Maxwell GL et al. PTEN mutation in endometrial cancers is associated with favorable clinical and pathological characteristics. *Clin Cancer Res* 1998; 4(12): 3005–3010.
22. Okuda T, Sekizawa A, Purwosunu Y et al. Genetics of endometrial cancers. *Obstet Gynecol Int* 2010; 2010: 984013.
23. Maxwell GL, Risinger JL, Alvarez AA et al. Favorable survival associated with microsatellite instability in endometroid endometrial cancers. *Obstet Gynecol* 2001; 97(3): 417–422.
24. Moreno-Bueno G, Hardisson D, Sánchez C et al. Abnormalities of the APC/β-catenin pathway in endometrial cancer. *Oncogene* 2002; 21(52): 7981–7990.
25. Nei H, Saito T, Yamasaki H et al. Nuclear localization of β-catenin in normal and carcinogenic endometrium. *Mol Carcinog* 1999; 25(3): 207–218.
26. Slomovitz BM, Broaddus RR, Burke TW et al. Her-2/neu overexpression and amplification in uterine papillary serous carcinoma. *J Clin Oncol* 2004; 22(15): 3126–3132.
27. Williams JA Jr, Wang ZR, Parrish RS et al. Fluorescence in situ hybridization analysis of HER-2/neu, c-myc, and p53 in endometrial cancer. *Exp Mol Pathol* 1999; 67(3): 135–143.
28. Krepinska E, Chmelarova M, Palicka V et al. Mutation of K-ras gene in carcinogenesis of endometrial carcinoma. Book of abstracts 13th Biennial Meeting of the International Gynecological Cancer Society, Prague, October 23–26, 2010.
29. Krepinska E, Chmelarova M, Laco J et al. Mutation of K-ras gene in pathogenesis of endometrial carcinoma. Book of abstracts 17th International Meeting of the European Society of Gynaecological Oncology, Milan, Italy, September 11–14, 2011.
30. Mizuuchi H, Nasim S, Kudo R et al. Clinical implications of K-ras mutations in malignant epithelial tumors of the endometrium. *Cancer Res* 1992; 52(10): 2777–2781.
31. Ito K, Watanabe K, Nasim S et al. K-ras point mutations in endometrial carcinoma: Effect on outcome is dependent on age of patient. *Gynecol Oncol* 1996; 63(2): 238–246.
32. Semczuk A, Berbec H, Kostuch M et al. K-ras gene point mutations in human endometrial carcinomas: correlation with clinicopathological features and patients' outcome. *J Cancer Res Clin Oncol* 1998; 124(12): 695–700.
33. Esteller M, García A, Martínez-Palones JM, et al. The clinicopathological significance of K-RAS point mutation and gene amplification in endometrial cancer. *Eur J Cancer* 1997; 33(10): 1572–1577.
34. Jones MW, Kounelis S, Hsu C et al. Prognostic value of p53 and K-ras-2 topographic genotyping in endometrial

carcinoma: A clinicopathologic and molecular comparison. *Int J Gynecol Pathol* 1997; 16(4): 354–360.

35. Pijnenborg JM, Dam-de Veen GC, Kisters N et al. RASSF1A methylation and K-ras and B-raf mutations and recurrent endometrial cancer. *Ann Oncol* 2007; 18(3): 491–497.

36. Prasad M, Wang H, Douglas W et al. Molecular genetic characterization of tamoxifen-associated endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 2005; 96(1): 25–31.

37. Tsujioka H, Hachisuga T, Fukuoka M et al. Monitoring of Endometrial K-ras Mutation in Tamoxifen-Treated Pa-

tients With Breast Cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2009; 19(6): 1052–1056.

38. Koornstra JJ, Mourits MJ, Sijmons RH et al. Management of extracolonic tumours in patients with Lynch syndrome. *Lancet Oncol* 2009; 10(4): 400–408.

39. Peltomäki P, Vasen HF, Bisgaard ML et al. Mutations predisposing to hereditary nonpolyposis colorectal cancer: database and results of a collaborative study. The International Collaborative Group on Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer. *Gastroenterology* 1997; 113(4): 1146–1158.

40. Schweizer P, Moiso AL, Kuismanen SA et al. Lack of MSH2 and MSH6 characterizes endometrial but not colon carcinomas in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Cancer Res* 2001; 61(7): 2813–2815.

41. Zhou XP, Kuismanen S, Nystrom-Lahti M et al. Distinct PTEN mutational spectra in hereditary non-polyposis colon cancer syndrome-related endometrial carcinomas compared to sporadic microsatellite unstable tumors. *Hum Mol Genet* 2002; 11(4): 445–450.

Hepatocelulární karcinom – dlouhodobě léčitelné onemocnění

Hepatocellular Carcinoma – Long-Term Treatable Disease

Fínek J.

Onkologické a radioterapeutické oddělení, FN a LF UK v Plzni

Souhrn

Kazuistika – 30 měsíců přežívající nemocný s inoperabilním hepatocelulárním karcinomem léčený sorafenibem.

Klíčová slova

hepatocelulární karcinom – protinádorové léky – molekulárně cílená léčba

Summary

Case report – 30 months surviving patient with unresectable hepatocellular carcinoma treated with sorafenib.

Key words

hepatocellular carcinoma – antineoplastic drugs – molecular targeted therapy

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

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

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

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



prof. MUDr. Jindřich Fínek, Ph.D.
Onkologické a radioterapeutické
oddělení FN a LF UK v Plzni
Alej Svobody 80
304 60 Plzeň
e-mail: finek@fnplzen.cz

Obdrženo/Submitted: 25. 7. 2012

Přijato/Accepted: 30. 7. 2012

Úvod

Na svůj první velký onkologický kongres jsem se dostal v roce 1995. Byl v Hongkongu a k mému velkému překvapení se dobrá třetina všech sdělení točila kolem hepatocelulárního karcinomu, onemocnění mně do této doby celkem neznámému. Vysoká incidence tohoto nádoru v asijských zemích naháněla hrůzu, průměrné přežití jakkoli léčených nemocných se pohybovalo mezi 5 až 7 měsíci. Sám jsem se dostal do té doby k léčení asi 10 nemocných s touto diagnózou, většinou mladých, a bohužel osud těchto nemocných potvrzoval neradostné výsledky. Dnes je primární hepatocelulární karcinom řídkou, ale nikoli vzácnou diagnózou mezi českými onkologicky nemocnými.

V současné době postihuje primární hepatocelulární karcinom jednoho z 10 000 obyvatel v Evropské unii. Při léčbě splňuje sorafenib podmínku na zařazení mezi orphan drugs, kde je podmínkou incidence do 5 postižených na 10 000 obyvatel za rok.

Kazuistika

Jedním z prvních nemocných léčených na našem pracovišti cílenou kauzální léčbou sorafenibem pro inoperabilní hepatocelulární karcinom byl 48letý pacient. Vyhledal lékaře v prosinci roku 2008 pro pocity nadýmání, nechutenství a únavy. Byl kompletně vyšetřen internistou, na sonografii jater ve čtvrtém segmentu bylo patrné nehomogenní nádorové ložisko velikosti 58 mm, ve stejném segmentu byla další dvě drobná ložiska. V pravém laloku byla celkem 4 ložiska, největší velikosti 3 cm, v levém laloku byla 2 drobná ložiska. Vyšetření PET/CT nenašlo známky generalizace mimo játra. Pod CT kontrolou byla provedena punkce zmíněného útvaru v játrech. Získali jsme z jater punkční vzorek délky 10 mm. Histologicky byla nalezena v celém vzorku nádorová infiltrace středně diferencovaným a ložiskově nekrotickým mikrotrabekulárním hepatocelulárním karcinomem. Proliferační aktivita nádoru byla středně vysoká, grade II. Nález byl hodnocen v jaterním týmu jako inoperabilní a nemocný byl 2. 1. 2009 předveden na naše pracoviště.

Z anamnézy: Pacient vážněji nestonal, byl hospitalizován snad před 10 lety pro porfyrii, diabetik II. typu na PAD, kompenzován, hypertonik na účinné léčbě sartany, somatický nález v normě. Pracovní anamnéza: zedník, pracující. Žije s rodinou a dostává rodinný dům. Laboratorně: hemogram v normě, mírná elevace jaterních testů (AST 1,68, ALT 2,65, GMT 5,6, alkalická fosfatáza 2,56), glykemie 8,9. Zhodnocení jaterního poškození: hladina celkového bilirubinu fyziologická, stejně tak albuminu, INR, ascites nepřítomen, bez známek mozkové encefalopatie. Závěr: inoperabilní primární středně diferencovaný hepatocelulární karcinom, Child-Pugh A. Výkonnostní stav WHO 0.

2. 1. 2009 byla zahájena systémová léčba sorafenibem (Nexavar®) 800 mg denně per os ve dvou denních dávkách.

Při opakovaných sonografických kontrolách po 3 měsících byla patrna diskrétní regrese velikosti solidní expanze na rozhraní pravého a levého laloku na 6,5 cm. V diskrétní regresi byla i metaložiska v levém laloku, t. č. velikosti do 25 mm, v pravém laloku zůstala neměnná velikost do 35 mm. Bez patrné volné tekutiny. Léčba byla tolerována dobře, bez známek toxicity, objevily se mírné depigmentace obočí. Během léčby nemocný pracoval, odpoledne dostával vlastní dům.

13. 10. 2009 se objevily první známky mírné hematologické toxicity léčby, trombopenie 90 000/mm³. Jednalo se o 10. měsíc nepřetržité léčby. Léčebná odpověď trvala, pokračovali jsme v terapii sorafenibem bez přerušení a v plné dávce.

30. 10. 2009 bylo pro zhodnocení stavu provedeno dynamické CT jater se závěrem hepatocelulární karcinom v segmentech 2, 3, 4 se satelitními ložisky, progresí velikosti expanze. Další ložiska se nacházela v pravém jaterním laloku v segmentech 5/6, 8. Nález měl charakter multifokálního hepatocelulárního karcinomu či hepatocelulárního karcinomu generalizovaného téměř do všech jaterních segmentů. Dle CT perfuze se jednalo o viabilní ložiska.

Nemocný byl ve výkonnostním stavu WHO 0, stále manuálně pracoval, pokračovali jsme v léčbě sorafenib 800 mg denně.

Komplikace

Stav byl stabilizován do 15. 8. 2010, kdy byl nemocný vyšetřen na našem pracovišti pro bolesti břicha, hematemu, melénu, ascites. Endoskopické vyšetření trávicího traktu potvrdilo normální nález na sliznici duodena, bez známek stop po krvácení, ježirko žaludku s hematinem a bez koagul a čerstvé červené krve, sliznice žaludku byla téměř normální, v distálních 2/3 jícnu byly mohutné, nyní nekrvácející jícnové varixy, zdroj předchozího krvácení nebyl patrný. Sorafenib jsme vysadili, byla nasazena diuretika, po kterých ascites do týdne ustoupil.

Po 3 týdnech asymptomatického období od této ataky byl znovu nasazen sorafenib ve snížené dávce 400 mg per os. Nemocný pokračoval v léčbě do 23. 11. 2010, kdy se objevila recidiva vředu, hematemu, meléna. Zdroj krvácení se nacházel v oblasti kardií, nemocný byl hospitalizován na chirurgické klinice FN, kde bylo postupováno konzervativně.

Po 3 týdnech rekonvalescence jsme opět pokračovali v léčbě sorafenibem 400 mg per os denně.

V březnu 2011 byl nález na sonografii jater stabilizovaný, nemocný dosahoval stále dobré výkonnosti WHO 1, stavba rodinného domu byla dokončena, nemocný pokračoval v léčbě sorafenibem 400 mg p. o. denně.

19. 5. 2011 byla provedena sonografie jater s tímto závěrem: Ve srovnání s předchozím USG z 1. 12. 2010 nález stacionární, eventuální lehkou progresi zejména paketu uzlin v porta hepatis nelze vyloučit.

Stejně vyšetření 27. 6. 2011 prokázalo progresi velikosti ložisek v játrech a progresi lymfadenopatie v portě hepatis, progresi ascitu.

Nemocný byl unavený, WHO 2, objevil se znovu ascites, léčba sorafenibem po byla 29 měsíců ukončena a zahájena byla symptomatická léčba.

13. 7. 2011 se nemocný akutně dostavil k příjmu pro ascites, objevily se známky encefalopatie, únavnost. Zahájili jsme analgetickou a infuzní léčbu. Nemocný 3. 8. 2011 zemřel 31 měsíců od stanovení diagnózy.

Diskuze

Před zavedením cílené léčby sorafenibem byl hepatocelulární karcinom onemocněním s mediánem přežití 5 až 7 měsíců [1–5]. Hepatocelulární karcinom je téměř necitlivý k systémovému podávání cytostatik, jedinou účinnou léčbou lokalizovaného onemocnění je intraarteriální chemoembolizace (TACE) [6], která však nebyla u našeho nemocného vzhledem k rozsahu onemocnění a uložení nádoru indikována.

Nemocný byl při zahájení léčby ve vynikajícím výkonnostním stavu, WHO 0, ve stadiu Child-Pugh A. Fyzicky pracoval, tuto normální fyzickou aktivitu si udržel během léčby od ledna 2009 do srpna 2010.

Nemocný byl pravidelně sonograficky kontrolován, nález na játrech pomalu progredoval, léčba však nebyla pro progresi ukončena, neboť progres byla v čase velice pomalá.

U nemocného se objevily první známky významné toxicity v srpnu 2010, tedy po 18 měsících léčby, do listopadu 2010 následovaly 2 ataky krvácení na podkladě portální hypertenze z jícnových varixů.

Z tohoto důvodu byl nemocný od srpna 2010 léčen na 50 % sníženou dávkou sorafenibu (2×200 mg p. o.).

Za poznámku stojí, že do jara 2011 po celou dobu léčby byla hodnota jaterních testů identická s hodnotou výchozí v rámci laboratorní chyby.

Do července 2011 byl nemocný léčen ambulantně, první hospitalizace na onkologickém pracovišti byla zároveň hospitalizací poslední, nemocný po 30 měsících od zahájení léčby umírá na podkladě jaterního selhání.

Výše uvedená kazuistika ukazuje, že měření prosté progresy bez časového faktoru je zcela mylný postup a je neoprávněné, že vysazení cílené léčby po prvním objevení se slova progresy v nálezů radiodiagnostika je omyl s mnohdy fatálními důsledky pro nemocného. Otázkou je, zda bylo racionální snížit doporučenou dávku sorafenibu z 800 mg na 400 mg denně. Z dnešního pohledu soudíme, že jsme měli raději vstoupit do hypoteticky vyššího rizika a dávku nemodifikovat.

Závěr

Cílená biologická léčba sorafenibem zajistila nemocnému s inoperabilním he-

patocelulárním karcinomem 30 měsíců kvalitního života, kdy se mu podařilo nejenom polovinu tohoto času náročně fyzicky pracovat, ale po práci i dostávat rodinný dům.

Z akutně probíhajícího infaustního onemocnění se nasazením cílené terapie stalo onemocnění dlouhodobě léčitelné.

Literatura

1. Llovet JM, Ricci S, Mazzaferro V et al. SHARP Investigators Study Group. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 2008; 359(4): 378–390.
2. Abou-Alfa GK, Amadori D, Santoro A et al. Is sorafenib (S) safe and effective in patients (pts) with hepatocellular carcinoma (HCC) and Child-Pugh B (CPB) cirrhosis? *J Clin Oncol* 2008; 26 (Suppl): Abstract 4518.
3. Cheng AL, Kang YK, Chen Z et al. Efficacy and safety of sorafenib in patients in the Asia-Pacific region with advanced hepatocellular carcinoma: a phase III randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Oncol* 2009; 10(1): 25–34.
4. Wörns MA, Weinmann A, Pfingst K et al. Safety and efficacy of sorafenib in patients with advanced hepatocellular carcinoma in consideration of concomitant stage of liver cirrhosis. *J Clin Gastroenterol* 2009; 43(5): 489–495.
5. Pinter M, Sieghart W, Graziadei I et al. Sorafenib in unresectable hepatocellular carcinoma from mild to advanced stage liver cirrhosis. *Oncologist* 2009; 14(1): 70–76.
6. Pinter M, Huckle F, Graziadei I et al. Advanced-stage hepatocellular carcinoma: transarterial chemoembolization versus sorafenib. *Radiology* 2012; 263(2): 590–599.

Paratesticular Mesothelioma in Young Age. Case Report

Paratestikulárny mezotelióm v mladom veku. Kazuistika

Mrinakova B.^{1,2}, Ondrus D.¹, Kajo K.³, Kunderlik M.², Tkacova M.^{1,2}, Ondrusova M.^{4,5}

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

² Department of Medical Oncology, St. Elisabeth Cancer Institute, Bratislava, Slovak Republic

³ Department of Pathology, Slovak Medical University and St. Elisabeth Cancer Institute, Bratislava, Slovak Republic

⁴ 2nd Department of Oncology, Comenius University, Faculty of Medicine, National Cancer Institute, Bratislava, Slovak Republic

⁵ Cancer Research Institute, Slovak Academy of Sciences, Bratislava, Slovak Republic

Summary

Background: Malignant mesothelioma is a neoplasm arising in serosal membranes in the body cavities. Usual presentation of the tumor is in the pleura, peritoneum and less frequently pericardium. Paratesticular mesothelioma is the rarest known form of malignant mesothelioma with only a limited number of reported cases. **Case:** A case of malignant epithelial mesothelioma of the tunica vaginalis testis was reported with presentation of hydrocele and multinodular intrascrotal masses in a 20-year old male. The patient underwent surgery for post-traumatic long-term hydrocele with perioperative discovery of multiple small exophytic structures. After histological findings of the malignant mesothelioma of tunica vaginalis testis, he underwent left-side orchiectomy, followed by inguinal and pelvic lymph node dissection. Clinical staging did not reveal distant metastases. Regular follow-up visits based on physical examinations and imaging studies are to date negative for recurrence. **Conclusion:** Literature data were reviewed, and possible risk factors for the development of the neoplasm were analysed.

Key words

paratesticular mesothelioma – tunica vaginalis testis – orchiectomy – asbestos

Súhrn

Východiská: Malígny mezotelióm je novotvar vychádzajúci zo serózných blán vystielajúcich telesné dutiny. Zvyčajne sa nádor vyskytuje na pleure, peritoneu a menej často perikarde. Paratestikulárny mezotelióm je najzácnejšou formou malígneho mezoteliómu s obmedzeným množstvom publikovaných prípadov. **Kazuistika:** Autori popisujú prípad malígneho epiteliálneho mezoteliómu tunica vaginalis testis u 20-ročného muža s prítomnosťou hydrokély a mnohopočetných uzlovitých intraskrotálnych útvarov. Dôvodom operácie pacienta bola dlhotrvajúca poúrazová hydrokéla, peri-operačne sa zistil výskyt mnohopočetných drobných exofytických útvarov. Po histologickom diagnostikovaní malígneho mezoteliómu tunica vaginalis testis pacient podstúpil ľavostrannú orchiektómiu s následnou inguinálnou a panvovou lymfadenektómiou. Klinické vyšetrenia neodhalili prítomnosť vzdialených metastáz. Pravidelné kontroly pacienta, pomocou fyzikálneho vyšetrenia a zobrazovacích metód, do súčasnosti nepreukázali rekurenciu ochorenia. **Záver:** Po spracovaní literárnych údajov autori analyzujú rizikové faktory, ktoré mohli viesť k vzniku ochorenia.

Kľúčové slová

paratestikulárny mezotelióm – tunica vaginalis testis – orchiektómia – azbest

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.



Bela Mrinakova, MD

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

Submitted/Obdrženo: 16. 5. 2012

Accepted/Přijato: 4. 6. 2012

Introduction

Malignant mesothelioma is a neoplasm arising in body cavities lined by mesothelium. A type of malignant mesothelioma is based on the section of the mesothelium that it affects. The majority of these tumors are found in the pleura, peritoneum and less frequently pericardium. Paratesticular mesothelioma is the most rare known form of malignant mesothelioma, first described by Barbera and Rubino in 1957, accounting around 0.3–1.4% of all malignant mesotheliomas [1]. To date, less than 250 cases of this type of mesothelioma have been reported worldwide. Asbestos exposure is a major known risk factor in pathogenesis of the tumor. Possible association between radiation therapy and subsequent development of malignant mesothelioma is also suggested. Most of the paratesticular mesotheliomas affect the section of the mesothelium of the tunica vaginalis testis, there are only a few cases of tumors arising in the meso-spermatic cord and epididymis. In the literature review most patients are older than 50 years at the time of their diagnosis. Only about 10% of diagnosed males were younger than 25 years and less than 7% under the age of 20 [1,2]. Patients in general present with a hydrocele or hernia, sometimes accompanied with acute pain syndrome. Palpable masses in scrotum with an insignificant accumulation of serous fluid are also possible. Testes of both sides are equally affected and bilateral or simultaneous tunical involvement has also been observed. A history of asbestos exposure is found in 35–40% of these cases [1,3,4]. Diagnosis is predominantly postoperative, determined by pathologic examination. Clinical differential diagnosis consists of hydrocele, testicular tumors, inflammatory process such as epididymitis, inguinal and scrotal hernia or peritoneal mesothelioma in hernia. There are not characteristic features that can help to differentiate the tumor by clinical examination [5]. Imaging studies can help to identify tunical surface irregularities, soft tissue masses and fluid accumulation. Conventional ultrasound and Doppler ultrasound are most appropriate imaging modalities for primary

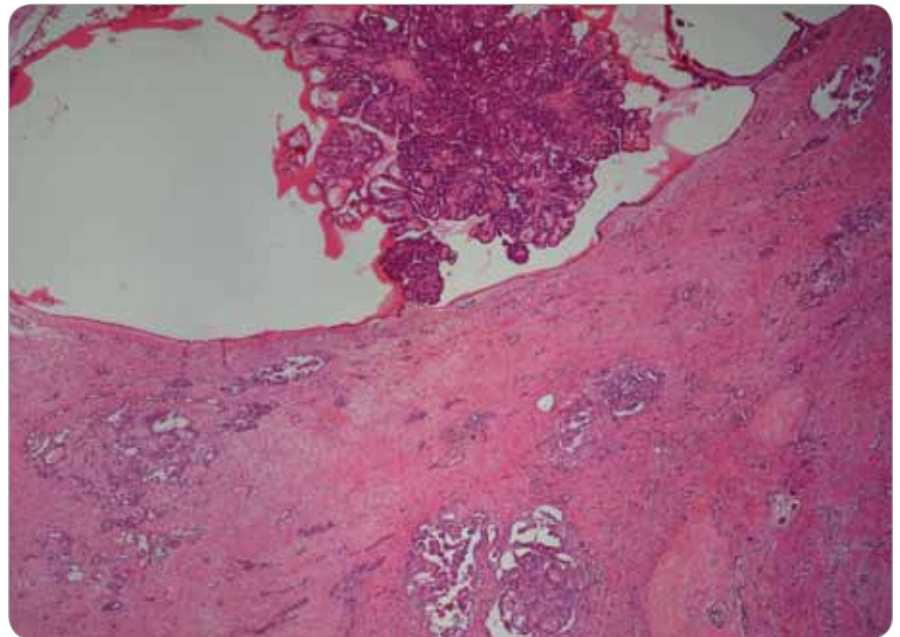


Fig. 1. Histological features of the malignant mesothelioma. Papillary formations are seen in the upper part of the picture, and infiltrative structures are visible in its lower part (H&E; magnification 40×).

tumor, whereas CT and MRI can help to discover lymph node involvement (predominantly paraaortal or pelvic) and distant metastases [1,6]. According to literature data the Tc-99m heat-denatured red blood cell scintigraphy can also reveal the primary tumor [7]. Invasive

diagnostic procedures were not performed frequently in published cases. Aspiration of hydrocele fluid can reveal malignant cells, ultrasound guided FNA of visible masses is more accurate [6,8,9]. There were cases of preoperative diagnosis based on fine needle aspiration

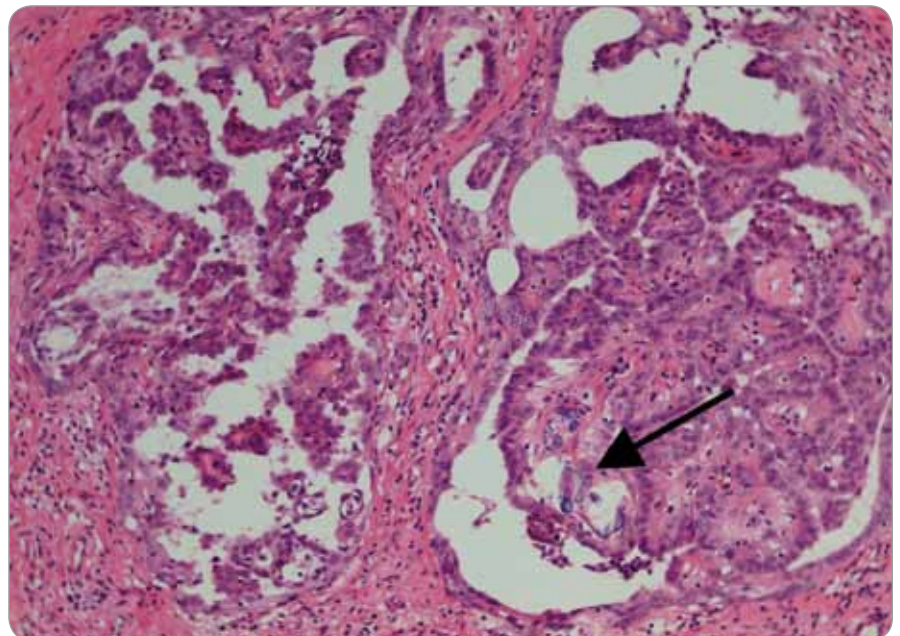


Fig. 2. Detail on the tubular and papillary structures with psammomatous bodies (arrow). (H&E; magnification 200×).

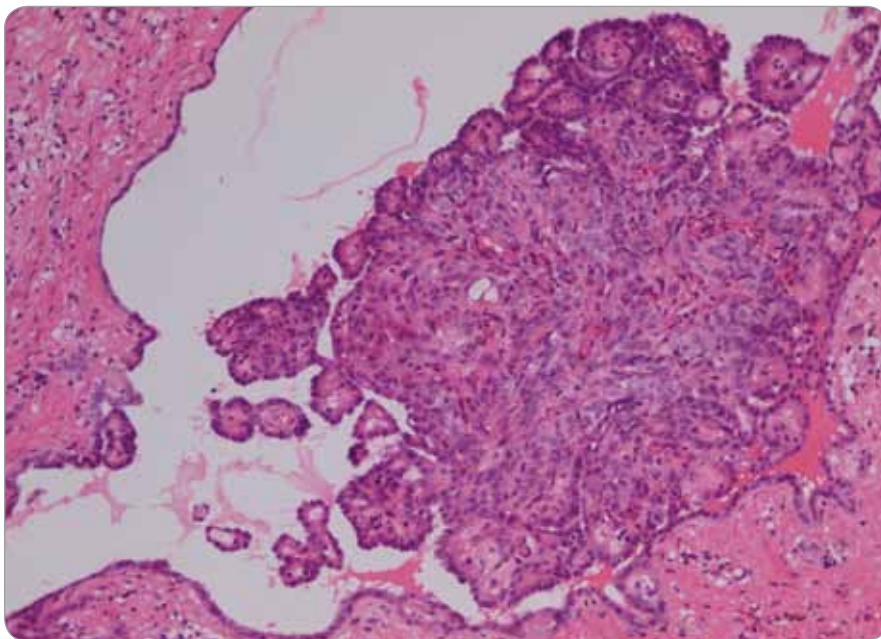


Fig. 3. Detail on the papillary formations. (H&E; magnification 200x).

of the retroperitoneal lymph node metastases [1]. Histo-pathological features of paratesticular mesotheliomas are similar to pleural or peritoneal [10]. In general tumors are epithelial, sarcomatous or mixed. Epithelial types are the most frequent while pure sarcomatous types are very rare. Invasion of subcutaneous connective tissue, testis, epididymis

and other intrascrotal structures is documented in one third of the cases [1,11]. Paratesticular malignant mesotheliomas have capability of local spread as well as lymphatic and hematogenous metastatic potential. Recurrence occurs in 60% of cases within two years, with median survival of 24 months [1]. The overall prognosis is slightly better in com-

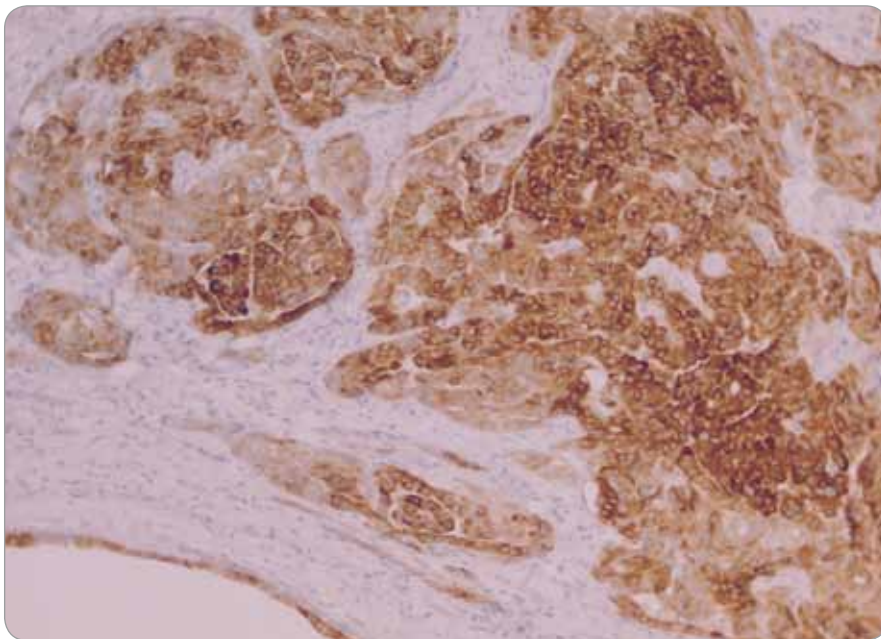


Fig. 4. Immunohistochemical detection of calretinin in the tumorous cells (magnification 400x).

parison with other mesothelioma types, probably because of the early symptom presentation and availability of effective surgical intervention. The aggressiveness of this tumor type requires the first line of surgical treatment – radical inguinal orchiectomy with a lesser local recurrence rate than a more conservative approach [1,12,13]. Systemic treatment such as chemotherapy shows only a little effectiveness. Radiation therapy was also performed as stated in various case studies. Unfortunately reliable guidelines can not be determined due to very limited number of patients.

Case Presentation

20-year old man presented to a regional department of urology with a 9 months history of painless hydrocele of the left testis. Patient had a history of severe motorcycle accident with the injury of the lower extremities and pelvic area three months before the onset of symptoms, history of an infection was denied. Diagnosis of post-traumatic hydrocele was suspected at the time of patient's admission to the hospital. Physical examination revealed left-side hydrocele, his right testis was normal. No lymph nodes were palpable in the inguinal regions. Laboratory findings were completely within reference values, including testicular tumor markers, AFP and β hCG. Marsupialization of hydrocele was indicated. Peri-operatively a rupture of tunica albuginea had happened and revealed numerous small exophytic structures that were sampled by the surgeon and sent for pathological analysis. Histological findings were suggestive of an epithelial type of malignant mesothelioma. Tumor cells were growing in tubular and papillary growth pattern and occasional psammomatous bodies were present (Fig. 1–3). In addition, immunohistochemical profile confirmed the mesothelial origin of the tumor cells because they showed positivity for cytokeratin 7, vimentin, EMA, calretinin (Fig. 4) and were negative for CEA, inhibin, oestrogen and progesterone receptor.

MRI that was performed describes residual fluid collection in post-operative region and minimal right-side hydrocele. Laterally to left testis in soft tissues of the

scrotum multiple small hyperintensive areas were visualised. Displayed inguinal and pelvic lymph nodes were oval shaped, 17–22 mm in diameter, there was no retroperitoneal lymphadenopathy described. Surgical revision was performed three months later including left-side inguinal orchiectomy, inguinal and pelvic lymph node dissection. Histology confirmed the diagnosis of malignant mesothelioma with epithelial characteristics and infiltrative growth in tunica vaginalis. In addition, foci of regressive changes such as giant cells granulomas and old haemorrhage were present. Pelvic lymph nodes were negative for tumor cells, reactive histiocytosis was identified in inguinal lymph nodes, a cluster of tumor cells was found outside the nodes in inguinal fat tissue. The material was sent for second opinion examination that confirmed diagnosis. Post-operative staging CT of the chest, abdomen and pelvis revealed no evidence of metastasis. In paraaortal region marginal multiplication of the lymph nodes was described, individual nodes were under a suspicious size. Laboratory findings remained completely within reference values, including multiple tumor markers. Post-operative radiotherapy and chemotherapy in patient with no evidence of residual disease was not indicated. Regular follow-up every 6 months with physical examination and imaging studies are to date relapse free and patient remains in complete remission after surgical treatment for 41 months.

Discussion

Malignant mesothelioma of the tunica vaginalis is extremely rare primary tumor. The nonspecific symptoms, limited experiences with ultrasound imaging of the mesothelioma features in paratesticular region and wide range of more common diseases in differential diagnosis are probably the reason of minimal pre-operative suspicion of mesothelioma. Diagnosis is almost exclusively accidental. Definitive diagnosis of malignant mesothelioma is possible only on bioptical examination and the differential diagnosis includes reactive mesothelial hyper-

plasia, rete testis adenocarcinoma, ovarian type (serous) carcinoma, metastatic adenocarcinoma and epididymal carcinoma [14]. Malignant mesothelioma may be distinguished from other entities on macroscopic and microscopic features in most cases. Immunohistochemistry plays helping role in challenging cases, for example calretinin is one of the mesothelioma-related markers, which is not expressed in carcinomas of paratesticular localisation. Paratesticular malignant mesothelioma is characteristic of forming ill-defined neoplastic tissue coating or involving the tunica vaginalis in multifocal fashion. On the other hand, rete testis carcinoma and epididymal carcinoma are usually forming solitary mass with destructive infiltration of paratesticular and testicular tissue. Microscopically, architectural features, as complex tubulopapillary proliferation with extensive destruction and confluent infiltration and marked cytologic atypia, are typical for malignant mesothelioma in contrast to reactive mesothelial hyperplasia. Metastatic carcinomas are frequently bilateral and multifocal, and characteristically associated with vascular-lymphatic and interstitial invasion, in patients with a history of primary carcinoma. Most patients with paratesticular mesothelioma are older than 50 years at the time of diagnosis and only less than 7% of diagnosed patients are under age of 20 such as described case [1]. While long-term hydrocele, trauma and hernia are suspected risk factors for developing paratesticular mesothelioma, the only causative risk factor remains asbestos exposure [1,3,4]. There is currently no theory to explain why asbestos exposure might cause a primary tumor to develop in the paratesticular region but we assume that asbestos fibers can deposit in various organs after exposure and result in the development of mesothelioma. After the confirmation of the diagnosis in presented patient, who had a history of both trauma and long-term hydrocele, we also targeted a search for asbestos exposure. We found a link to illegal asbestos dump near patient's habitation, moreover it was located near the

well used for drinking water. This was reported to the legal authorities. First line surgical treatment usually performed as radical inguinal orchiectomy in localized disease plays determinative role in prognosis of patient. Chemotherapy and radiotherapy shows only a little effectiveness and there is understandable lack of evidence-based data for adjuvant treatment. In our case we decided for the regular follow-up based on physical examination and CT imaging with contrast agent. Various markers for mesothelioma such as MesoMerck can be tested. Unfortunately reliable guidelines can not be determined due to very limited number of patients.

References

1. Bisceglia M, Dor DB, Carosi I et al. Paratesticular mesothelioma. Report of a case with comprehensive review of literature. *Adv Anat Pathol* 2010; 17(1): 53–70.
2. Jones MA, Young RH, Scully RE. Malignant mesothelioma of the tunica vaginalis. A clinicopathologic analysis of 11 cases with review of literature. *Am J Surg Pathol* 1995; 19(7): 815–825.
3. Pesatori AC, Mensi C. Peculiar features of mesothelioma occurrence as related to exposure patterns and circumstances in the Lombard Region, Italy. *Med Lav* 2005; 96(4): 354–359.
4. Hatzinger M, Häcker A, Langbein S et al. Malignant mesothelioma of the testes. *Aktuelle Urol* 2006; 37(4): 281–283.
5. Winstanley AM, Landon G, Berney D et al. The immunohistochemical profile of malignant mesotheliomas of the tunica vaginalis: a study of 20 cases. *Am J Surg Pathol* 2006; 30(1): 1–6.
6. Mak CW, Cheng TC, Chuang SS et al. Malignant mesothelioma of the tunica vaginalis testis. *Br J Radiol* 2004; 77(921): 780–781.
7. Chollet Y, Hauser P, Da Silva T et al. Well-differentiated papillary mesothelioma of the tunica vaginalis testis: imaging on Tc-99m heat-denatured red blood cell scintigraphy. *Clin Nucl Med* 2008; 33(4): 282–284.
8. Goel A, Agrawal A, Gupta R et al. Malignant mesothelioma of the tunica vaginalis of the testis without exposure to asbestos. *Cases J* 2008; 14(1): 310.
9. Bruno C, Minniti S, Procacci C. Diagnosis of malignant mesothelioma of the tunica vaginalis testis by ultrasound-guided fine-needle aspiration. *J Clin Ultrasound* 2002; 30(3): 181–183.
10. Lloreta-Trull J. Extrathoracic mesothelial proliferations and their mimics. *Ultrastruct Pathol* 2006; 30(1): 37–51.
11. Plas E, Riedl CR, Pflüger H. Malignant mesothelioma of the tunica vaginalis testis: review of literature and assessment of prognostic parameters. *Cancer* 1998; 83(12): 2437–2446.
12. Thomas C, Hansen T, Thüroff JW. Malignant mesothelioma of the tunica vaginalis testis. *Urologe A* 2007; 46(5): 538–540.
13. Al-Qahtani M, Morris B, Dawood S et al. Malignant mesothelioma of the tunica vaginalis. *Can J Urol* 2007; 14(2): 3514–3517.
14. Amin MB. Selected other problematic testicular and paratesticular lesions: rete testis neoplasms and pseudotumors, mesothelial lesions and secondary tumors. *Mod Pathol* 2005; 18 (Suppl 2): S131–S145.

Léčba nízkostupňového gliomu supratentoriální oblasti mozku po neurochirurgické subtotální resekci s projevy objemového up-gradingu

Treatment For Volume Upgrading of the Low-Grade Supratentorial Glioma After the Subtotal Neurosurgical Resection

Třebický F.¹, Kubeš J.¹, Bartoš R.², Malucelli A.², Sameš M.², Navrátil M.³, Vondráček V.³, Medková S.³, Mašek M.⁴, Zárubová J.⁵

¹ Ústav radiační onkologie, 1. LF UK a Nemocnice Na Bulovce, Praha

² Neurochirurgická klinika, UJEP a Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem

³ Radiofyzikální oddělení, 1. LF UK a Nemocnice Na Bulovce, Praha

⁴ Radiodiagnostická klinika, 1. LF UK a Nemocnice Na Bulovce, Praha

⁵ Neurologická klinika, Thomayerova nemocnice, Praha

Souhrn

Východiska: Nízkostupňové gliomy WHO grade II (LGG) se v dospělé populaci nejčastěji projevují mezi 20. a 45. rokem života epileptickým záchvatem. Prezentujeme kazuistiku 2 pacientů, u kterých ložiska LGG zasahovala do elokventních oblastí, v nichž by další pokračování neurochirurgického resekcí výkonu znamenalo poškození kognitivních a neurologických funkcí pacienta. Po operaci byli pacienti sledováni v pravidelných intervalech klinických kontrol na neurochirurgické ambulanci a pomocí zobrazovacích vyšetření (MRI, MRS a PET). U obou pacientů došlo k objemové progresi ložisek bez možnosti další neurochirurgické intervence, která by zajistila radikalitu výkonu. **Soubor pacientů a metody:** Vzhledem k riziku i up-gradingu nádoru (overexpres EGFR a VEGF) byli oba pacienti indikováni ke kurativní kombinované léčbě zevní radioterapií s potenciací temozolomidem (Temodal®) a následné adjuvantní chemoterapii. **Výsledky:** U obou pacientů po dokončení kombinované léčby došlo na MRI k výrazné objemové regresi ložisek nádorů a v dalším odstupu 3 měsíců byly na MRI oba případy hodnocené bez známek nádorového residua. **Závěr:** Indikace kombinované léčby může stabilizovat progresi LGG, uchránit pacienta od up-gradingu nádoru mozku do stupně IV, a může tak výrazně prodloužit celkové přežití pacienta (OS) i dobu do progresu (TTP). Oba pacienti jsou nadále sledováni i z hlediska prevence duplicitního nádorového onemocnění nervové tkáně.

Klíčová slova

nádorové onemocnění nervové tkáně – gliomy – grading nádoru – chemoterapie – temozolomid – radioterapie

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. Ferdinand Třebický

Ústav radiační onkologie 1. LF UK
a FN Na Bulovce
Na Truhlárce 100
180 00 Praha 8
ferdinand.trebicky@fnb.cz

Obdrženo/Submitted: 7. 12. 2011

Přijato/Accepted: 27. 7. 2012

Summary

Background: Low-grade gliomas WHO II (LGG) are mostly detected in patients with neurological symptomatology between 20 and 45 years of age very often as secondary epilepsy. We present two cases in which low-grade gliomas attacked neurological zones. Neurosurgical resection was subtotal because of the risk of the damage in neurocognitive functions in both these patients. After the operation, both patients were followed at neurosurgery department in regular intervals using different imaging methods (MRI, MRS and PET). After resections, the MRI detected the enlargement of the volumes of the tumor residua in both patients. **Patients and methods:** Owing to the risk of up-grading to high-grades glial tumors (overexpression of EGFR and VEGF), both patients were indicated for curative treatment by external beam radiotherapy combined with chemotherapy (Temodal®) and adjuvant chemotherapy. **Results:** After the end of this treatment, the MRI proved considerable partial regressions in both patients. Moreover, three months later, the MRI did not prove any residual disease. **Conclusion:** Radiotherapy combined with the administration of Temodal should prolong the OS and TTP in patients with a high risk of up-grading of low-grade gliomas of the brain. Both the patients are in a follow-up program, also because of the risk of duplicate brain tumor.

Key words

brain tumor – glioma – tumor grading – chemotherapy – temozolomide – radiotherapy

Úvodem

Nízkostupňové gliomy WHO grade II [1,2] jsou diagnostikovány nejčastěji v období mezi 20. a 45. rokem života, nejčastějším projevem bývá epileptický záchvat. Pacienti jsou nejčastěji indikováni k neurochirurgické resekci s cílem dosáhnout maximální objemové radikality [3] nebo k léčbě antiepileptiky s cílem dosáhnout remise epileptických obtíží a poté následuje sledování pacienta. Rizikem je u těchto pacientů rychlá progresie objemu nádoru s potenciální verzí onemocnění na vyšší grade gliálního nádoru (anaplastický gliální nádor nebo glioblastom) s podstatně nižší lokální kontrolou nemoci po léčbě a kratším intervalem přežití pacienta [4–6]. Postup na vyšší grade nemoci je vždy spojený s genetickými mutacemi na 10., 17. a 22. chromozomu s následky overexpresce receptorů EGFR a VEGFR. Cílem léčby je u těchto případů snížení rizika verze nemoci na vyšší grade, prodloužení celkové doby přežití pacienta, navýšení lokální kontroly nemoci a stabilizace jeho neurologických obtíží. Pacienti musejí být následně sledováni z důvodu rizika stimulace duplicitního nádorového onemocnění nervové tkáně.

Souhrn pacientů

Na ambulanci onkologického oddělení byli v období dubna až července 2011 konzultováni dva pacienti, muž 33 let a žena 45 let. Muž byl v roce 2003 operovaný v celkové anestezii pro smíšený difúzní oligoastrocytom gr. II frontálně vlevo, byla provedena radiograficky radikální resekce. V roce 2008 byla pro

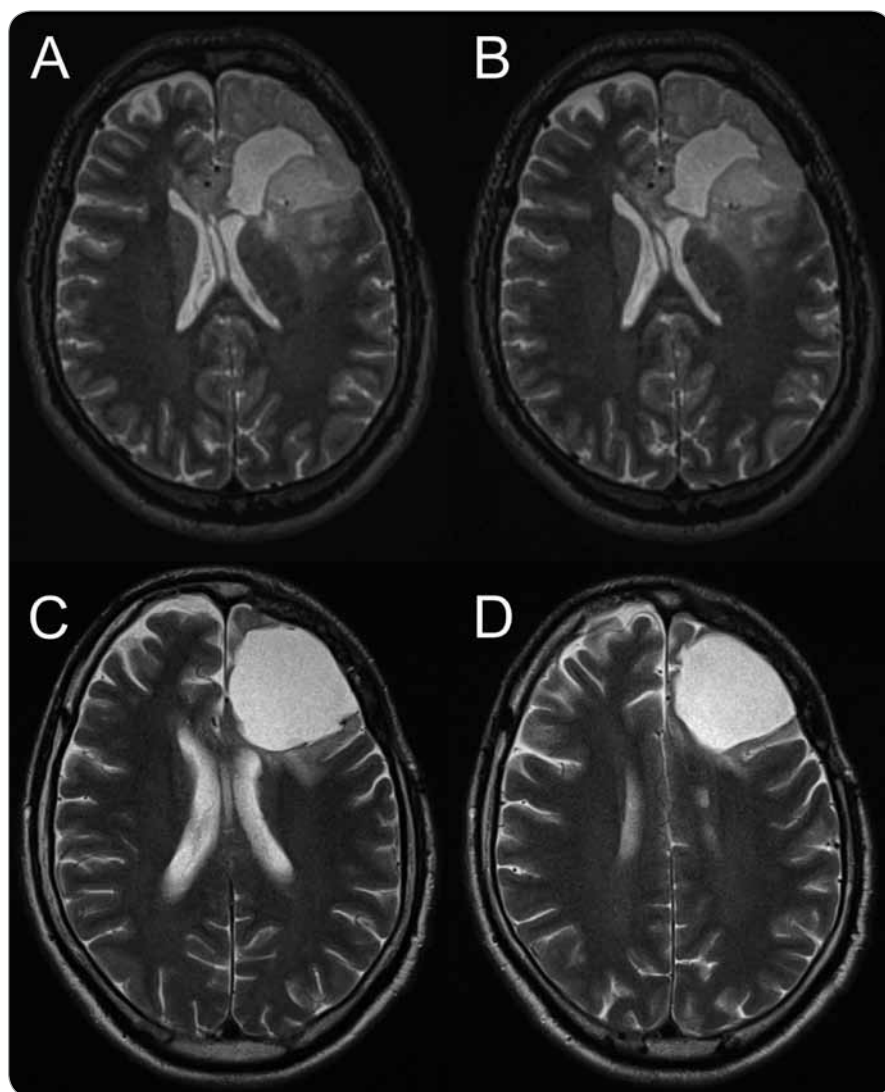
progresi nádoru provedena awake resekce s monitorací řečových funkcí [7], vzhledem k infiltraci elokventní oblasti již pouze subtotální, histologicky byl verifikovaný identický grade nádoru. Pacient byl sledovaný v pravidelných intervalech, na MRI v roce 2011 se známkami objemového zvětšení ložiska bez syčení kontrastní látkou. Byla provedena MRS multivoxel technikou; Volume of Interest byl zvolen tak, aby obsahoval celou postresekční dutinu a její okolí. Spektra z oblasti residua neukázala jasné známky malignity, samotné zvýšení cholinu bez výrazného poklesu N-acetyl aspartátu odpovídalo původní histologické diagnóze expanze nižšího stupně. Neurochirurgický výkon by nebyl radikální, případně by s sebou nesl velké riziko poruchy řečových funkcí. Pacientovi byla pro riziko up-gradingu nádoru nabídnuta kurativní chemoradioterapie, se kterou vyjádřil souhlas. V době indikace byl pacient bez jakékoli poruchy neurokognitivních funkcí.

Ženě ve věku 45 let sledované po subtotální resekci fibrilárního astrocytomu inzuly vpravo, gr. II, byla již v roce 2010 pro riziko objemové progresie nabídnuta možnost radioterapie, pacientka souhlasila pouze se sledováním ložiska. V roce 2011 došlo na MRI k další objemové progresi, bez známek patologického syčení kontrastní látkou, pacientka byla bez neurologického deficitu. Pro další progresi objemu nádoru jí opět byla nabídnuta kurativní chemoradioterapie, se kterou již vyjádřila souhlas.

Léčba pacientů

Oba pacienti indikovaní k léčbě zevní aktinoterapií [7–9] z důvodu rizika up-gradingu nízkostupňového nádoru a byli zařazeni do skupiny léčby gliálních nádorů gr. III (anaplastické nádory gliální). Plánování léčby zevní aktinoterapií bylo zahájeno dle standardu léčby mozkových nádorů vyššího stupně (gr. III–IV) v Ústavu radiační onkologie, FNBPraha. Uložení pacientů proběhlo v supinální poloze, fixace hlavy byla provedena pomocí fixačního můstku pro ozáření lokality hlavy a krku (Agmeco, a. s.) a byly použity fixační termoplastové masky (Orfit®). Konturace objemů byla zajištěna pomocí plánovacího CT (Siemens) s užitím kontrastní látky a fúzí s aktuálním obrazem T1 s kontrastní látkou na MRI. Byly stanoveny objemy [3] GTV (nádorové residuum a resekční dutina), CTV1 (expanze 5 mm + 20 mm zevně od okraje GTV pro přítomnost úzkého lemu perifokálního edemu) a CTV2 (expanze 5 + 5 mm od zevního okraje GTV), PTV1 (5mm expanze od zevního okraje objemu CTV1) a PTV2 (5 mm od zevního okraje objemu CTV2). Dále byly provedeny konturace rizikových orgánů (kmen mozku, optické chiasma, oba optické nervy, pomocné struktury oka – retina, oční čočka oboustranně, struktury očí – slzné žlázy, sluchový aparát oboustranně, proximální mícha a parotické žlázy, vedlejší dutiny nosní a ústní dutiny).

Parametry k plánování byly předány na oddělení plánování léčby, kde na plánovacím systému Eclipse Varian® byly stanoveny ozařovací techniky. Pro



Obr. 1. A, B) T2W MRI pacienta s gliomem F sin v době progresu objemu neenhancujícího LGG, bez suspektního up-grade dle MRS. C, D) T2W MRI po kombinované chemoradioterapii s dobrou reakcí a regresí T2 hyperintenzity.

muže z důvodu anatomického uložení GTV a z důvodu expanze objemů byla užita izocentrická technika ozáření pomocí svazků s modulovanou intenzitou (IMRT), dodaná pomocí sliding windows MLC, pro ženu byla stanovena izocentrická koplánární ozařovací technika stacionárních svazků s klínovými filtry. Dávky pro PTV1 byly stanoveny v rozsahu 4 600 a 5 000 cGy a pro PTV2 1 400 a 1 000 cGy normofrakčním režimem. Dávky byly předepsané na 90% izodozu při normalizaci do maxima v cílovém objemu. Dávkové limity u rizikových orgánů byly dodrženy, pouze u muže byl překročen limit pro sluchový aparát na postižené straně.

Pro chemoterapii [10,11] byla stanovena volená medikace Temodal® v dávce 75 mg/m² p.o. denně po celý průběh léčby, oba pacienti splnili indikační kritéria pro podání chemoterapie temozolomidem.

Průběh léčby

V průběhu léčby pacientů nedošlo k projevům poškození kognitivních funkcí ani k projevům epileptickým. U pacientky jsme pozorovali retardaci psychomotorického tempa, jehož porucha se upravila do 3 měsíců po dokončení chemoradioterapie. Hematologická toxicita nebyla u muže přítomna po celou dobu léčby, u ženy byla léčba

ukončena posledním týdnem chemoradioterapie pro hraniční leukopenii v souladu s projevy zpomalení psychomotorického tempa. Objevily se projevy standardní epilaxe vlasové pokrývky, reakce na spojivkách nepřesáhla grading II dle škály akutních reakcí dle RTOG a byla kompenzována lokálními antibiotiky a umělými slzami. Pacienti byli sledováni v pravidelných intervalech na oční ambulanci. Jiné toxické projevy léčby nebyly přítomny. Oba pacienti dokončili radioterapii do stanovené dávky 6 000 cGy a byli konzultováni na ambulanci s odstupem 4 týdnů s výsledky hematologickými, biochemickými a nálezy MRI.

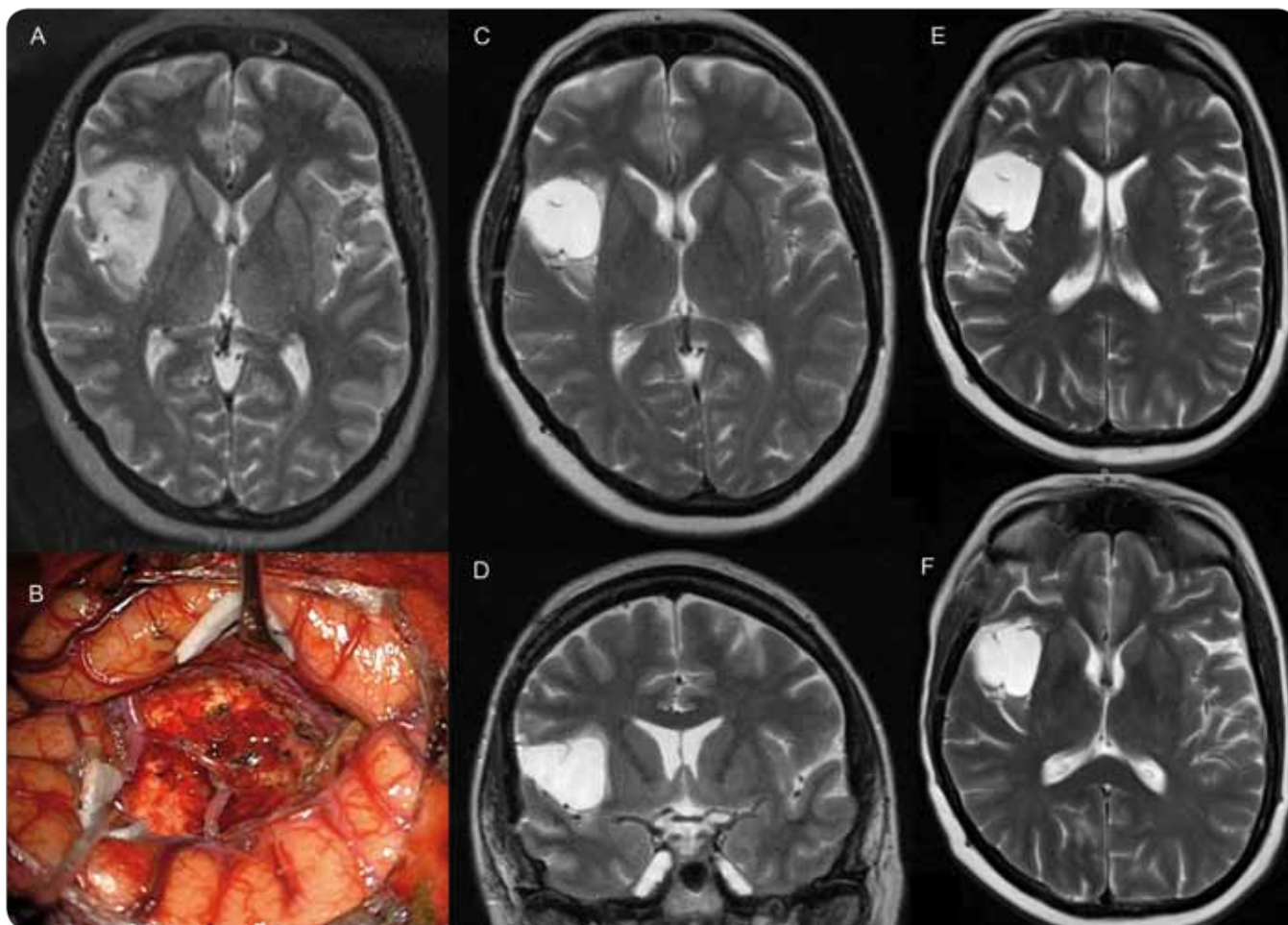
Výsledky léčby pacientů

Oba pacienti byli vyšetřeni na pracovištích MRI, kde jsou pravidelně sledováni, muž 5 měsíců od první konzultace a žena 4 měsíce od konzultace. U obou pacientů došlo k výrazné objemové regresi nádorového rezidua. U žádného z pacientů nedošlo k poruše kognitivních funkcí, muž pokračuje v [11,12] adjuvantní chemoterapii Temodalem® dle protokolu v standardní dávce 200 mg/m² p.o. D 1–5 v intervalu 28 dnů, žena pro trvající hraniční hodnoty bílé krevní řady adjuvantní chemoterapii odmítla a je nadále sledována.

Diskuze

Gliální nádory mozku nízkého stupně u pacientů středního věku jsou velmi kontroverzním tématem [12]. Věková hranice maligního zvratu nízkostupňového gliálního nádoru mozku nebo období projevů vysokostupňových nádorů mozku se pohybují v rozmezí 45. až 55. roku života pacientů dle dat Národního onkologického registru [6,7]. Kontroverznost a obtížnost rozhodování o léčbě u těchto pacientů může být ztížena samotnou pozicí nádoru nebo případnými komorbiditami pacienta [4] znemožňujícími kompletní resekci tumoru při známkách grafické objemové progresy [3] a histologickou verifikací nádoru.

Vzhledem k objemové, graficky verifikované progresi nádorů u zmiňovaných pacientů a k věku pacientů byl volen radikální přístup léčby jako u pa-



Obr. 2. A) předoperační T2W MRI pacientky s insulárním nízkostupňovým gliomem vpravo typu dle Yaşagila 3A. B) intraoperační fotografie, dokumentující technickou náročnost resekci nádorů v insule (operkulum, větvení arteria cerebri media). C, D) T2W MRI zobrazující residuum nádoru v oblasti horního periinsulárního sulku, v přední a zadní části insuly. E, F) T2W MRI po kombinované chemoradioterapii s dobrou reakcí a regresí T2 hyperintenzity.

cientů s projevy a diagnózou vysoko-stupňového gliálního nádoru mozku. U obou pacientů došlo k výrazné léčebné odpovědi nádorových ložisek bez projevů poruch kognitivních funkcí.

Pro zkvalitnění rozhodovacího procesu o léčbě nebo pouhé dispenzaci pacientů s projevy nízkostupňového gliálního nádoru mozku, zvláště u pacientů bez přítomnosti projevů epilepsie před chirurgickým výkonem [5] nebo u pacientů s nepříznivým umístěním nádoru, může být výhodou jejich pravidelná monitorace zobrazovacími metodami (MRI, MRI + spektroskopie, FLT + FDG PET/CT). K diskuzi o dalším zkvalitnění rozhodovacího procesu a prognóze pacientů by mohlo přispět i klinické sledování skupiny pacientů

s objemovou progresí nízkostupňových gliálních nádorů mozku.

Závěr

U obou pacientů s diagnózou LGG se známky objemové progresie neindikované vzhledem k elokvenci k neurochirurgické resekci došlo po kombinované léčbě radioterapií a potencionální chemoterapií k výrazné regresi nádoru až ke stupni kompletní remise nádorového residua. Chemoradioterapie indikovaná u objemových progresí nízkostupňových gliálních nádorů může mít vliv na stabilizaci onemocnění a zablokovat verzi nádoru [6] na vyšší grade s nepříznivou prognózou OS a TTP. Pacient pokračuje v léčbě adjuvanční chemoterapií a pacientka je v programu sledování po onkologické léčbě. Oba pacienti jsou

sledováni pomocí MRI a u obou je plánováno vyšetření zobrazující metabolické funkce (FDG-FLT-PET/CT). Oba pacienti musejí být i v případě dosažení kompletní remise a stabilizace onemocnění dlouhodobě onkologicky sledováni kvůli riziku duplicitního nádorového onemocnění nervové tkáně mozku, obalů mozku a oblasti hlavy a krku.

Literatura

1. Grier J, Batchelor T. Low-Grade Gliomas in Adults. *The Oncologist* 2006; 11(6): 681–693.
2. Pignatti F, van den Bent M, Curran D. European Organization for Research and Treatment of Cancer Brain Tumor Cooperative Group; European Organization for Research and Treatment of Cancer Radiotherapy Cooperative Group. Prognostic Factors for Survival in Adult Patients With Cerebral Low-Grade Glioma. *J Clin Oncol* 2002; 15(20): 2076–2084.
3. Combs SE, Thilmann C, Edler L et al. Efficacy of Fractionated Stereotactic Irradiation in Recurrent Gliomas:

Long-Term Results in 172 Patients Treated in a Single Institution. *J Clin Oncol* 2005; 23(34): 8863–8869.

4. Shaw E, Arusell R, Scheithauer B et al. Prospective Randomized Trial of Low – Versus High-Dose Radiation Therapy in Adults With Supratentorial Low-Grade Glioma: Initial Report of a North Central Cancer Treatment Group/ Radiation Therapy Oncology Group/Eastern Cooperative Oncology Group Study. *J Clin Oncol* 2002; 20(9): 2267–2276.

5. van Veelen M L, Averzaat C J, Kros J M et al. Supratentorial low grade astrocytoma: prognostic factors, dedifferentiation, and the issue of early versus late surgery. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1998; 64(5): 581–587.

6. Shafgat S, Hedley-Whyte ET, Henson JW. Age-dependent rate of anaplastic transformation in low-grade astrocytoma. *Neurology* 1999; 52(4): 867–869.

7. Bauman G, Fisher B, Watling C. Adult Supratentorial Low-Grade Glioma: Long-Term Experience at a Single Institution. *Int J Radiat Biol Phys* 2009; 75(5): 1401–1407.

8. Perez CA, Brady LW (eds). Principles and practice of radiation oncology. Philadelphia: JB Lippincott Williams & Wilkins 2008: 737–740.

9. van den Bent MJ, Afra D, de Witte O et al. EORTC Radiotherapy and Brain Tumor Groups and the UK Medical Research Council. Long-term efficacy of early versus delayed

radiotherapy for low-grade astrocytoma and oligodendroglioma in adults: the EORTC 22845 randomised trial. *Lancet* 2005; 366(9490): 985–990.

10. Stupp R, Hegi E, Gilbert MR et al. Chemoradiotherapy in Malignant Glioma: Standard of Care and Future Directions. *J Clin Oncol* 2007; 25(26): 4127–4136.

11. Stupp R, Gander M, Leyvraz S et al. Current and future development in the use temozolomide for the treatment of brain tumors. *Lancet Oncol* 2001; 2(9): 552–560.

12. Pace A, Vidiri A, Galiè E et al. Temozolomide chemotherapy for progressive low-grade glioma: clinical benefits and radiobiological response. *Ann Oncol* 2003; 14(12): 1722–1726.

Informace z České onkologické společnosti

Zápis ze schůze výboru České onkologické společnosti dne 19. 6. 2012 v Pardubicích naleznete na www.linkos.cz.

Klinický registr RENIS

Poprach A.¹, Büchler T.², Bortlíček Z.³, Dušek L.³, Vyzula R.¹

¹ Klinika komplexní onkologické péče, Masarykův onkologický ústav, Brno

² Onkologická klinika, 1. LF UK a Fakultní Thomayerovy nemocnice, Praha

³ Institut biostatistiky a analýz, LF a PřF MU Brno

Incidence a mortalita zhoubných nádorů ledvin jsou v České republice jedny z nejvyšších na světě. V roce 2009 byla incidence v České republice 26,94/100 000 obyvatel a mortalita 10,9/100 000 obyvatel. Téměř 40 % pacientů má onemocnění zjištěno v metastatickém či lokálně pokročilém stadiu.

Přibližně 70–75 % pacientů s renálním karcinomem má světlóbněný typ karcinomu, 10 % papilární typ, chromofobní karcinom najdeme u 5 % pacientů, zbytek tvoří další histologické podtypy. Základem systémové léčby metastatického či lokálně pokročilého inoperabilního renálního karcinomu (MRC) byla do nedávné doby imunoterapie (interferon alfa a/nebo interleukin-2), někdy v kombinaci s cytostatiky (režim dle Atzpodienu či jeho různé modifikace). Samotná cytostatická léčba (5-fluorouracil, gemcitabin či vinblastin) měla marginální efekt. V současné době máme pro léčbu MRC preparáty, které více či méně cíleně zasahují do nitrobuněčných signálních drah či vážou extracelulární signální molekuly důležité v procesu kancerogeneze

(cílená terapie). V červnu 2012 je v České republice k dispozici celkem 6 preparátů s prokázanou účinností u MRC: sunitinib, sorafenib, pazopanib, bevacizumab, temsirolimus a everolimus. Jejich indikace a podávání je vázáno na 20 pracovišť se statutem komplexního onkologického centra. O podání preparátu pacientovi rozhoduje klinický onkolog na základě doporučených postupů, indikačních omezení a způsobu úhrady z prostředků veřejného pojištění.

Klinický registr RENIS byl založen v červnu 2007. Jeho posláním je sběr klinických a epidemiologických dat o pacientech s MRC či lokálně pokročilým inoperabilním karcinomem ledviny léčených cílenou léčbou v České republice. Anonymní data umožňují monitoraci nejen demografických parametrů pacientů, ale i způsobu léčby, nežádoucích účinků jednotlivých preparátů, léčebné odpovědi a parametrů přežití. Registr slouží k vědeckým a klinickým účelům a umožňuje nejen retrospektivní analýzy (např. studium možných prediktivních či prognostických faktorů karcinomu led-



MUDr. Alexandr Poprach

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

Obdrženo/Submitted: 9. 7. 2012

viny, efekt různých sekvencí cílené terapie atd.), ale je i účinným nástrojem pro plánovače a plátce zdravotní péče, protože umožňuje predikci počtu pacientů s MRC v blízké budoucnosti.

Ke dni 26. 3. 2012 bylo do databáze registru zařazeno 1 736 pacientů. Toto číslo neodráží všechny pacienty s MRC léčené v České republice od roku 2007 (část pacientů je léčena v různých studiích, další nejsou k cílené terapii vhodní z nejrůznějších důvodů, nelze opomenout, že část pacientů není vůbec k léčbě do komplexního onkologického centra odeslána). Počty pacientů dle roku za-

Tab. 1. Počty pacientů dle roku zahájení léčby jednotlivými preparáty.

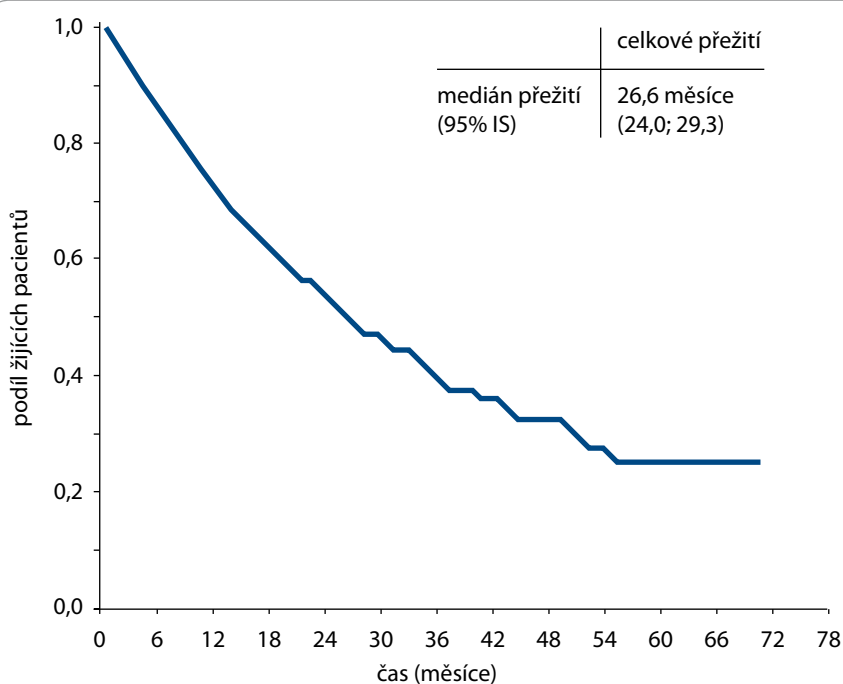
Rok zahájení léčby	sunitinib	sorafenib	everolimus	temsirolimus	pazopanib	bevacizumab	celkem
2006	15	2	0	0	0	0	17
2007	125	107	0	0	0	0	219
2008	213	168	0	0	0	1	304
2009	266	180	15	12	0	13	364
2010	327	168	36	27	0	11	364
2011	313	110	184	11	24	17	388
2012*	54	14	35	1	22	3	80
celkem#	1 313	749	270	51	46	45	1 736

*Jedná se o údaj aktuální k 26. 3. 2012.

#Součet v rámci jednoho řádku se nerovná počtu pacientů ve sloupci „celkem“. Pacienti mohli být léčeni již v předchozích letech jiným ze sledovaných preparátů a/nebo v rámci jednoho roku zahájili léčbu více preparáty.

Tab. 2. Základní charakteristiky pacientů a onemocnění.

Charakteristiky pacientů a onemocnění	Hodnoty
celkem, n (%)	1 736 (100,0)
muži, n (%)	1 233 (71,0)
věk při diagnóze (roky)	
medián, (min–max)	59 (21–83)
věk při zahájení léčby prvním preparátem (roky)	
medián, (min–max)	63 (23–87)
karcinom ze světlých buněk, n (%)	1 649 (95,0)
předchozí nefrektomie, n (%)	1 523 (87,7)
předchozí léčba imunoterapií, n (%)	987 (56,9)
performance status při zahájení léčby, n (%)	
0	517 (29,8)
1	1 001 (57,7)
2 nebo 3	189 (10,9)
neuvečeno	29 (1,7)



Graf 1. Celkové přežití od data zahájení léčby prvním ze sledovaných preparátů.

hájení léčby jednotlivými preparáty ukazuje tab. 1. Nejvíce údajů je k dispozici o léčbě sunitinibem a sorafenibem (oba preparáty jsou u pacientů s MRC v České republice nejdéle používané). Další léky se u nás používají kratší dobu a/nebo s indikačním či úhradovým omezením, a počet jimi léčených nemocných v registru je proto podstatně nižší. Pro hodnocení léčby pazopanibem zatím nejsou k dispozici dostatečná data (hlavně délka sledování), a proto tento lék v souhrnných tabulkách uvádějících přežití a výskyt toxicity neuvádíme.

Při zkoumání charakteristik pacientů a jejich onemocnění je patrné, že 70 % pacientů tvoří muži, medián věku při diagnóze je 59 let, medián věku při podání prvního cíleného léku je 63 let. Zajímavý údaj pak představuje vysoký počet nefrektomií před zahájením cílené terapie – tento výkon absolvovalo 87,7 % pacientů. Předchozí léčbu imunoterapií registrujeme u 56,9 % pacientů (tab. 2).

Medián celkového přežití (overall survival – OS) všech pacientů v registru je 26,6 měsíce od prvního podání první linie cílené léčby pacientovi (graf 1). Dobu do progresu (progression-free survival – PFS) u jednotlivých preparátů přehledně ukazuje tab. 3. Při hodnocení PFS a OS nemocných léčených jednotlivými léky je nutné mít na paměti, že u řady pacientů bylo podáno více preparátů v různých sekvencích (více než 28 % pacientů dostalo dva nebo více různých preparátů cílené terapie). Dlužno podotknout, že výsledky PFS získané z analýzy registru k 26. 3. 2012 jsou srovnatelné s výsledky ze studií III. fáze daných preparátů, ale i s výsledky jiných retrospektivních analýz.

Součástí klinického registru RENIS je taktéž monitorace možných nežádou-

Tab. 3. Přežití bez známek progresu od data zahájení léčby daným preparátem.

Preparát	PFS – RenIS		PFS – registrační studie	Reference
	počet pacientů	medián (95% IS)		
bevacizumab (+ INF)	45	10,8 měsíce (7,7; 14,0)	10,2 měsíce	Escudier et al, 2007 [1]
everolimus	270	5,8 měsíce (4,5; 7,0)	4,9 měsíce	Motzer et al, 2010 [2]
sorafenib	749	7,3 měsíce (6,5; 8,1)	5,5 měsíce	Escudier et al, 2007 [3]
sunitinib	1 313	9,7 měsíce (8,9; 10,6)	11,0 měsíce	Motzer et al, 2007 [4]
temsirolimus	51	4,4 měsíce (3,1; 5,7)	5,5 měsíce	Hudes et al, 2007 [5]

Tab. 4. Výskyt nežádoucích účinků – grade I + II / grade III + IV (v procentech).

Typ nežádoucího účinku*	sunitinib (n = 1 313)	sorafenib (n = 749)	everolimus (n = 270)	temsirolimus (n = 51)	bevacizumab (n = 45)
hematologický	12,3/3,8	3,2/1,1	4,8/0	3,9/2,0	4,4/0
gastrointestinální	13,6/3,1	19,1/3,9	4,8/1,1	5,9/2,0	2,2/0
kardiovaskulární	5,3/2,1	5,6/2,4	1,5/0,4	3,9/3,9	2,2/2,2
kožní	11,6/1,8	29,6/6,0	7,0/0	9,8/2,0	4,4/2,2
metabolický	3,7/1,6	2,7/1,7	3,3/0,7	3,9/0	0/0
dýchací	1,3/0,8	1,6/0,3	3,0/1,1	2,0/2,0	0/0
hypertenze	2,4/0,5	1,3/0,1	0,4/0	0/0	4,4/0
muskuloskeletární	1,8/0,5	1,6/0,5	0/0	0/0	0/0
únava	2,7/0,5	1,2/0,3	1,9/0,7	0/0	2,2/0
neurologický	0,9/0,4	2,3/0,5	0,4/0	0/0	0/0
jiný	6,0/1,7	5,2/1,3	3,7/2,2	3,9/3,9	15,6/6,7

*Pazopanib není v tabulce zahrnut z důvodu velmi nízkého podílu pacientů s již ukončenou léčbou (n = 3; 6,5 %).
U zbylých 43 (93,5 %) pacientů léčba pazopanibem stále probíhá.

cích účinků, tyto jsou přehledně ukázány v tab. 4. Při hlubším zkoumání tabulek je u jednotlivých preparátů patrný nižší výskyt některých nežádoucích účinků (například kožní toxicity či arteriální hypertenze), než jak je známe ze studií fáze II či III. Toto může být částečně způsobeno podhlášeností těchto dat v registru, i když samozřejmě nelze vyloučit i jiné vlivy (odlišný metabolismus preparátů v české populaci atd.).

Klinický registr RENIS představuje unikátní nástroj k monitoraci cílené léčby

u pacientů s metastatickými zhoubnými nádory ledvin. V současné době probíhá nebo proběhla řada retrospektivních analýz, z nichž některé byly zveřejněny v zahraničních nebo českých odborných publikacích. Jeho praktické využití slouží jak klinikům a epidemiologům, tak i ekonomům, ale v konečném důsledku především pacientům.

Literatura

1. Escudier B, Pluzanska A, Koralewski P et al. AVOREN Trial investigators. Bevacizumab plus interferon alfa-2a for

treatment of metastatic renal cell carcinoma: a randomised, double-blind phase III trial. *Lancet* 2007; 370(9605): 2103–2111.

2. Motzer RJ, Escudier B, Oudard S et al. RECORD-1 Study. Phase 3 Trial of Everolimus for Metastatic Renal Cell Carcinoma: Final Results and Analysis of Prognostic Factors. *Cancer* 2010; 116(18): 4256–4265.

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

4. Motzer RJ, Hutson TE, Tomczak P et al. Sunitinib versus interferon alfa in metastatic renal-cell carcinoma. *N Engl J Med* 2007; 356(2): 115–124.

5. Hudes G, Carducci M, Tomczak P et al. Global ARCC Trial. Temsirolimus, interferon alfa, or both for advanced renal-cell carcinoma. *N Engl J Med* 2007; 356(22): 2271–2281.

Prim. MUDr. Vladimír Koza zemřel

Jindra P.

Hematologicko-onkologické oddělení, FN Plzeň

MUDr. Vladimír Koza zemřel v neděli 17. června 2012 ve věku nedožitých 58 let.

Pro většinu osob v životě bývá příznačné to, že teprve jejich ztrátou si uvědomíme jejich výjimečnost.

Prim. MUDr. Vladimír Koza takovým typem osobnosti ale jistě nebyl. Byl to člověk, jehož výjimečnost jsme si všichni uvědomovali již během jeho života, neboť to, co za ním zůstávalo, opravdu výjimečné bylo.

Pro Vladimíra Kozu byla synonymem života práce. U jiného člověka by se dalo říci, že práci obětoval svůj život, ale u Vladimíra to asi nebyla pravda. Pro něj život znamenal naplnění nějakého cíle, splnění nějaké vize, a jestliže to logicky vyžadovalo práci – práci i za cenu obětování soukromého života – pak takto prostě žil. A takový život žil vědomě a spokojeně. Se zapálenou spartou ve svém lékařském pokoji („jeskyňce“, jak mu důvěrně říkal), s přimhouřenýma očima vymýšlel stále nové nápady, projekty a vize.

Bývá zvykem na tomto místě vyčíslovat množství publikací, přednášek, odborných článků a monografií, prostě shrnout životní dílo osoby. Myslím však, že tyto údaje jsou pro Vladimírovu osobu a jeho život zcela nepodstatné. Raději více zmíním něco jiného, co za ním zůstalo.

Když po víceméně protrpěných letech na Oddělení klinické hematologie nastupoval v roce 1986 na tehdejší hematologický úsek I. interní kliniky FN Plzeň, jistě netušil, jak změny roku 1989 zásadně převrátí jeho život. Teprve v období svobody společenské mohl plně rozvinout svoji svobodu osobní – svobodu něco si vysnit a tyto sny pak realizovat. Možnost svobodně se rozhodnout a konat byla pro Vladimírovu životní filozofii zcela zásadní. Proto také v prvních letech po sametové revoluci a vlastně v celých



90. letech, dosud nesvíraných obojkem hypertrofické regulativy a legislativy, mohl položit základy všech svých profesních, a tedy i životních úspěchů.

V roce 1991 provedl první transplantaci kostní dřeně od příbuzného dárce v mimopražské nemocnici. Současně si uvědomil, že většina nemocných vhodného dárce v rodině nemá a že tato situace je ve vyspělých státech řešena registry dárců kostní dřeně. A protože jeho krédem nebylo spoléhat se na stát a jeho instituce, ale na vlastní schopnosti, založil v roce 1992 první nestátní a nezávislý registr nepřibuzných dárců dřeně ve východní Evropě – Český národní registr dárců dřeně. Ten se pod jeho vedením stal největším a nej kvalitnějším registrem v postkomunistických zemích s takřka 40 000 registrovanými dárci. Dokladem toho je i získání akreditace WMDA (World Marrow Donors Association)

v roce 2005, kterou registr získal jako čtvrtý na světě. Prostřednictvím tohoto registru jsou dnes vyhledáváni dárce pro většinu prováděných transplantací krvetvorných buněk v ČR.

Stejnou měrou primář Koza rozvíjel i transplantační program Hematologicko-onkologického oddělení, které se v roce 1994 osamostatnilo od I. interní kliniky a ve stejnou dobu začalo provádět kompletní transplantační program krvetvorných buněk (autologní, alogenní příbuzenské i nepřibuzenské). Ještě týž rok zde také byla provedena první transplantace kostní dřeně českému pacientovi od nepřibuzného českého dárce. Navíc toto pracoviště (jako dosud jediné v zemích východní a střední Evropy) získalo pod jeho vedením nejvyšší světovou akreditaci kvality JACIE a v současnosti je jedním z největších center v České republice.

V roce 2005 byl Vladimír Koza hlavním iniciátorem uspořádání kongresu Evropské společnosti pro transplantace kostní dřeně (EBMT) – opět prvního ve východní Evropě – a stal se také jeho prezidentem. Byl aktivním členem řady českých a zahraničních odborných společností, inspektorem Světové asociace dárců kostní dřeně a předsedou výboru pro podporu transplantačního programu východoevropských zemí při EBMT.

Za Vladimírem Kozou toho ale zůstalo mnohem více než jen odborné medicínské a organizační dílo. Důležitým rysem jeho osobnosti byl vztah ke kolegům. Měl mimořádný dar motivovat a nenásilně vést své podřízené. Měl schopnost je pro své vize a cíle nadchnout tak, že na jejich splnění pracovali s podobným úsilím, jako na nich pracoval on sám. Úspěchy jeho oddělení dosažené s nevelkým

týmem spolupracovníků jsou důkazem toho, že dokázal každému nalézt jeho místo, jeho „parketu“ a z každého dostat to nejlepší. Přirozené četné odborné diskuze či spory s kolegy nejen na našem oddělení (ve kterých se většinou nakonec ukázalo, že pravdu měl on) zvládal s nenapodobitelnou tvrdohlavostí, ale současně s noblesou, velkorysostí a humorem.

Samostatnou kapitolou byl pak jeho mimořádný, vnímavý vztah k pacientům. Nezažil jsem jiného lékaře, který dokázal tak přirozeně skloubit výsostně profesionální, ale zároveň citlivý a lidský přístup ke všem nemocným. My všichni jsme s úžasem sledovali, jak několika slovy dokázal pacientovi zvednout náladu nebo ho znovu motivovat v pokračování léčby.

Vladimír Koza byl nejen skvělý lékař, ale především moudrý, charismatický

a všestranně vzdělaný člověk se zálibou v knihách, vážné hudbě a výtvarném umění.

V dnešní unifikované a standardizované době jeden z posledních velkých originálů!

„...když svůj jsi, všem nechť druhem jsi se stal, když sbratřen s davem, uchováš si hrdost a nezpyšníš, byť mluvil s tebou král, (...)

pak pán, pak vítěz na širé jsi zemi – a co je víc: pak, synu můj, jsi muž!“

R. Kipling

(Úryvek z básně Když, kterou měl V. Koza zarámovanou nad svým pracovním stolem.)

Jménem Hematologicko-onkologického oddělení FN Plzeň
MUDr. Pavel Jindra, Ph.D.

Prof. MUDr. Zdeněk Dienstbier, DrSc., zemřel

Žaloudík J.

V druhé polovině května nám zemřel pan profesor Zdeněk Dienstbier. Především nám. Nejen vám nebo jim. I nám v Brně, Rosicích, Ježkovicích či Jihlavě, vám v jeho rodné Chrudimi, milované Živohošti a prožité Praze, také jim i nám na Malé Straně, stranám malým, velkým i postranním, zejména však pacientům, kolegům, zdravotníkům. Protože k rakovině máme všichni stejně blízko, někteří už i blíže. Zemřel týden po opět úspěšném 16. měsíčovém dni, tradiční celostátní úspěšné akci Ligy proti rakovině, týden před svými 86. narozeninami, při více než plné duševní svěžesti a neplném zdraví tělesném.

První tuzemský docent pro obor radiobiologie, zakladatel a první zdejší profesor oboru nukleární medicína, dlouholetý šéf Ústavu biofyziky a nukleární medicíny, specialista na léčbu Hodgkina lymfomu, akademik, organizátor onkologické osvěty, dlouholetý a čestný předseda Ligy proti rakovině. Mnohostranná charizmatická osobnost, kterých valem ubývá a nové jako by se přestávaly vyskytovat.

Když jsem před řadou let přebíral vedení Masarykova onkologického ústavu, sám dodnes nevím, proč jsem

tehdy pocítil nutnost ho navštívit a vyslechnout si živě jeho názory na onkologii, vědu, vzdělávání, přírodu, společnost a priority života vůbec. Navštívil jsem ho v jeho oblíbeném biotopu na chatě v lesích na Živohošti, prošli jsme se k Velké řece a pak několik hodin hovořili na trávníku před chatou. My nemladí pánové, lovci, rybáři, houbaři a pozorovatelé světa máme ve svých chatách, útulcích, doupatech a hájemstvích raději spíše mírný organizovaný nepořádek, abychom se vyznali, cítili doma a přežili neřád světa. V hlavě měl ovšem pan profesor pořádek úžasný a absolutní. Na mnohá setkání člověk zapomene, některá zapomene i rád, ale celodenní setkání s profesorem Dienstbierem v jeho biotopu se prostě zapomenout nedá. Ostatně ani ta další, pracovní, polopracovní a společenská, ale k přírodě a přirozenému působení člověka patřil profesor Dienstbier nejvíce.

Kromě mnoha odborných publikací z dob své vědecké kariéry se v podzimu života věnoval také popularizaci medicíny, pamětem a postřehům ze života. A tak nám zde kromě odborné a organizační práce spolu s inspirací po sobě

zanechává také formátem útlé a obsahem silné knížky Původním povoláním lékař, Předcházíme rakovině, Hirošima a moderní věda, Stálo za to žít, Životní fragmenty, Život v přesčase, Průvodce stárnutím aneb Jak ho oddálit a svou poslední Ó, sladké stáří. Z knížky Průvodce stárnutím věnované spíše všem duchem mladým lze citovat třeba tato jeho slova: „Destabilizace světa se prohlubuje. Bohatství naší planety je nestejnoměrně rozvrženo. Svět chudých se rozrůstá. Nenasytnost chamtivých nezná mezí.“ ... „Mysleme proto každý nejen na sebe, ale i na druhé, nebudme laxní ke společenským problémům kdekoli, usilujme o sociální spravedlnost a důstojný způsob života.“ ... „Rodíme se, abychom žili krátce, umíráme bohužel na věky. Zanechme po sobě čistý štít.“

Po již překonané otravě z okolního prostoduchého a vulgárního pragmatizmu Ti, vážený pane profesore a milý Zdeňku, děkuji za tuto verbalizovanou infuzi krásného idealistického realizmu. A děkuji Ti i ostatní, mnozí už nyní. Ti další, až sami pochopí.

Čest Tvé památce!
prof. MUDr. Jan Žaloudík, CSc.

Liga proti rakovině Praha je občanské sdružení, jehož náplní je již více než dvaadvacet let snaha o snížení úmrtnosti na zhoubné nádory v České republice. K dosažení tohoto cíle volí tři hlavní dlouhodobé programy:

1. soustavou informovanost veřejnosti o nádorové prevenci,
2. snahu o zlepšení kvality života nádorově nemocných,
3. podporu onkologického výzkumu, kvalitní výuky a investiční modernizaci či kompletizaci onkologických pracovišť.

Liga má více než 3 000 individuálních členů a 59 kolektivních členských organizací z celé ČR. Liga je členem mezinárodních společností ECL a UICC.

V průběhu celého roku Liga organizuje preventivní a osvětové akce. Mezi největší patří únorové Sympozium pro laickou i odbornou veřejnost, které se koná u příležitosti Světového dne proti rakovině, v květnu pak sbírka Český den proti rakovině a od poloviny září do půli října putujeme po českých a moravských městech s výstavou o nádorové prevenci s názvem „Každý svého zdraví strůjcem“.

Liga provozuje Nádorovou telefonní linku (224 920 935), vydává více než 45 titulů informačních a poradenských publikací, organizuje a přispívá na rekondiční pobyty onkologicky nemocných, podporuje výukové a výchovné programy pro MŠ a 1. stupeň ZŠ, přispívá na hospicovou péči apod.

Liga proti rakovině Praha vyhlašuje již od roku 2000 soutěž o **Cenu LPR Praha** pro nejhodnotnější publikaci z oblasti onkologie, uveřejněnou v předešlém roce. Do soutěže jsou přijímány práce nebo soubory prací, uveřejněné v domácím nebo zahraničním odborném časopisu, které jsou věnovány prevenci nebo screeningu zhoubných nádorů nebo jsou věnovány některým aspektům jejich léčby. Vítány jsou práce, které mohou obohatit onkologickou klinickou praxi. Cena LPR je dotována částkou 50 000 Kč.

Návrhy na udělení ceny se zasílají se dvěma příloženými separátními otisky, krátkým profesním životopisem a kontaktem (telefon, e-mail) na adresu Liga proti rakovině Praha, Ústav radiční onkologie, Na Truhlářce 100/60, 180 81, e-mail : lpr@lpr.cz (**do 31. srpna 2012**). Práce bude posuzovat výbor Ligy proti rakovině Praha.

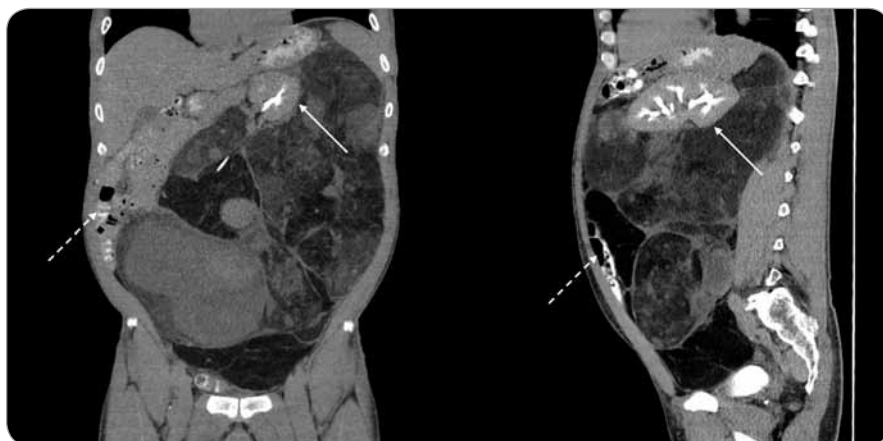
Celkový přehled udělených cen za nejlepší vědeckou publikaci z oblasti onkologie je k dispozici na webových stránkách www.lpr.cz

MUDr. Michaela Fridrichová
předsedkyně



Onkologie v obrazech

Liposarcoma retroperitonei permagnum



Obr. 1. Snímky z CT vyšetření břicha (vlevo – koronární řez, vpravo – sagitální řez). Masa liposarkomu vychází z retroperitonea vlevo, sahá od levé bránice až do pánve, velikost 420 × 300 × 240 mm. V liposarkomu zavzata levá ledvina dislokovaná mediálně kranálně k žaludku (plná šipka). Střevní klíčky odtlačeny doprava k břišní stěně (přerušovaná šipka).



Obr. 2. Fotografie tumoru na operačním sále.

Stručný popis případu: Muž, narozen 1964, operovaný v červenci 2012 v Masarykově onkologickém ústavu pro objemný tumor retroperitonea. Z anamne-

stických údajů: bez výskytu malignit v rodině, pacient kuřák, vážněji nestonal, léčen pro hypertenzi. Šest měsíců pozvolna progredující zhoršování fy-



Masarykův onkologický ústav
Žlutý kopec 7
656 53 Brno
e-mail: msvoboda@mou.cz

doc. MUDr. Roman Šefr, Ph.D.*
MUDr. Martin Ondrák, Ph.D.*
MUDr. Petr Krsička*
MUDr. Sylva Rybníčková^
MUDr. Pavel Fabian, Ph.D.#
MUDr. Radek Lakomý, Ph.D.°
MUDr. Marek Svoboda, Ph.D.°
*chirurg, ^radiolog, #patolog,
°onkolog

Obdrženo/Submitted: 23. 7. 2012

zické výkonnosti, později úbytek svalové hmoty a námahová dušnost. Na hmotnosti pacient ubral celkově cca 3 kg. Při přijetí k operaci z potíží dominovaly: pocit tlaku po jídle, pálení žáhy, meteorismus, dekontence. Stolicí 1krát denně pravidelná, močení bez potíží, bez přítomnosti krve. Laboratorní vyšetření bez významnější patologie, pouze anémie G1. Levá ledvina hypofunkční (23% podíl na funkci dle DTPA). Peroperační nález: objemný tumor dislokující veškeré orgány nahoru a doprava, levá ledvina a ureter zavzaty do tumoru, který je dále fixován k preaortálním nerovným pletením. V těchto místech nutná ostrá práce, jinak tumor explantován z dutiny břišní celý, k tomu nutná levostranná nefrektomie. Hmotnost tumoru 14 kg, velikost 500 × 360 × 150 mm, v celém rozsahu jemně blanité opouzdřený. Histologie: liposarkom G2 dle FNCLCC, smíšený typ (směs dobře diferencovaného, pleiomorfního a myxoidního typu). Pooperační stav bez komplikací, v současnosti probíhá rekonvalescence, v plánu adjuvantní protinádorová léčba.

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

Rozvíjíme léty prověřenou značku

- poradenství pro provozovatele lékařských praxí
- informace pro zaměstnance i managementy zdravotnických zařízení
- zprávy z domácího a zahraničního odborného tisku
- aktuality z evropských i světových kongresů
- výsledky z klinických studií
- novinky z oblasti farmacie

ZDRAVOTNICKÉ NOVINY

ODBOBNÉ FÓRUM ZDRAVOTNICTVÍ
A SOCIÁLNÍ PÉČE www.zdravky.cz
ročník 61 • číslo 19 • 7. května 2012
cena 26 Kč • pro předplatitele 20 Kč



V tomto vydání

Národní onkologický registr – data penězi k nezaplacení

Vyplňování onkologických hlášení je úkolem zdravotnických zařízení, kterým to ukládá zákon a jímž je tato činnost hrazena z veřejného zdravotního pojištění jako součást poskytování zdravotní péče a s ní související administrativy. Shrnem, správa a validace faktů získaných dle pro Národní onkologický registr (NOR) se zabývá síť jeho územních pracovišť. Systémové řešení jejího financování bohužel stále chybí.

„Kontacei počet záznamů v NOR a s ním související náklady na kontrolu a zpracování dat registrařů“ uvedla v příspěvku mezinárodních onkologických dnů prof. MUDr. Jitka Abrahamová, DOSc., místopředsedkyně České onkologické společnosti ČSOP JEP a předsedkyně Rady NOR. „Za rok 2010 byla zveřejněna nová data o zdravotním stavu populace, protože se svého národního datového ústředí v listopadu 2010 zaslala dříve z jiných zdrojů. V roce 2010 přibližně počet nových provedených záznamů v NOR 800 000, prevalence zveřejněných novotvarů v ČR v tomto roce činila 440 000 případů v populaci. Roste i počet věkových nádorů diagnostikovaných u těchto pacientů. Tyto skutečnosti se bohužel“



Data o klinických stadiích jsou unikátní
Úkolem územních pracovišť NOR je kompletní epidemiologická evidence všech nově zjištěných nádorových onemocnění v populaci ČR. Shromažďují se údaje o základních charakteristikách nádoru, jeho léčbě a výsledku. Evidence tedy nepokrývá jen oběhové příznaky diagnózy, ale i následnou mnohotvárnou sledování pacienta. Řešitel Institutu biostatistik a analýz lékařské Masarykovy univerzity doc. RNDr. Ladislav Doležal, Dr. uvedl, že například záznamy, které jsou spojeny s uvedením klinického stadia, patří k tomu nejdůležitějším, co registr obsahuje. Právě diagnostická heterogenita a časový zájem sledování se NOR zaslal již od většiny jiných zdravotních a epidemiologických registrů vedených v ČR i jinde v Evropě.

Jak uvedla prof. J. Abrahamová, náklady na provoz nosu dnes a velké částí celých zdravotnických zařízení – nikoli jen příslušné onkologické oddělení – jsou je sledování územního pracoviště NOR. Ačkoli je náplní činnosti Národního onkologického registru daná zákonem a provádí se ve smyslu přenosu povinnosti státu, příspěvek ministerstva zdravotnictví na jeho činnost je naopak zcela nepoplatný.

LÉKAŘSKÉ LISTY

ODBOBNÁ PŘÍLOHA ZDRAVOTNICKÝCH NOVIN
16. dubna 2012
www.zdravky.cz 4/2012

Onkologie

KONGRESOVÝ LIST

ODBOBNÁ PŘÍLOHA ZDRAVOTNICKÝCH NOVIN
30. dubna 2012 • www.zdravky.cz 4/2012

XXXVI. BRNĚNSKÉ ONKOLOGICKÉ DNY

19.–21. dubna

Brno



48. DIABETOLOGICKÉ DNY V LUHAČOVICÍCH

19.–21. dubna

Luhačovice



VI. JARNÍ INTERAKTIVNÍ KONFERENCE SVL ČLS JEP

13.–15. dubna

Praha

Rada WMA jednala v I

Předminulý týden hostilo hlavní město ČR již 191. zasedání rady World Medical Association (WMA), kterého se zúčastnily necelé dvě stovky lékařů zastupujících jednotlivé národní lékařské asociace.

„Na zasedání v Praze jsme diskutovali o třech hlavních oblastech – etických otázkách, sociálně-zdravotních záležitostech a také o financování a plánování, tedy jak může WMA pomoci jednotlivým členům spolupracovat v vládním a nevládním zdravotnictví“ uvedl Dr. Mahesh Harkewal z Australian Medical Association.

Upozornil, že v současnosti jsou velmi významným tématem rostoucí náklady díky nové lékařům a dalším zdravotnickým profesionálům po celém světě. „Není to jen náklady v Švýcarsku a Balticku při zdravotních konfliktích, není to jen náklady v komunikaci, během demonstrací či revolucí... Je to skutečně každodenní záležitost, že lidé dochází v situacích, kdy se lidé domnívají, že nedostali od zdravotního systému to, co potřebovali, a ztratili důvěru. Věříme a zasloužíme si problémů více, je že vidíme na sebe obvykle nechájí ležet za tyto náklady účty odpovědnost a nedostatek tak chraň lékaře“



Prof. J. Bihos a Dr. M. Harkewal. Foto: ZN

Je i ostatní zdravotníky“ dodal M. Harkewal. Dr. José Luis Gomez do Amaral, prezident WMA, k tomu uvedl: „Diskutujeme tyto důležité úkoly na zdravotnické profesionální i pacienty. Ukázalo, když je lékař nemoc, napaden a zabíjí, je celý proces poskytování péče destruktivní a dopadá na to nemocní. Vládní orgány musejí posílit zákonit, aby zdravotní“



GIST? Glivec!

Zkrácená informace

GLIVEC® 100 mg, GLIVEC® 400 mg, potahované tablety

Složení: Léčivá látka: Imatinibi mesilas 100 mg nebo 400 mg v 1 potahované tabletě. **Indikace:** Glivec je indikován k léčbě: Dospělých a dětských pacientů s nově diagnostikovanou Philadelphia chromozom (bcr-abl) pozitivní (Ph+) chronickou myeloidní leukémií (CML), u kterých není transplantace kostní dřeně považována za léčbu první volby. Dospělých a dětských pacientů s Ph+ CML s chronickou fází onemocnění, u kterých selhala léčba interferonem-alfa, nebo kteří jsou v akcelerované fázi onemocnění nebo v blastické krizi. Dospělých pacientů s nově diagnostikovanou Philadelphia chromozom pozitivní akutní lymfatickou leukémií (Ph+ ALL) doplněnou chemoterapií. Dospělých pacientů s recidivující nebo refrakterní Ph+ ALL jako monoterapie. Dospělých pacientů s myelodysplastickým/myeloproliferativním onemocněním (MDS/MPD) spojeným se změnou genu receptoru pro růstový faktor krevních destiček (PDGFR). Dospělých pacientů se syndromem pokročilé hypereozinofilie (HES) a/nebo chronickou eozinofilní leukémií (CEL) s přeskupením FIP1L1-PDGFRα. Dospělých pacientů s Kit (CD 117) pozitivními inoperabilními a/nebo metastatickými maligními stromálními nádory zažívacího traktu (GIST). Dospělých pacientů s významným rizikem recidivy po resekci Kit (CD117)-pozitivního GIST nádoru v adjuvantním podání. Dospělých pacientů s inoperabilním dermatofibrosarkomem protuberans (DFSP) a dospělých pacientů s rekurentním a/nebo metastatickým DFSP, kteří nejsou způsobilí operace. **Dávkování:** Léčbu může zahájit pouze lékař specialista se zkušeností s léčbou hematologických malignit a sarkomů. Předepsaná dávka se podává perorálně s jídlem a zapíjí se sklenicí vody. Dávky 400 mg nebo 600 mg by měly být podávány jednou denně, dávka 800 mg by měla být podávána rozděleně na 400 mg dvakrát denně. **Dávkování u CML u dospělých:** Doporučená dávka Glivecu je pro pacienty v chronické fázi CML 400 mg/den. U pacientů s akcelerovanou fází nebo v blastické krizi je doporučená dávka 600 mg/den. Dávku lze zvýšit na 600 mg nebo 800 mg denně u pacientů v chronické fázi onemocnění, na 800 mg denně (400 mg 2x denně) u pacientů s akcelerovanou fází onemocnění nebo v blastické krizi za následujících okolností: při progresi onemocnění; pokud nebylo dosaženo: uspokojivé hematologické odpovědi po 3 měsících léčby, nebo cytogenetické odpovědi po 12 měsících léčby; nebo při ztrátě dříve dosažené hematologické a/nebo cytogenetické odpovědi. **Dávkování u CML u dětí:** Dávkování u dětí je v mg na m² tělesného povrchu (mg/m²). U dětí s chronickou fází CML nebo s pokročilou fází CML se doporučuje dávkování 340 mg/m² (nepřekročit celkovou dávku 800 mg). Podávání léku je možné jednou denně nebo rozdělené do dvou dávek. U dětí je možno uvažovat o vzestupu denní dávky na 570 mg/m² (nepřekročit celkovou dávku 800 mg). **Dávkování u Ph+ ALL:** Doporučená denní dávka Glivecu je 600 mg/den. **Dávkování u MDS/MPD:** Doporučená denní dávka Glivecu je 400 mg/den. **Dávkování u HES/CEL:** Doporučená denní dávka Glivecu je 100 mg/den. **Dávkování u GIST:** Doporučená denní dávka Glivecu je 400 mg/den. **Dávkování u DFSP:** Doporučená denní dávka Glivecu je 800 mg/den. Úprava dávkování nebo přerušování léčby je vyžadováno při výskytu závažných nežádoucích účinků. **Viz úplná informace o přípravku.** **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na léčivou látku nebo na kteroukoli pomocnou látku přípravku. **Zvláštní upozornění:** *Při užívání Glivecu s ketokonazolem nebo jinými silnými inhibitory CYP3A4, substráty CYP3A4 s úzkým terapeutickým rozpětím (např. cyklosporin nebo pimozid) nebo substráty CYP2C9 s úzkým terapeutickým rozpětím (např. warfarin a jiné deriváty kumarinu) je nutné dbát opatrnosti.* Pro možnost závažné retence tekutin se doporučuje pravidelně sledovat hmotnost pacientů. Pravidelně je nutné provádět kompletní vyšetření krevního obrazu. Opatrnost je nutná u pacientů se zhoršenou funkcí jater. Při léčbě imatinibem se vyskytly případy jaterního poškození, kontrola jaterní funkce je nezbytná. Byly hlášeny klinické případy hypotyreózy u pacientů, kterým byla provedena tyreoidektomie a kteří byli substitučně léčeni levothyroxinem. U těchto pacientů je třeba důkladně kontrolovat hladiny TSH. Pacienti se srdečním onemocněním, s rizikovými faktory, příznaky nebo projevy srdečního selhání *a s renálním selháním* by měli být pečlivě sledováni. U pacientů s hypereozinofilním syndromem (HES) a se srdečními potížemi bylo v ojedinělých případech zahájení léčby imatinibem spojeno se vznikem kardiogenního šoku či dysfunkcí levé komory. Pacientům s renální nedostatečností by se měla podávat minimální úvodní dávka. Pacienti se závažnou renální nedostatečností by měli být léčeni s opatrností. Pokud není dávka imatinibu tolerována, může být snížena. Glivec lze v těhotenství použít pouze pokud je to nezbytně nutné. Přípravek by neměly užívat kojící matky. *U dětí a jedinců v prepubertálním věku užívajících imatinib byly hlášeny případy retardace růstu, proto je doporučeno pečlivě sledování růstu dětí léčených imatinibem.* Při řízení nebo obsluze strojů se doporučuje zvýšená opatrnost. **Viz úplná informace o přípravku.** **Interakce:** Při podávání látek zvyšujících koncentraci imatinibu v plazmě – CYP3A4 induktry (dexamethason, fenytoin, karbamazepin, rifampicin, fenobarbital, fosfeytoin, primidon, třezalka tečkovaná) a potenciálně zvyšovat riziko selhání léčby. Při podávání Glivecu se substráty CYP3A4 s úzkým terapeutickým oknem (cyklosporin, pimozid) se doporučuje opatrnost, protože může zvyšovat jejich plazmatickou koncentraci. Podobná opatrnost se doporučuje i při podávání spolu se substráty CYP2D6 s úzkým terapeutickým oknem a s CYP2D9 (warfarin). Obeztnost by měla být uplatněna při současném podávání paracetamolu, zejména při podávání vyšších dávek. **Viz úplná informace o přípravku.** **Nežádoucí účinky:** Velmi časté: neutropenie, trombocytopenie, anémie, bolesti hlavy, nauzea, průjem, zvracení, dyspepsie, bolesti břicha, periorbitální edém, dermatitida/ekzém/vyrážka, svalové křeče a záchvaty křečí, muskuloskeletární bolesti včetně myalgie, artralgie, bolesti kostí, zadržování tekutin a edémy, únava, zvýšení hmotnosti. Časté: pancytopenie, febrilní neutropenie, anorexie, nespavost, závratě, parestezie, porucha chutě, hypestezie, otok očních víček, zvýšené slzení, krvácení do spojivky, konjunktivitida, syndrom suchého oka, rozmazané vidění, zrudnutí, krvácení, dušnost, krvácení z nosu, kašel, nadýmání, rozptí břicha, gastro-ezofageální reflux, zácpa, sucho v ústech, gastritida, zvýšení jaterních enzymů, pruritus, otok obličeje, suchá pleť, erytém, alopecie, noční pocení, reakce fotosenzitivity, otoky kloubů, slabost, pyrexie, anasarka, mrazení, ztuhlost, snížení hmotnosti. Další informace - viz úplná informace o přípravku. **Podmínky uchovávání:** Neuchovávejte při teplotě nad 30°C. Uchovávejte v původním obalu, aby byl přípravek chráněn před vlhkostí. **Dostupné lékové formy a velikosti balení:** Glivec 100 mg potahované tablety: 60 tbl., reg.č. EU/1/01/198/008, Glivec 400 mg potahované tablety: 30 tbl., reg.č. EU/1/01/198/010. **Poznámka:** Dříve než lék předepíšete, přečtěte si pečlivě úplnou informaci o přípravku. Potahované tablety: Datum registrace/prodloužení registrace: 11.11.2003/21.9.2006. Datum poslední revize textu SPC: 01/2012. Držitel rozhodnutí o registraci: Novartis Europharm Limited, Horsham, RH125AB, Velká Británie. Přípravek je pouze na lékařský předpis, hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění.

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

 **NOVARTIS**

Novartis s. r. o., Pharma

Gemini, budova B; Na Pankráci 1724/129; 140 00 Praha 4
tel.: 225 775 111; fax: 225 775 222; www.novartis.com

 **glivec®**

Molekulární cíl. Přínos pro člověka.

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. 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 Pužanov, Nashville
prof. MUDr. Lukáš Rob, CSc., Praha
prof. MUDr. Miroslav Ryska, CSc., Praha

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

Čestní členové redakční rady

prof. MUDr. Josef Bilder, CSc., Brno
prof. Sándor Eckhardt, Budapest
prof. Jan Klasterský, 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: Bc. Gabriela Gubíková, e-mail: gabriela.gubikova@ambitmedia.cz.

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

Grafická úprava: Miroslav Chudík. Jazyková korektura: Mgr. Ivana Dachary.

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

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

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

Rukopisy 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.

Toto číslo vychází 15. 8. 2012.



EGFR M⁺

1. linie léčby pokročilého NSCLC u pacientů s EGFR M⁺

**IRESSA® v monoterapii prokázala významně vyšší účinnost*
oproti kombinované chemoterapii v 1. linii léčby
pokročilého NSCLC u pacientů s EGFR M⁺ 1-3**

EGFR M⁺ (pozitivní mutace receptoru pro epidermální růstový faktor)
* v parametru progression free survival (PFS)



IRESSA®
gefitinib

ZKRÁCENÁ INFORMACE O PŘÍPRAVKU IRESSA®: **Léčivá látka:** gefitinibum. **Indikace:** IRESSA je indikována k léčbě dospělých pacientů s lokálně pokročilým nebo metastazujícím nemalobuněčným karcinomem plic (NSCLC) s aktivními mutacemi EGFR-TK. **Dávkování:** Jedna 250 mg tableta jednou denně. Bezpečnost a účinnost přípravku nebyla u dětí a adolescentů hodnocena. **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na léčivou látku nebo na kteroukoli pomocnou látku tohoto přípravku. Kojení. **Interakce:** Současné podávání s účinnými inhibitory CYP3A4 může zvýšit plazmatické koncentrace gefitinibu, které může být klinicky relevantní. Zvýšení může být vyšší u jednotlivých pacientů s genotypem pomalých metabolizátorů vázaných na CYP2D6. Látky indukující aktivitu CYP3A4 mohou zvyšovat metabolismus a snižovat plazmatické koncentrace gefitinibu a tím snižovat účinnost přípravku IRESSA, proto by jejich podávání mělo být vyloučeno. U některých pacientů užívajících warfarin současně s gefitinibem bylo zaznamenáno zvýšení INR a/nebo výskyt krvácení. **Zvláštní upozornění:** Pacienti se středně závažným až závažným poškozením jater v důsledku jaterní cirhózy mají zvýšené plazmatické koncentrace gefitinibu. Pokud dojde u pacientů ke zhoršení respiračních symptomů jako je dyspnoe, kašel a horečka, podávání přípravku IRESSA je třeba přerušit a pacient by měl být rychle vyšetřen. Pacienti, u kterých je vzhledem k příznakům a projevům, např. akutní nebo zhoršující se zánět očí, slzení, citlivost na světlo, neostře vidění, bolest v očích a/nebo červené oči, podezření na zánět oční rohovky, mají být neodkladně odesláni k oftalmologovi. Byly hlášeny jednotlivé případy GIT perforace u pacientů s existujícími rizikovými faktory. IRESSA nemá žádný nebo má zanedbatelný vliv na schopnost řídit nebo obsluhovat stroje. **Nežádoucí účinky:** Nejčastěji hlášené nežádoucí účinky jsou průjem a kožní nežádoucí účinky (zahrnující vyrážku, akné, suchou kůži a svědění). Další hlášené nežádoucí účinky jsou nechutenství, zvracení, slabost, krvácení (např. krvácení z nosu a krev v moči), intersticiální plicní nemoc, změny jaterních parametrů (zvýšení ALT, AST a celkového bilirubinu), proteinurie a alopecie. **Těhotenství a kojení:** Ženy ve fertilním věku musí být poučeny, že v průběhu léčby nesmí otěhotnět. IRESSA by neměla být podávána během těhotenství, pokud to není nezbytné. IRESSA je kontraindikována v průběhu kojení. Kojení je nutné přerušit v průběhu léčby přípravkem IRESSA. **Balení přípravku:** 30 potahovaných tablet v jednom balení. **Uchovávání:** Uchovávejte v původním obalu, aby byl přípravek chráněn před vlhkostí. **Držitel registrace:** AstraZeneca AB, S-151 85, Södertälje, Švédsko. **Registrační čísla:** EU/1/09/526/001, EU/1/09/526/002. **Datum revize textu:** 20. 4. 2012. **Referenční číslo dokumentu:** 20042012API. **Výdej léčivého přípravku vázán na lékařský předpis a přípravek je hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění. Předtím, než přípravek předepíšete, pečlivě prostudujte Souhrn údajů o přípravku.** Podrobné informace o tomto přípravku jsou uveřejněny na webových stránkách Evropské agentury pro léčivé přípravky www.ema.europa.eu. Registrovaná ochranná známka IRESSA je majetkem AstraZeneca plc. © AstraZeneca 2012

Reference:

1. Mok TS et al. New Engl J Med 2009; 361(10): 947–957.
2. Maemondo M et al. N Engl J Med 2010; 362: 2380–2388.
3. Mitsudomi T et al. Lancet Oncol 2010; 11: 121–128.

AstraZeneca 

Afinitor® ...a cesta může pokračovat

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



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



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

Složení: Léčivá látka: Everolimus 5 mg nebo 10 mg. **Indikace:** *Léčba neresekovatelných nebo metastazujících, dobře nebo středně diferencovaných pankreatických neuroendokrinních tumorů u dospělých pacientů s progresí onemocnění. *Léčba pacientů s pokročilým renálním karcinomem, u kterých došlo k progresi onemocnění během VEGF-cílené terapie nebo po ní. **Dávkování:** Doporučená dávka je 10 mg jednou denně. Léčba by měla pokračovat tak dlouho, dokud je pozorován klinický přínos, nebo dokud se neobjeví nepřijatelné známky toxicity. Podávání dětem a mladistvým (<18 let) není doporučeno. U starších pacientů (>65 let) a pacientů se zhoršenou funkcí ledvin není nutná úprava dávkování. U pacientů se středně těžkým poškozením jater (třída B podle Childovy-Pughovy klasifikace) by měla být dávka snížena na 5 mg denně, u pacientů s těžkým poškozením jater (třída C podle Childovy-Pughovy klasifikace) se podávání Afinitoru nedoporučuje. **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na léčivou látku, na jiné deriváty rapamycinu nebo na kteroukoli pomocnou látku přípravku. **Zvláštní upozornění:** U 12 % pacientů užívajících Afinitor byla popsána nefekční pneumonitida, která je skupinovým účinkem derivátů rapamycinu. Při výskytu středně závažných příznaků by mělo být zváženo přerušení léčby až do zleptání příznaků. Při léčbě Afinitem mohou být pacienti náchylnější k bakteriální, plísňové nebo zloplazárním infekcím, včetně infekcí oportunními patogeny. U pacientů užívajících Afinitor byly popsány lokalizované a systémové infekce zahrnující pneumonie, jiné bakteriální infekce, invazivní plísňové infekce a virové infekce včetně reaktivity virové hepatitidy B. Některé z těchto infekcí byly závažné a občas fatální. Před zahájením léčby by měly být předcházející infekce zcela vyléčeny. V souvislosti s užíváním everolimu byly hlášeny příznaky přecitlivělosti. V případě výskytu ulcerace v ústech, stomatitidy a mukozitidy se doporučuje lokální léčba, k výplachu úst se nedoporučuje užívat roztoky obsahující alkohol, nebo peroxid. Před zahájením léčby a následně během léčby se doporučuje sledovat funkce ledvin. V klinických hodnoceních byly hlášeny hyperglykemie, hyperlipidemie a hypertriglyceridemie. Doporučuje se monitorovat sérové hladiny glukózy nalačno před zahájením léčby a poté pravidelně v jejím průběhu. V klinických studiích bylo hlášeno snížení hladiny hemoglobinu, počtu lymfocytů, neutrofilů a krevních destiček. Afinitor by se neměl podávat souběžně s inhibitory a induktory CYP3A4 a/nebo nespecifické efusní pumpy P-glykoproteinu (Pgp). *Při užívání Afinitoru v kombinaci s perorálně podávanými substráty CYP3A4 s úzkým terapeutickým indexem by mělo být z důvodu potenciálních lékových interakcí dbáno opatrnosti. *Pacienti se vzácnými dědičnými problémy s intolerancí galaktózy, vrozeným deficitem laktázy nebo malabsorpcí glukózy a galaktózy by tento léčivý přípravek neměli užívat. Porucha hojení ran je obecným účinkem derivátů rapamycinu, včetně Afinitoru. **Interakce:** Inhibitory CYP3A4 nebo Pgp, které mohou zvyšovat koncentrace everolimu v krvi: ketokonazol, itraconazol, posakonazol, vorikonazol, telithromycin, klaritromycin, nefazodon, ritonavir, atazanavir, sachinavir, darunavir, indinavir, nelfinavir, erythromycin, verapamil, perorálně podávaný cyklosporin, flukonazol, diltiazem, amprenavir, fosamprenavir, grapefruitový džus nebo jiné potraviny ovlivňující CYP3A4/Pgp. Induktory CYP3A4 nebo Pgp, které mohou

snížovat koncentrace everolimu v krvi: rifampicin, kortikosteroidy (např. dexametazon, prednizon, prednizolon), karbamazepin, fenobarbital, fenytoin, efavirenz, nevirapin, třezalka tečkovaná. Everolimus může ovlivnit biologickou dostupnost souběžně podávaných léků, které jsou substráty CYP3A4 a/nebo Pgp. Imunitní odpověď na očkování může být ovlivněna a proto může být očkování během léčby Afinitem méně účinné. V průběhu léčby by neměly být k očkování použity živé vakcíny. **Těhotenství a kojení:** Everolimus se nedoporučuje podávat těhotným ženám ani ženám ve fertilním věku, které neužívají účinnou antikoncepci. Ženy, které užívají everolimus, by neměly kojit. **Vliv na řízení vozidel a obsluhu strojů:** Pacienti by měli při řízení a obsluze strojů dbát zvýšené opatrnosti, pokud se u nich během léčby objeví únava. **Nežádoucí účinky:** Velmi časté: infekce, anemie, trombocytopenie, hyperglykemie, hypercholesterolemie, hypertriglyceridemie, anorexie, dysgeusie, bolesti hlavy, pneumonitida, dušnost, epistaxe, kašel, stomatitida, průjem, slizniční zánět, zvracení, nauzea, vyrážka, suchá kůže, svědění, onemocnění nehtů, únava, astenie, periferní otoky, horečka. Časté: leukopenie, lymfopenie, neutropenie, diabetes mellitus, hypofosfatemie, hypokalemie, hyperlipidemie, hypokalcemie, dehydratace, nespavost, konjunktivitida, edém očních víček, hypertenze, hemoragie, plicní embolie, hemoptýza, sucho v ústech, bolesti břicha, bolest v ústech, dysfagie, dyspepsie, zvýšená hladina alaninaminotransferázy, zvýšená hladina aspartátaminotransferázy, palmoplantární erytrodysestezie (hand-foot syndrom), erytém, kožní exfoliace, akneiformní dermatitida, onychoklaze, kožní léze, mírná alopecie, artralgie, zvýšená hladina kreatininu, selhání ledvin (včetně akutního selhání ledvin), proteinurie, bolest na hrudi. Méně časté: plicní embolismus. *Další nežádoucí účinky - viz úplná informace o přípravku. **Podmínky uchovávání:** Uchovávejte v původním obalu, chráňte před světlem a vlhkostí. **Dostupné lékové formy/velikosti balení:** 30 tablet. **Poznámka:** Dříve než lék předepíšete, přečtěte si pečlivě úplnou informaci o přípravku. Reg. číslo: Afinitor 5 mg – EU/1/09/538/001, Afinitor 10 mg – EU/1/09/538/004. Datum registrace: 03.08.2009. Datum poslední revize textu SPC: 03/2012. Držitel rozhodnutí o registraci: Novartis Europharm Limited, Horsham RH12 5AB, Velká Británie.

Výdej přípravku je vázán na lékařský předpis, indikace léčba pacientů s pokročilým renálním karcinomem, u kterých došlo k progresi onemocnění během VEGF-cílené terapie nebo po ní hrazena z prostředků veřejného zdravotního pojištění. Pro indikaci léčba neresekovatelných nebo metastazujících, dobře nebo středně diferencovaných pankreatických neuroendokrinních tumorů u dospělých pacientů s progresí onemocnění nebyla úhrada dosud stanovena.

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

Literatura: 1. Oudard S et al. Expert Rev. Anticancer Ther, 9(6), 705-717 (2009). 2. J of the National Comprehensive Cancer Network, vol 7, Nr 6. June 2009. 3. de Reijke TM, Bellmunt J et al. EORTC-GU group expert opinion on metastatic renal cell cancer, EJC 45(2009) 765-773. 4. Afinitor - Souhrn údajů o přípravku, 3/2012

AFINITOR®
(everolimus) tablety

NOVARTIS
ONCOLOGY

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