

KLINICKÁ ONKOLOGIE

Z obsahu:

Chirurgická léčba metastáz a jej vplyv na prognózu u pacientov s metastatickým kolorektálnym karcinómom

Na MRI založené 3D plánování brachyradioterapie karcinomů děložního hrdla – naše zkušenosti s použitím uterovaginálního aplikátoru Vienna Ring MR-CT

Significant Anti-tumor Effectiveness of Imatinib in C-kit Negative Gastrointestinal Stromal Tumor – Case Report



Slovenská
onkologická
spoločnosť

**Pokročilý renální karcinom v 1. linii
nebo ve 2. linii po cytokinech¹**



**Vybrané subtypy pokročilého sarkomu
měkkých tkání po chemoterapii¹**



Upozornění: Před předepsáním přípravku si prosím pečlivě přečtěte výčet kontraindikací a nežádoucích účinků v platném souhrnu údajů o přípravku (SPC)

ZKRÁCENÁ INFORMACE O PŘÍPRAVKU

NÁZEV A LÉKOVÁ FORMA: Votrient 200 nebo 400 mg potahované tablety. **SLOŽENÍ:** Pazopanibum 200 mg. **INDIKACE:** Přípravek Votrient je indikován u dospělých k podávání v první linii léčby pokročilého karcinomu ledviny a k léčbě pacientů, kterým byly dříve podávány cytokyiny pro pokročilé onemocnění. Votrient je indikován k léčbě dospělých pacientů s vybranými subtypy pokročilého sarkomu měkkých tkání, kteří podstoupili chemoterapii pro metastazující onemocnění nebo u pacientů, u kterých došlo k progresi onemocnění během 12 měsíců po (neo)adjuvantní terapii. **DÁVKOVÁNÍ:** Doporučená dávka pazopanibu u obou indikací je 800 mg jednou denně. Dávka se upravuje postupným přidáváním 200 mg podle individuální snášenlivosti. **SPECIÁLNÍ SKUPINY PACIENTŮ:** U poruchy renálních funkcí u pacientů s clearance kreatininu nad 30 ml/min není nutno dávku upravovat. Pacientům s clearance kreatininu nižší než 30 ml/min (0,5 ml/s) je třeba věnovat zvýšenou pozornost. U pacientů s mírnou až středně závažnou poruchou funkce jater je doporučeno podávat léčbu pazopanibem v dávce 800 mg, event. podle transamináz a hladin sérového bilirubinu dávku sníženou na 200 mg viz SPC. **Přísnější kritérium se vztahuje na pacienty, u kterých dochází k současnému zvýšení transamináz a bilirubinu během léčby, viz SPC (vizma Gilbertova sy).** Současné užívání pazopanibu a simvastatinu (statinu) zvyšuje riziko zvýšení hladin ALT a má probíhat s opatrností a za pečlivého monitorování. Pazopanib se nedoporučuje u pacientů s těžkou poruchou jaterních funkcí. Nemá být podáván dětem mladším 2 let. O použití pazopanibu u pacientů ve věku 65 let a starších jsou k dispozici pouze omezené údaje. **KONTRAINDIKACE:** Hypersenzitivita na léčivou látku nebo na kteroukoli pomocnou látku tohoto přípravku. Těžká porucha jaterních funkcí. **ZVLÁŠTNÍ UPOZORNĚNÍ:** Byly hlášeny případy jaterního selhání (včetně případů končících úmrtím). V klinických studiích s pazopanibem bylo pozorováno zvýšení sérových transamináz ALT, AST, většinou izolované bez zvýšení alkalické fosfatázy nebo bilirubinu. **Jaterní testy je třeba provést před zahájením léčby, ve 3., 5., 7. a 9. týdnu léčby, dále ve 3. a ve 4. měsíci a s doporučením pokračovat v jejich pravidelném monitorování i po 4. měsíci.** **INTERAKCE:** Vzhledem k riziku zvýšení expozice pazopanibu je třeba se vyvarovat souběžné léčby silnými inhibitory CYP3A4, glykoproteinem P (P-gp) nebo BCRP. V nezbytných případech souběžné léčby se silnými inhibitory CYP3A4 by se měl pazopanib podávat ve snížené dávce 400 mg denně. Vzhledem k riziku snížení expozice pazopanibu je třeba se vyvarovat podávání induktorů CYP3A4 nebo inhibitorů protonové pumpy (esomeprazol) viz SPC. Protože pazopanib je inhibitor UGT1A1, je při souběžném podávání pazopanibu a substrátů uřidlin difosfát-glukuronosyltransferázy 1A1 (UGT1A1) (např. irinotekan) nutno postupovat s opatrností. V průběhu léčby pazopanibem se nesmí pít grapefruitový džus. **TĚHOTENSTVÍ A KOJENÍ:** Adekvátní údaje o podávání pazopanibu těhotným ženám nejsou k dispozici. Studie na zvířatech prokázaly reprodukční toxicitu. Možné riziko pro člověka není známo. Pazopanib lze v těhotenství podat pouze v případě, že klinický stav ženy vyžaduje léčbu pazopanibem. Ženy ve fertilním věku by měly být poučeny, aby v průběhu léčby pazopanibem užívaly vhodnou metodu antikoncepce a vyvarovaly se otěhotnění. V průběhu léčby pazopanibem by mělo být kojení přerušeno. **NEŽÁDOUCÍ ÚČINKY:** Nejzávažnějšími závažnými nežádoucími účinky byly tranzitorní ischemická ataka, ischemická cévní mozková příhoda, ischemie a infarkt

myokardu, kardiální dysfunkce, gastrointestinální perforace, píštěl, prodloužení QT intervalu, plicní, gastrointestinální a cerebrální krvácení, tromboembolická nemoc a pneumothorax. **Nežádoucí účinky, které vedly k úmrtí souvisejícímu s léčbou pazopanibem zahrnovaly krvácení, trombotické příhody a střevní perforaci.** Jiné nežádoucí účinky - abnormální jaterní funkce, ischemická cévní mozková příhoda, závažná infekce mohly mít souvislost s úmrtím. Nejčastějšími nežádoucími účinky jakéhokoli stupně byly: průjem, změna barvy vlasů a kůže, hypertenze, nauzea, únava, anorexie, zvracení, dysgeuzie, zvýšení hladiny ALT, AST a bolesti břicha. Časté nežádoucí účinky: trombocytopenie, neutropenie, leukopenie, hypotyreóza, bolest hlavy, závratě, letargie, parestezie, návaly horka, epistaxe, dysfonie, dyspepsie, stomatitida, flatulence, abdominální distenze, porucha jaterních funkcí, hyperbilirubinémie, vyrážka, alopecie, syndrom palmo-plantární erytrodysestezie, hypopigmentace kůže, erytém, pruritus, depigmentace kůže, suchá kůže, hyperhidróza, myalgie, svalové spasmy, proteinurie, asténie, zánět sliznic, otok, bolest na hrudi, snížení hmotnosti, zvýšení hladiny kreatininu v krvi, zvýšení hladiny bilirubinu v krvi, snížení počtu bílých krvinek, zvýšení lipázy, zvýšení krevního tlaku, zvýšení TSH v krvi, zvýšení GMT, nové mikroangiopatická angiotenie a zadní reverzibilní encefalopatie (PRES). Pazopanib není indikován do kombinace s jinou léčivou látkou. **FARMAKOLOGICKÉ VLASTNOSTI:** Inhibitor proteinkinázy, ATC kód: L01XE11, inhibitor na receptorech VEGFR-1, -2 a -3, PDGFR- α a - β , SCF. **UCHOVÁVÁNÍ:** Žádné zvláštní podmínky uchovávání se nevyžadují. **DOBA POUŽITELNOSTI:** 2 roky. **BALENÍ:** HDPE lahvička s dětským bezpečnostním uzávěrem, 30, 60 nebo 90 tablet. **DRŽITEL ROZHODNUTÍ O REGISTRACI:** Glaxo Group Limited, 980 Great West Road, Brentford, Middlesex, TW8 9GS, Velká Británie. **REG. ČÍSLO:** EU/1/10/628/001-004. **REGISTRACE:** 14. 6. 2010. **REVIZE TEXTU:** 18. 12. 2013. **DOSTUPNOST LÉKU:** Lék je vázán na lékařský předpis a pro renální karcinom je hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění, pro sarkom není úhrada stanovena (přesné podmínky úhrady jsou uvedeny na adrese www.sukl.cz). Před použitím léku si prosím přečtěte úplný Souhrn údajů o přípravku na www.gskkompendium.cz nebo se obraťte na společnost GSK s.r.o. Poslední aktualizace potvrzené. Případné nežádoucí účinky nám prosím nahláste na cz.safety@gsk.com.

SPC je platné ke dni vydání propagačního materiálu: 1. 2. 2014.

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

Literatura: 1. Souhrn údajů o přípravku Votrient (pazopanib), GlaxoSmithKline, 2013.



členská
společnost

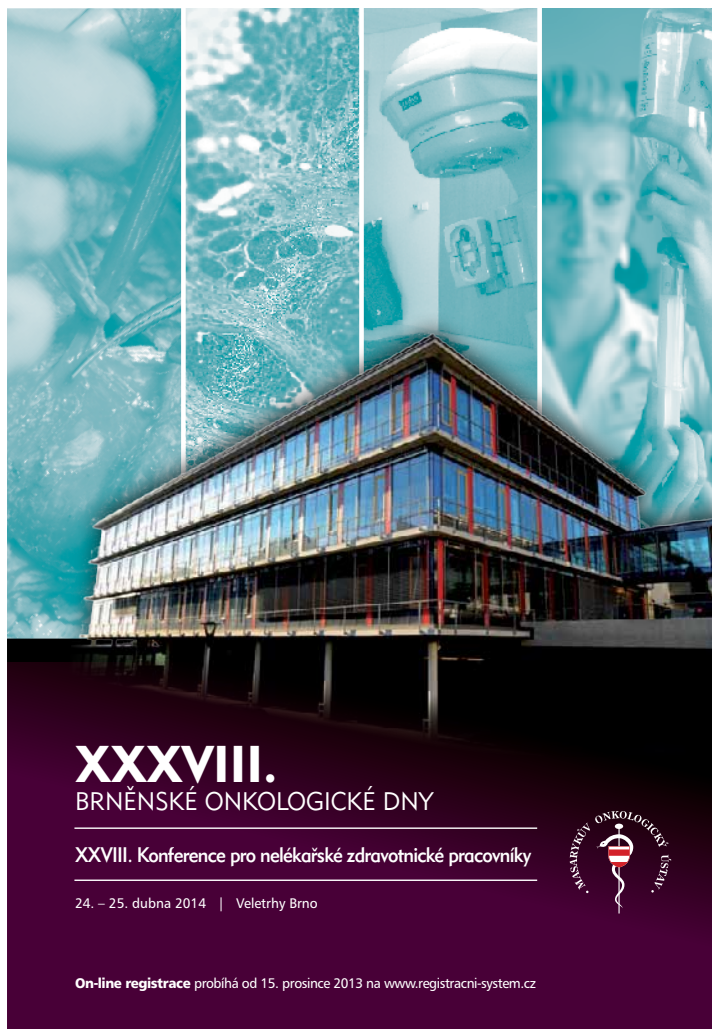
aifp

Asociace inovativního
farmaceutického průmyslu

Brněnské onkologické dny

a Konference pro nelékařské zdravotnické pracovníky

se v roce 2014 těší na Vaši účast!



Přihlašte Vaše sdělní do těchto sekcí:

- Onkologická prevence a screening
- Epidemiologie nádorů, klinické registry, zdravotnická informatika
- Vzdělávání, kvalita a bezpečnost v onkologické praxi
- Diagnostické metody v onkologii
 - Radioterapie
 - Onkochirurgie
- Systémová protinádorová léčba
- Nežádoucí účinky protinádorové léčby
 - Podpůrná a paliativní léčba
- Nutriční podpora v onkologii
 - Ošetrovatelská péče
 - Psychosociální péče
- Pacientské organizace a spolupráce s veřejností
- Základní a aplikovaný výzkum v onkologii
- Vývoj nových léčiv, farmakoeconomika, klinická farmacie v onkologii
 - Nádory prsu
 - Nádory kůže a maligní melanom
 - Nádory jícnu a žaludku
 - Nádory tlustého střeva a konečníku
 - Nádory slinivky, jater a žlučových cest
 - Neuroendokrinní a endokrinní tumory
 - Sarkomy
 - Nádory hlavy a krku
 - Nádory plic, průdušek a pleury
 - Gynekologická onkologie
 - Uroonkologie
 - Nádory nervového systému
 - Hematoonkologie
 - Nádory dětí, adolescentů a mladých dospělých
 - Jiné malignity (ostatní, jinde nezařaditelné malignity)
 - Varia (ostatní, jinde nezařaditelné příspěvky)

V rámci konferencí se uskuteční následující edukační bloky:

Karcinom prsu – Karcinom žaludku – Melanom – PNET – Nádory pankreatobiliárního systému – Nádory hlavy a krku – Imunoterapie – Radiochirurgie – Podpůrná a paliativní léčba – Interkulturní aspekty v ošetrovatelství – Péče o pacienty v závěru života.

Soutěže:

Soutěž o nejzajímavější kazuistiku – To nejlepší z onkologického výzkumu –
Soutěž o nejlepší posterové sdělení

Poznamenejte si!

Místo a datum konání: Veletrhy Brno, 24.–25. dubna 2014

Registrace k pasivní účasti bude možná pouze elektronicky od 15. 12. 2013 do 5. 4. 2014.

Poslední termín k registraci aktivní účasti a zaslání abstrakt příspěvků: 20. 2. 2014.

<http://www.registracni-system.cz>

AFINITOR®

(everolimusum) tablety

... více než zdvojnásobuje přežití bez progresse onemocnění¹

Afinitor je indikován v kombinaci s exemestanem u postmenopauzálních pacientek s HR+ HER2-pokročilým karcinomem prsu bez symptomatického viscerálního metastatického postižení s recidivou nebo progresí onemocnění po předchozí léčbě nesteroidními inhibitory aromatázy¹

AFINITOR® 5 mg tablety AFINITOR® 10 mg tablety

Složení: Léčivá látka: Everolimusum 5 mg nebo 10 mg.

Indikace: Léčba postmenopauzálních žen s hormonálně pozitivním HER2 negativním pokročilým karcinomem prsu bez symptomatického viscerálního postižení s recidivou nebo progresí onemocnění po předchozí léčbě nesteroidními inhibitory aromatáz. Léčba neresekovatelných nebo metastazujících, dobře nebo středně diferencovaných pankreatických neuroendokrinních tumorů u dospělých pacientů s progresí onemocnění. Léčba pacientů s pokročilým renálním karcinomem, u kterých došlo k progresí onemocnění během VEGF-cílené terapie nebo po ní. **Dávkování:** Doporučená dávka je 10 mg jednou denně. Léčba by měla pokračovat tak dlouho, dokud je pozorován klinický přínos, nebo dokud se neobjeví nepřijatelné známky toxicity. Podávání dětem a mladistvým (<18 let) není doporučeno. U starších pacientů (≥65 let) a pacientů se zhoršenou funkcí ledvin není nutná úprava dávkování. *U pacientů s mírným zhoršením funkce jater (Child-Pugh A) je doporučená dávka 7,5 mg denně, u pacientů se středním zhoršením funkce jater (Child-Pugh B) je doporučená dávka 5 mg denně, u pacientů se závažným zhoršením funkce jater (Child-Pugh C) se podávání Afinitoru v dávce 2,5 mg denně doporučuje jen v případech, kdy očekávaný prospěch převáží míru rizika.* **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na léčivou látku, na jiné deriváty rapamycinu nebo na kteroukoli pomocnou látku přípravku. **Zvláštní upozornění:** U 12% pacientů užívajících Afinitor byla popsána neinfekční pneumonitida, která je skupinovým účinkem derivátů rapamycinu. Při výskytu středně závažných příznaků by mělo být zváženo přerušení léčby až do ústupu klinických příznaků. Při léčbě Afinitorem mohou být pacienti náchylnější k bakteriálním, plísňovým nebo protozoárním infekcím, včetně infekcí oportunními patogeny. U pacientů užívajících Afinitor byly popsány lokalizované a systémové infekce zahrnující pneumonie, jiné bakteriální infekce, invazivní plísňové infekce a virové infekce včetně reaktive 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, peroxid, *deriváty jodu a mateřídoušky*. 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 efluxní pumpy P glykoproteinu (PgP). Při užívání Afinitoru v kombinaci s perorálně podávanými substráty CYP3A4 s úzkým terapeutickým indexem by mělo být z důvodu potenciálních lékových interakcí dbáno opatrnosti. Pacienti se vzácnými dědičnými problémy s intolerancí galaktózy, vrozeným deficitem laktázy nebo malabsorpcí glukózy a galaktózy by tento léčivý přípravek neměli užívat. Porucha hojení ran je obecným účinkem derivátů rapamycinu, včetně Afinitoru. **Interakce:** Inhibitory CYP3A4 nebo PgP, které mohou zvyšovat koncentrace everolimu v krvi: ketokonazol, itraconazol, posakonazol, vorikonazol, telithromycin, klarithromycin, nefazodon, ritonavir, atazanavir, sachinavir, darunavir, indinavir, nelfinavir, erythromycin, *imatinib*, verapamil, perorálně podávaný cyklosporin, flukonazol, diltiazem, *dromedaron*, amprenavir, fosamprenavir, grapefruitový džus nebo jiné potraviny ovlivňující CYP3A4/PgP. Induktory CYP3A4 nebo PgP, které mohou snižovat koncentrace everolimu v krvi: rifampicin, kortikosteroidy (např. dexametazon, prednizon, prednizolon), karbamazepin, fenobarbital, fenytoin, efavirenz, nevirapin, třezalka tečkovaná. Everolimus může ovlivnit biologickou dostupnost souběžně podávaných léků, které jsou substráty CYP3A4 a/nebo PgP. Imunitní odpověď na očkování může být ovlivněna a proto může být očkování během léčby Afinitorem méně účinné. V průběhu léčby by neměly být k očkování použity živé vakcíny. **Těhotenství a kojení:** Ženy ve fertilním věku musí používat během léčby a 8 týdnů po ukončení léčby everolimem vysoce účinnou antikoncepci. Ženy, které užívají everolimus, by neměly kojit. **Vliv na řízení vozidel a obsluhu strojů:** Pacienti by měli při řízení a obsluze strojů dbát zvýšené opatrnosti, pokud se u nich během léčby objeví únava. **Nežádoucí účinky:** *Velmi časté:* infekce, anémie, trombocytopenie, hyperglykemie, hypercholesterolemie, hypertriglyceridemie, ano-rexie, 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, hypokalcemie, hyperlipidemie, hypokalcemie, dehydratace, nespavost, konjunktivitida, edém očních víček, hypertenze, hemoragie, plicní embolie, hemoptýza, sucho v ústech, bolesti břicha, bolest v ústech, dysfagie, dyspepsie, zvýšená hladina alaninaminotransferázy, zvýšená hladina aspartátaminotransferázy, palmoplantární erytrodysestezie (hand-foot syndrom), erytém, kožní exfoliace, akneiformní dermatitida, onychoklaxe, kožní léze, mírná alopecie, artralgie, zvýšená hladina kreatininu, selhání ledvin (včetně akutního selhání ledvin), proteinurie, bolest na hrudi. *Méně časté:* plicní embolismus. **Další nežádoucí účinky - viz úplná informace o přípravku. Podmínky uchovávání:** Uchovávejte v původním obalu, chráňte před světlem a vlhkostí. **Dostupné lékové formy/velikosti balení:** 30 tablet. **Poznámka:** Dříve než lék předepíšete, přečtěte si pečlivě úplnou informaci o přípravku. **Reg. číslo:** Afinitor 5 mg – EU/1/09/538/001, Afinitor 10 mg – EU/1/09/538/004. **Datum registrace:** 03. 08. 2009. **Datum poslední revize textu SPC:** 21. 11. 2013. **Držitel rozhodnutí o registraci:** Novartis Europharm Limited, Horsham RH12 5AB, Velká Británie.

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

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

Editorial

Gastrointestinální stromální tumory (gastrointestinal stromal tumours – GISTs) představují modelový vzor překotného růstu vědeckých poznatků, počínaje molekulární diagnostikou a cílenou léčbou na molekulární úrovni konče.

GISTs patří mezi vzácné mezenchymální nádory trávicího traktu. Z celkového počtu nádorů zažívacího ústrojí představují přibližně jen 1 %, což představuje v České republice cca 150 nových případů ročně. Průměrný věk pacientů je v době diagnózy 60 let. Diagnostikovány jsou případy od malých indolentních nádorů, které jsou léčitelny pouhou excizí, až po nádory maligní povahy.

GISTs jsou charakteristické silnou expresí tyrozinkinázového receptoru C-kit, jde o membránový protein (CD 117), který je nejdůležitějším imunohistochemickým markerem těchto nádorů. Současně s jeho vysokou expresí bývají detekovány aktivující mutace genu *C-KIT* na dlouhém raménku 4. chromozomu. Přibližně 5–10 % GISTs C-kit protein neexprimuje. U těchto nádorů je často detekována mutace v genu *PDGFR*, který také kóduje příbuzný tyrozinkinázový receptor (receptor tyrosine kinase – RTK), jež představuje terčovou strukturu pro cílenou terapii metastatického či lokálně pokročilého inoperabilního onemocnění.

Radikální chirurgický výkon s dosažením R0 resekce patří mezi standardní postup v léčbě nemetastatického onemocnění a je nejdůležitějším prognostickým faktorem pro přežití. Pětileté přežití se pohybuje kolem 50 %. Navzdory kompletní resekci recidivuje 80 % GISTs, nejčastěji intraabdominálně. U vybrané

skupiny nemocných může odstranění metastázy zlepšit přežití. Jde zejména o pacienty s dobře nebo středně diferencovanými GISTs, s intervalem bez příznaků nemoci od stanovení diagnózy do zjištění metastáz delším než jeden rok a s izolovanými resekovatelnými jaterními metastázami.

Na významném poklesu mortality u metastatického a/nebo lokálně pokročilého onemocnění se podílí nové léky, tyrosinkinázové inhibitory – imatinib, sunitinib a regorafenib. Největší lékový potenciál prokázal imatinib, který projevuje přínos i v eliminaci případné reziduální choroby po operaci GISTs s vysokým rizikem recidivy.

Vytvoření pracovišť pro léčbu pacientů s GISTs při komplexních onkologických centrech (KOC) bylo nevyhnutelnou podmínkou pro centralizaci vysoce specializované onkologické péče. Aktuálně se jedná o pracoviště: KOC FN Praha-Motol, Masarykův onkologický ústav a FN Brno, Hradec Králové, Olomouc, Plzeň a České Budějovice. Pro osud pacientů s GISTs je zcela nezbytná oboustranná dobrá spolupráce a komunikace lékařů KOC a „necentrových“ lékařů. Nesmírně důležitý je i význam multioborové spolupráce mezi gastroenterologem, chirurgem, radiologem, onkologem, patologem a molekulárním biologem při upřesnění diagnózy včetně „druhého čtení“, imunohistochemie a zvláště pak v individuálním přístupu k pacientům.

Epidemiologii, léčbu a výsledky léčby pacientů s diagnózou GISTs v České republice a na Slovensku monito-

ruje klinický registr „reGISTeR“. K datu 11. 11. 2013 obsahoval záznamy od téměř 1 400 pacientů, z toho 606 nemocných mělo záznam o systémové léčbě.

Entuziazmus pro cílenou léčbu častých epiteliálních nádorů zažívacího traktu se zatím nenaplnil, cílená léčba je provázena mnohými nežádoucími účinky a relativně časný vznik rezistence brání dlouhotrvajícímu efektu. Vzácné mezenchymální GISTs představují pravý opak. Jak ukazují data z klinického registru, medián celkového přežití (overall survival – OS) pacientů od zahájení léčby imatinibem pro metastatický a/nebo lokálně pokročilý GISTs činil 62,5 měsíce u 446 léčených. Po selhání imatinibu byl v 2. linii léčby indikován u 147 nemocných sunitinib s mediánem OS 17,9 měsíce. V tomto směru nabízejí výše zmíněné inhibitory receptorů tyrozinkinázy značnou naději pro nemocné s GISTs – ambulantní léčba (jedna tableta denně bez jakýchkoli složitých aplikačních systémů), s minimem nežádoucích účinků a tedy při zachování dobré kvality života.

Časopis Klinická onkologie v tomto čísle publikuje dva případy pacientů s GIST. V prvním případě je prezentován diagnostický a léčebný proces u pacientky s C-kit negativním GIST, ve druhém případě neobvyklý průběh onemocnění s ohledem na místa jeho generalizace. Oba případy demonstrují potřebu léčby těchto pacientů ve specializovaných centrech.

MUDr. Ilona Kocáková, Ph.D.
Klinika komplexní onkologické péče LF MU
a Masarykův onkologický ústav, Brno

FASLODEXTM v dávce **500mg**
fulvestrant

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



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

Kvalitativní a kvantitativní složení: jedna předem naplněná injekční stříkačka obsahuje 250 mg fulvestrantu (fulvestrant) v 5 ml injekčního roztoku. **Terapeutické indikace:** Faslodex je indikován k léčbě postmenopauzálních žen s hormonálně dependentním, lokálně pokročilým nebo metastatickým karcinomem prsu při relapsu onemocnění v průběhu nebo po adjuvantní antiestrogenové terapii nebo progresi onemocnění při léčbě antiestrogeny. **Dávkování a způsob podání:** doporučená dávka je 500 mg jednou měsíčně s dodatečnou dávkou 500 mg po dvou týdnech od první (zahajovací) dávky; Faslodex má být podáván jako dvě 5 ml injekce a aplikován pomalu nitrosvalem po jedné injekci do každé žýždě (1–2 minuty/injekce). **Kontraindikace:** Faslodex je kontraindikován u pacientek se známou přecitlivělostí na účinnou látku nebo pomocné látky přípravku, v těhotenství, při kojení a při závažném poškození jater. Faslodex se nedoporučuje používat u dětí a dospívajících. **Zvláštní upozornění:** u pacientek s mírným až středním poškozením jater, u pacientek se závažným poškozením ledvin (clearance kreatininu < 30 ml/min) a u pacientek s krvácející diatézou, trombocytopenií či léčených antikoagulancii je třeba užívat Faslodex opatrně. **Interakce:** pacientkám, kterým je podáván fulvestrant současně s inhibitory nebo s induktory CYP3A4, není nutné upravovat dávku. **Těhotenství a kojení:** Faslodex je kontraindikován v těhotenství a v době kojení. **Nežádoucí účinky:** nejčastěji hlášenými nežádoucími účinky, které jsou obvykle mírné, jsou návaly horka, nevolnost a reakce v místě injekce. Dále zvracení, průjem, nechutenství, zvýšené hladiny jaterních enzymů, vyrážka, infekce urogenitálního traktu, bolest hlavy a zad, astenie. **Zvláštní opatření pro uchovávání:** uchovávejte při 2–8 °C (v chladničce). Uchovávejte v původním obalu, aby byl přípravek chráněn před světlem. **Držitel rozhodnutí o registraci:** AstraZeneca UK Ltd., Macclesfield, Cheshire, Velká Británie **Registrační číslo:** EU/1/03/269/001. **Datum revize textu SPC:** 13. 9. 2013. **Referenční číslo dokumentu:** 13092013API. Výdej léčivého přípravku vázán na lékařský předpis. Přípravek je hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění. Předtím, než přípravek předepíšete, přečtěte si pozorně úplnou informaci o přípravku, kterou naleznete na adrese: AstraZeneca Czech Republic s. r. o., Plzeňská 3217/16, 150 00 Praha 5, tel.: +420 222 807 111, fax: +420 222 807 221 nebo na www.astrazeneca.cz nebo na webových stránkách Evropské agentury pro léčivé přípravky <http://www.ema.europa.eu/>.

Registrovaná ochranná známka FASLODEX je majetkem AstraZeneca plc.

© AstraZeneca 2013

HR+ hormonálně pozitivní

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

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

AstraZeneca 

Obsah | Contents

Editorial	5
PŘEHLEDY REVIEWS	
Second Primary Cancers – Causes, Incidence and the Future	11
Druhé nádory – příčiny, incidence a budoucnost Koubkova L., Hrstka R., Dobes P., Vojtesek B., Vyzula R.	
Cytokinové profily mnohočetného myelomu a Waldenströmovy makroglobulinemie	18
Cytokine Profiles of Multiple Myeloma and Waldenström Macroglobulinemia Sedlářiková L., Sadílková K., Kubiczková L., Hájek R., Ševčíková S.	
Lymfomy se dvěma zásahy – přehled literatury a kazuistika	24
Double-hit Lymphomas – Review of the Literature and Case Report Šmardová J., Moulis M., Lišková K., Koptíková J., Hrabálková R., Klusáková J.	
PŮVODNÍ PRÁCE ORIGINAL ARTICLES	
Interakcia medzi p53 a MDM2 v nádorových bunkách karcinómu pľúc	33
Interaction between p53 and MDM2 in Human Lung Cancer Cells Rybárová S., Hodorová I., Vecanová J., Muri J., Mihalik J.	
Chirurgická liečba metastáz a jej vplyv na prognózu u pacientov s metastatickým kolorektálnym karcinómom	38
Surgical Treatment of Metastases and its Impact on Prognosis in Patients with Metastatic Colorectal Carcinoma Ševčíková K., Ušáková V., Bartošová Z., Sabol M., Ondrušová M., Ondruš D., Špánik S.	
Na MRI založené 3D plánování brachyradioterapie karcinomů děložního hrdla – naše zkušenosti s použitím uterovaginálního aplikátoru Vienna Ring MR-CT	45
MRI Based 3D Brachytherapy Planning of the Cervical Cancer – Our Experiences with the Use of the Uterovaginal Vienna Ring MR-CT Applicator Vojtíšek R., Mouryc F., Čechová D., Ciprová R., Ferda J., Fínek J.	
KAZUISTIKY CASE REPORTS	
Significant Anti-tumor Effectiveness of Imatinib in C-kit Negative Gastrointestinal Stromal Tumor – Case Report	52
Významná protinádorová účinnost imatinibu u c-kit negativního gastrointestinálního stromálního tumoru – kazuistika Kocáková I., Kocák I., Špelda S., Fabian P., Jurečková A., Vyzula R.	
Gastric Gastrointestinal Stromal Tumor with Bone Metastases – Case Report and Review of the Literature	56
Gastrointestinální stromální nádor žaludku s diseminací do kostí – kazuistika a přehled literatury Şahin E., Yetişyigit T., Öznur M., Elboğa U.	

SDĚLENÍ | SHORT COMMUNICATIONS

Knowledge Transfer at the RECAMO Summer School of 2013 60

Předávání znalostí na letní škole Regionálního centra aplikované molekulární onkologie v roce 2013
Sheard MA, Zdrzilova-Dubská L.

AKTUALITY V ONKOLOGII | ONCOLOGY HIGHLIGHTS

Biosimilars (ne)jen v onkologii – dnešní realita i budoucnost 64

Demlová R.

Zajímavé případy z nutriční péče v onkologii 67

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

Enzalutamid (Xtandi®) – nová šance pro pacienty s kastrálně refrakterním karcinomem prostaty 69

Tomášek J.

RŮZNÉ | VARIOUS

Onkologie v obrazech 71

Umělecké projevy toxicity protinádorové léčby
Svoboda M.

OSOBNÍ ZPRÁVY | PERSONALIA

V lednu letošního roku zemřel ve vysokém věku doc. MUDr. Václav Bek, DrSc. 72

Konopásek B.

RECENZE KNIHY | BOOK REVIEW

Recenze knihy „Principy systémové protinádorové léčby“ 73

Říhová B.

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



Afinitor® ...a cesta může pokračovat

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



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



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

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

podávaný cyklosporin, flukonazol, diltiazem, *dromedaron*, amprenavir, fosamprenavir, grapefruitový džus nebo jiné potraviny ovlivňující CYP3A4/Pgp. Induktory CYP3A4 nebo Pgp, které mohou snižovat koncentrace everolimu v krvi: rifampicin, kortikosteroidy (např. dexametazon, prednizon, prednizolon), karbamazepin, fenobarbital, fenytoin, efavirenz, nevirapin, třezalka tečkovaná. Everolimus může ovlivnit biologickou dostupnost souběžně podávaných léků, které jsou substráty CYP3A4 a/nebo Pgp. Imunitní odpověď na očkování může být ovlivněna a proto může být očkování během léčby Afinitemorem méně účinné. V průběhu léčby by neměly být k očkování použity živé vakcíny. **Těhotenství a kojení:** *Ženy ve fertilním věku musí používat během léčby a 8 týdnů po ukončení léčby everolimem vysoce účinnou antikoncepci. * Ženy, které užívají everolimus, by neměly kojit. **Vliv na řízení vozidel a obsluhu strojů:** Pacienti by měli při řízení a obsluze strojů dbát zvýšené opatrnosti, pokud se u nich během léčby objeví únavy. ***Nežádoucí účinky:** Velmi časté: infekce, anémie, snížená chuť k jídlu, hyperglykemie, hypercholesterolemie, dyzgezie, bolesti hlavy, pneumonitida, epistaxe, stomatitida, průjem, nauzea, zvracení, vyrážka, svědění, únava, periferní otoky, astenie, úbytek tělesné hmotnosti. Časté: trombocytopenie, neutropenie, leukopenie, lymfopenie, hypotriglyceridemie, hypofosfatemie, diabetes mellitus, hyperlipidemie, hypokalemie, dehydratace, hypokalcemie, nespavost, edém očních víček, hypertenze, hemoragie, kašel, dušnost, sucho v ústech, bolesti břicha, slizniční zánět, bolest v ústech, dyspepsie, dysfagie, zvýšená hladina alaninaminotransferázy, zvýšená hladina aspartátaminotransferázy, suchá kůže, onemocnění nehtů, mírná alopecie, akné, erytém, onychoklaze, palmoplantární erytrodysestezie (hand-foot syndrom), kožní exfoliace, kožní léze, artralgie, proteinurie, zvýšená hladina kreatininu v krvi, selhání ledvin, pyrexie. Méně časté: plicní embolismus, akutní selhání ledvin. * **Další nežádoucí účinky - viz úplná informace o přípravku.** **Podmínky uchovávání:** Uchovávejte v původním obalu, chraňte 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:** 21.11.2013. **Držitel rozhodnutí o registraci:** Novartis Europharm Limited, Horsham RH12 5AB, Velká Británie.

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

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

Literatura: 1. Oudard S et al. Expert Rev. Anticancer Ther. 9(6), 705-717 (2009). 2. J of the National Comprehensive Cancer Network, vol 7, Nr 6. June 2009. 3. de 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, 11/2013

AFINITOR®
(everolimusum) tablety

NOVARTIS
ONCOLOGY

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

Vyhlášení výsledků soutěže

O NEJLEPŠÍ PRÁCI V ROCE 2013

publikovanou v časopise **Klinická onkologie**:

Soutěž uspořádala redakční rada časopisu Klinická onkologie, oficiálního časopisu České onkologické společnosti ČLS JEP a Slovenskej onkologickej spoločnosti SLS, spolu s nakladatelem, společností Ambit Media, a. s., a za podpory společnosti AstraZeneca Czech Republic s. r. o.

Vítězi soutěže se stali

v kategorii **Původní práce**

Báľentová S., Hajtmanová E., Tryľčová R., Lehotský J., Adamkov M.

za práci

Proliferation Activity in the Adult Rat Brain Following Exposure to Ionizing Radiation
Klin Onkol 2013; 26(5): 331–335,

v kategorii **Přehled**

Hanuš M., Matoušková M., Dušek L.

za práci

Karcinom prostaty, aktuální dilemma uroonkologie.
Jak prospět ohroženým pacientům a neuškodit těm ostatním
Klin Onkol 2013; 26(3): 170–178,

a v kategorii **Kazuistika**

**Bílek O., Tuček Š., Veselý K., Fabian P., Robešová B., Adámková Krákorová D.,
Lakomý R., Svoboda M., Jurečková A., Halámková J., Králová J., Šikulíncová L.,
Podhorec J., Tomášek J., Kiss I., Vyzula R.**

za práci

Maligní melanom léčený intenzivní chemoterapií, podobnost histologického obrazu
maligního melanomu a nádorů měkkých tkání, kazuistika pacientky
Klin Onkol 2013; 26(1): 42–46.

Redakce bude kontaktovat první autory.

Ceny budou předány na slavnostním večeru, který se bude konat při příležitosti pořádání
XXXVII. Brněnských onkologických dnů a XXVII. Konference pro nelékařské zdravotnické pracovníky
dne 24. 4. od 21.00 v brněnském hotelu Voroněž.

Vítězům blahopřejeme!

Partner:

AstraZeneca 

Second Primary Cancers – Causes, Incidence and the Future

Druhé nádory – příčiny, incidence a budoucnost

Koubkova L., Hrstka R., Dobes P., Vojtesek B., Vyzula R.

Regional Centre for Applied Molecular Oncology, Masaryk Memorial Cancer Institute, Brno, Czech Republic

Summary

Thanks to continually improving screening programs, diagnostic, and treatment methods, the survival rate in newly diagnosed cancer patients is increasing. With this improvement in survival, attention is now being focused on potential long-term complications such as multiple primary tumors, which represent a leading cause of late non-relapse mortality. The number of patients who survive cancer diagnosis is growing by 2% each year. Multiple primary neoplasms have become the third most common finding in oncology since 1890's, when they were first described. This review aims to summarize recent information regarding the multiple primary neoplasms, elucidate the definition, etiology, association with the primary cancer treatment, genetic and environmental dispositions and finally, it recapitulates new approaches to identification of the risk factors for multiple cancers.

Key words

neoplasms multiple primary – treatment-related cancers – SEER program

Souhrn

Díky stále se zlepšující diagnostice a pokrokům v léčbě se zvyšují počty přeživších onkologických pacientů. Na druhou stranu je nutné věnovat zvýšenou pozornost případným komplikacím léčby primárního nádoru, jako jsou např. druhé nádory, které v konečném důsledku představují hlavní příčinu úmrtí pacienta. Počet pacientů, kteří přežijí prvotní onkologickou diagnózu se každoročně zvyšuje asi o 2 %. Od 90. let 19. století, kdy byly vícenásobné primární malignity poprvé popsány, se staly třetí nejběžnější nádorovou diagnózou. Tento přehledový článek stručně shrnuje recentní informace o vícenásobných primárních novotvarech, jejich definici, etiologii, souvislosti s léčbou primárního nádoru, genetických dispozicích, vlivu faktorů životního prostředí i nových přístupech vhodných k jejich identifikaci.

Klíčová slova

novotvary vícečetné primární – s léčbou spojené nádory – SEER program

This work was supported by the European Regional Development Fund and the State Budget of the Czech Republic RECAMO CZ.1.05/2.1.00/03.0101, GA ČR P206/12/G151, IGA NT13794-4/2012 and by Institutional Resources for Supporting the Research Organization provided by the Ministry of Health of the Czech Republic to Masaryk Memorial Cancer Institute MH CZ – DRO (MMCI, 00209805).

Tato práce byla podpořena Evropským fondem pro regionální rozvoj a státním rozpočtem České republiky RECAMO CZ.1.05/2.1.00/03.0101, GA ČR P206/12/G151, IGA NT13794-4/2012 a prostředky institucionální podpory výzkumné organizace MOU poskytnuté MZ ČR – DRO (MOU, 00209805).

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.



prof. MUDr. Rostislav Vyzula, CSc.
Regional Centre for Applied Molecular Oncology
Masaryk Memorial Cancer Institute
Zluty kopec 7
656 53 Brno
Czech Republic
e-mail: vyzula@mou.cz

Submitted/Obdrženo: 2. 7. 2013

Accepted/Přijato: 18. 8. 2013

Introduction and definitions

Cancer is a multifactorial disease and the second most common cause of death after cardiovascular diseases. The onset of cancer is a long-term process involving interactions between many genetic and environmental factors. Continuous progress is being made in the fields of early cancer detection, diagnostic sub-classification and targeted treatments, leading to an apparent survival benefit in patients with malignancy. On the other hand, cancer survivors are at higher risk of developing another malignancy compared with the general population. Longer life span, allowing another carcinogenic process to occur, the susceptibility of older tissues to carcinogenic molecular changes together with toxic effects of radiotherapy and chemotherapy in different genetic backgrounds are all risk factors implicated in the etiology of multiple primary neoplasms/cancers (MPNs). In the 1890's, MPNs appeared rarely and they were considered curiosities. However, since that time, MPNs have become the third most common cancer diagnosis and now they constitute 18% of all cancers diagnosed in the US Surveillance, Epidemiology and End Results cancer registries [1]. Regarding Europe, for instance in Czech Republic the incidence of MPNs is more than 11% [2]. This tendency is growing rapidly and requires thorough surveillance by means of new screening methods in order to detect second or even third neoplasms at an early stage. When considering second primary cancers, one should be aware of their precise definition to avoid any bias in their study. In 1889 MPNs were defined by Billroth [3] as tumors that have different histological appearance, arise in different locations and produce their own metastatic deposits. Because of these strict criteria and difficulties with recognition they were only poorly studied. The definition was modified by Warren and Gates in 1932 [4]. According to them, each tumor has to present definite attributes of malignancy, the tumors have to be histologically distinctive and the possibility of one being a metastasis of the other must be ruled out [4]. Performing meta-analyses or literature reviews therefore encounters the problem of incoherent terms used to de-

fine multiple primary neoplasms. In some papers, MPNs differ just in histology, or have the same histology but arise in different organs [5].

MPNs are generally divided in two major groups – synchronous and metachronous. There are many studies defining synchronous tumors as two or more primary malignancies diagnosed within a six-month period, while metachronous cancers are detected in sequence with a time interval of more than six months [6]. However, this definition is not generally accepted. For instance, cancer registries in United States – Surveillance, Epidemiology and End Results (SEER) Program applies a 2-month rule to distinguish synchronous from metachronous tumors, whereas the definition provided by the World Health Organization's International Agency for Research on Cancer (IARC) does not take time into account and reckons only one tumor per organ per person in a life-time. Another problem lies in the criteria used to define whether the second tumor is indeed a new entity or whether it is a recurrence/metastasis of the primary tumor. In general, the diagnosis of MPN can be established on condition that it has a histological pattern different from the first tumor and it is localized at a different anatomical site [7]. Yet, this definition is not entirely appropriate, since metastases can have unlike histology and multiple primaries with similar histology can arise in one organ. Thus, there is a need of creating a consensus on the definition of multiple primary cancers for the sake of comparing data throughout various cancer registries. The introduction of next-generation sequencing technology or the identification of new specific mutations, translocations or copy-number variations in common oncogenes represent promising tools to resolve the problem, since the clonal tumors have the same origin and share common mutations, in contrast to multiple primaries that present with different mutation spectra.

Etiology of second or later cancers (genetic, environmental and life style factors)

Carcinogenesis is a multi-step and complex process that requires the accumula-

tion of changes in cell signaling, defense mechanisms and the tissue microenvironment. Hanahan and Weinberg [8] originally described six essential cellular functions that might be play a role in tumor manifestation: self-sufficiency in growth signals, insensitivity to growth suppressors, apoptosis evading, unlimited replicative potential, sustained angiogenesis, tissue invasion and metastasis. Together they constitute a rationale for understanding malignant diseases. The ongoing research brought about two new hallmarks to this concept – reprogramming of energy metabolism and immune response evasion [9]. Moreover, normal cells within and in proximity to the tumor help to acquire some of these traits and serve as tumor microenvironment. There are specific genetic factors predisposing to the development of certain types of cancers, but mainly it is the life style and exposure to harmful environmental factors that play a crucial role in carcinogenesis. It has been observed that in the presence of inherited mutations in genes responsible for cell cycle control, DNA repair etc., defense mechanisms are impaired and cancer growth is facilitated. However, cancers caused by inherited genetic disorders represent only 3–10% of all cancers diagnosed annually [10]. The majority of tumors (90–97%) is non-hereditary and can be attributed to environment and lifestyle influences. Cancer risk depends also on the dose of carcinogens and the person's individual susceptibility, which is influenced by age, sex, genetics, ethnicity, immune and nutritional status. Moreover, there are many low-penetrance genes being identified which [11], in combination with environment and lifestyle factors, can have higher prevalence than high-penetrance genes like *BRCA1* or *BRCA2*.

Smoking is a risk factor for several cancer types, mainly lung and esophagus, and is regarded as the cause of 25–30% of all deaths from cancer and 87% from lung cancer [12]. Tobacco smoke is proved to contain carcinogenic mutagens and alters a number of cell signaling pathways predominantly by activation of nuclear transcription factor (NF- κ B) that induces tumorigenesis, via

inflammatory and other gene products. Approximately 30–35% of all cancer-related deaths in USA are linked with the diet. Consumption of high-caloric and fatty food was observed to increase the risk of malignancy to some extent varying with type of cancer. For example, diet is associated with development of colorectal cancer, leading to death in approximately 70% of cases [12]. Infectious agents, such as hepatitis B and C viruses, human papilloma viruses or *Helicobacter pylori*, are well-known risk factors for specific cancers, and it was estimated that 17.8% of neoplasms are associated with an infection [12]. An Asian study showed that HBV and HCV carriers have a 20–25-fold increased risk of liver cancer [13]. Environmental pollution has been linked to various types of cancer (chiefly in lung) since the 18th century [13]. These factors, in a close interaction with genetic predispositions, are implicated in the etiology of first primary tumors and might, naturally, contribute to MPNs development, however the extent of genetic contribution in comparison with the environmental risk factors for MPNs onset is so far unknown and remains to be elucidated. Curtis et al [14] conducted a study analyzing each of more than 50 types of adult and 18 types of childhood primary cancer sites in relationship to the development of subsequent cancers with regards to host factors. The relative risk of second cancer differed markedly by age at diagnosis of the first tumor and was found to be 6-fold higher in childhood cancer survivors. Still, they found that the greatest burden of MPNs was diagnosed at ages 30–59 years. Geryk et al [15], who analyzed data from Czech National Cancer Institute, found the highest burden of MPNs among patients in age group 50–69 years. As for racial differences, the black population was found to be at greater risk of developing another cancer [14]. Comparing female and male gender, women are generally at slightly higher risk of MPNs than men. The acquisition of MPNs is also marked by the influence of tobacco smoking and alcohol abuse. The subsequent cancer burden depends on many other influences including host and/or environ-

mental factors but also on the follow-up and surveillance period.

Nielsen et al [16] analyzed whether the excess risk of developing MPN is rather associated with concordant secondary malignancies, or the excess risk is higher in different types of metachronous tumors. They found a 2.2-fold risk of the MPN being of the same type as the first, whereas the risk for discordant tumors was only 1.1-fold. These findings indicate that risk of MPNs is probably specific to cancer type and is most likely driven by the individual's genetic and lifestyle risk factors.

Regarding late effects of treatment, these can be attributed to genetic polymorphisms in genes encoding enzymes that participate in drug metabolism, such as glutathione S-transferase, cytochrome P450 or thiopurine methyltransferases. These enzymes are linked with therapy-related MPNs, but not in the manner of absolute predictors, inasmuch as there are other host factors that influence drug efficacy such as age, race, sex, body size, renal and hepatic functions etc. [17].

The risk of radiotherapy-related cancers is increased especially in retinoblastoma (RB) patients [17–22]; retinoblastoma is characterized by mutation in *RB1* gene that plays an important role in the cellular response to DNA damage. *RB1* mutation carriers are predisposed to a high-risk of osteosarcomas, soft-tissue sarcomas, melanoma etc.

The next chapters address several cancer diagnoses as first primary cancers and review the literature for recent information on subsequent tumors (MPNs) in relation to tumor therapy, genetics, environmental and life-style factors. Breast and colorectal cancer, as the most common cancer types, Hodgkin's lymphoma as a representative of radiosensitive disease and head and neck squamous cell carcinoma because of its smoking and alcohol-related nature.

Colorectal Cancer

Colorectal cancer is one of the most common cancers diagnosed worldwide and 3% of colorectal cancers are associated with positive family history [23]. Hereditary non-polyposis colorectal can-

cer (HNPCC) is a syndrome caused by mutations in mismatch repair genes (mostly *hMSH2* and *hMLH1*). Mutation carriers have increased relative risks of developing cancers of the corpus uteri, ovary, stomach, pancreas, small intestine, kidney and nervous system [7,23]. As reported by Evans et al [7], the lifetime risk of MPNs among HNPCC carriers was 78% for colorectal cancer, 43% for cancer of the corpus uteri, 19% for stomach cancer, 18% for biliary tract cancer, 10% for urinary tract cancer, and 9% for ovarian cancer. Among patients with no family history of colorectal carcinoma, the results of some studies investigating the risk of MPN are ambiguous. For example, in studies by Noura et al [24] or Lee et al [25]. The stomach has been recognized as the major site of MPN after curative surgery. On the other hand, results of a study carried out by Curtis et al [14] show that prostate cancer is the most frequent MPN in non-hereditary colorectal cancer syndrome. Median age at diagnosis of most MPNs was between 60 and 70 years and the secondary tumors occurred within five-year interval after the resection of primary colorectal cancer [24]. In addition, colorectal cancer has been reported to be the most common type of MPN in patients with gastric carcinoma [25], indicating a possibility of shared predisposing factors and the need of thorough surveillance of these patients.

Breast Cancer

Breast cancer is the most common cancer in women throughout the world. The risk of developing breast cancer in women is markedly increased by deleterious mutation in *BRCA1* and *BRCA2* tumor suppressor genes. Approximately 2–5% of all breast cancers are believed to be familial [14]. Among *BRCA1/2* carriers, the chances of developing breast cancer is about five times higher than in the general population. In addition to breast cancer, inheriting a mutation in the *BRCA1* gene increases the risk of developing ovarian, cervical, uterine, pancreatic and colon cancer, whereas *BRCA2* mutations increase the risk of ovarian, pancreatic, stomach, gallbladder and bile duct cancers and mela-

noma. Besides the inherited mutations in *BRCA1* and *BRCA2*, also mutations in *PTEN* or *TP53* were proved to increase the risk of subsequent cancers [26]. However, data reflecting the relationship of family history of breast cancer and the risk of MPNs development are not consistent. For instance, in study by Kmet et al [27] a 2-fold increase in the risk of colon cancer among patients with a family history of breast cancer has been reported. In contrast, Curtis et al [14] observed only a small increase of colon cancer development among patients with primary breast cancer. Nevertheless, familial tumors account only for a small proportion of MPNs.

Breast cancer survivors with negative family history are also at increased risk of developing MPNs. The most common MPNs occur predominantly in the opposite breast [14]. Apart from the breast, the majority of MPNs has been observed in the digestive tract (mainly colon and stomach), respiratory system (lung) and female genital system (ovary and corpus uteri) [14,28–30]. Susceptibility to MPNs appears to be related to race and the age at initial diagnosis. It has been reported that young age and black race are strong predictors of increased risk of subsequent malignancies in breast cancer patients [14]. Breast cancer is often treated with surgery followed by radiotherapy. There are several studies investigating the effects of radiotherapy for breast cancer on the incidence of MPNs [31–35]. For example, it has been reported that breast cancer patients particularly are at increased risk of sarcoma or lung cancer in a period longer than five years after radiotherapy treatment [33]. Zhang et al [31], who examined the effect of radiotherapy on the onset of MPN following breast cancer, with respect to age and menopausal status, observed an increased risk of MPNs in patients over 50 years of age, which might be related to their menopausal status. It is not only radiotherapy treatment that can have the impact on MPN onset following breast cancer. Adjuvant chemotherapy and hormonal therapy by tamoxifen are another widely used treatment modalities. In particular, tamoxifen has been reported to contribute to

development of endometrial cancer. On the other hand, tamoxifen reduces the risk of subsequent breast cancer [14]. In conclusion, the risk of second malignancies following breast cancer depends on each individual's features like age, race, reproductive characteristics (low parity or late age at first birth) as well as the type of treatment used.

Hodgkin's Lymphoma

Hodgkin's lymphoma is a highly curable disease affecting both children and adults [36]. One of the most serious late side effects of treatment is the emergence of MPN affecting both age groups. Survivors of HL have more than three times greater risk of solid tumors in comparison with the general population [37]. Among the most common MPNs in childhood HL survivors radiation-related solid tumors dominate, yet, patients are also at greater risk for chemotherapy-associated hematologic tumors [38]. Childhood and adolescent HL is treated by combination of chemotherapy and radiation therapy with 5-year survival rate of more than 90% [38]. Breast and thyroid cancers and bone/soft tissue sarcomas belong to the most frequently diagnosed solid MPNs [38]. Survivors of adult-onset HL are also at greater risk of solid MPNs, with the role of gender in second breast cancer onset remaining unclear. The most common MPN following the diagnosis of HL are cancers of the breast, lung and intestine. Differences in MPN risk rates between childhood and adult-onset HL survivors have been described in the literature. While the risk of breast cancer is not affected by exposure to alkylating agents in childhood, there was observed a dose-related risk reduction in adults exposed to alkylating agents treatment. MPNs of the lung represent a negligible entity among childhood HL survivors, whereas in adults they are one of the most common MPNs. There are many factors that can influence MPN onset following HL. For instance, tobacco users treated with chemotherapy and radiotherapy (≥ 5 Gy to the area of the lung) have almost 50-fold higher relative risk of developing lung cancer as a second malignancy [38].

Squamous Cell Carcinoma of Head and Neck

Squamous cell carcinoma of the head and neck (HNSCC) is the fifth most common cancer worldwide [39]. MPNs represent a major cause of morbidity and mortality among patients successfully treated for early-stage HNSCC [40]. Approximately 15–25% of HNSCC survivors develop MPN within five years after the initial diagnosis [41]. The lung (29.8%), head and neck (28.0%), prostate (14.2%) and bladder (5.1%) are the major sites of MPNs [41]. HNSCC are known to harbor many chromosomal abnormalities (within 3p, 9p, 13q, or 17p) and dysregulation of several cellular pathways triggered by e.g. p53, p21, p16, cyclin D1, K-RAS, EGFR, NOTCH1 etc. have been reported to contribute to the onset of HNSCC [41–43]. Wu et al [41] examined the relationship between single nucleotide polymorphisms (SNPs) and risk of MPNs and/or recurrences. They found six chromosomal SNPs and seven mitochondrial SNPs (mtSNPs) significantly associated with higher risk of MPNs and/or recurrence. The most significant SNP identified in relation to MPNs was located in *MKI67* gene, encoding an important cell cycle proliferation marker. Another study [44] showed that a common polymorphism in codon 72 of p53 is correlated with MPN development in HNSCC survivors. Li et al [44] compared the distribution of codon 72 homozygous Arg/Arg and Pro/Pro genotypes and found the p53 Pro alleles are more frequent among patients with MPN, suggesting that the p53 72 Pro might be associated with increased risk of MPN development. Lei et al [39] investigated a role of two polymorphic variants of *CDKN1A* (coding for p21^{WAF1}) in the onset of MPNs among HNSCC patients. The p21^{WAF1} protein belongs to family of cyclin dependent kinase (CDK) inhibitors and modulates cell cycle control by cell growth inhibitions. Carriers of the *CDKN1A* 98 CA/AA and 70 CT/TT genotypes were at 1.8-fold risk of MPNs compared with patients with the homozygous wild-type genotype [39]. Moreover, Lei et al [39] found significantly elevated MPNs risk associated with any p21^{WAF1} variant genotypes in non-Hispanic whites, al-

Tab. 1. Selected primary cancer sites with multiple primary cancers from Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER – 9 areas), 1973–2009.

primary cancer site	Multiple primary cancers				
	counts	counts within 0–5 months	counts 6+ months	total	% after 6 months
oral cavity and pharynx	82,237	2,550	13,025	15,575	15.8
digestive system	623,206	19,196	47,444	66,640	7.6
respiratory system	460,100	8,571	23,733	32,304	5.2
bones and joints	7,031	52	420	472	6.0
breast	475,534	11,850	65,978	77,828	13.9
female genital system	217,286	5,021	22,806	27,827	10.5
male genital system	495,546	7,406	55,223	62,629	11.1
urinary system	213,678	8,887	32,471	41,358	15.2
brain and other nervous system	50,235	292	1,166	1,458	2.3
endocrine system	59,982	664	5,473	6,137	9.1
lymphoma	147,843	1,952	13,570	15,522	9.2
myeloma	38,774	545	1,943	2,488	5.0
leukemia	91,441	1,238	6,071	7,309	6.6

cohol drinkers, smokers and for patients who received a DNA-damaging agent in their treatment. Association of SNPs with risk of MPNs in patients with early stage HNSCC were described in terms of miRNA (micro ribonucleic acid) biogenesis pathway and miRNA-targeted genes. These 22 nucleotide long molecules, which posttranscriptionally regulate gene expression, have been considered as master regulators of gene networks and play a role in tumorigenesis as well [45]. Recently, genetic profiles of SPMs in HNSCC patients were analyzed in order to determine genetic alterations that help to distinguish recurrence from distant metastases or MPNs. Several similarities between primary malignancy and MPN (gain of *BCL2L1*, amplifications of *CCND1* and *EMS1*) and differences between primary malignancy and recurrence have been found [42].

Second primary cancer incidence in Surveillance, Epidemiology and End Results (SEER) cancer registries

A longer follow-up period and advances in cancer treatment, together with an early detection and supportive care,

has not only prolonged patient survival but has also increased the number of cancer survivors by 2% each year [46]. To date, about 70% of all cancer patients survive at least five years after the diagnosis [47]. Due to this growing population of long-term survivors, monitoring the late consequences of cancer therapy becomes essential. In addition to cancer treatment as a predisposing factor, MPNs can also emerge as a result of environmental and lifestyle factors as well as gene-environment and gene-gene interactions [46].

Nowadays, there is a plethora of works addressing MPNs occurrence after various primaries for certain cohorts of patients. These studies usually include estimates on the extent of excess risk of MPN attributable to different treatment modalities (surgery alone, radiotherapy, chemotherapy and combinations), age, sex and race, in a chosen type of cancer. However, the comparison of results is hampered by the different layout of the analyses, as well as the use of different definitions of MPNs or different follow-up periods. Another issue to mention is the large number of combinations of first and second tumor sites. One of

the most sophisticated databases monitoring development of MPNs is Surveillance, Epidemiology and End Results (SEER) registry. SEER collects data on malignancies of various locations and origins throughout the United States. The data collection began in 1973 within a limited number of registries and it has continually expand in terms of areas and demographics included. SEER cancer registries currently cover approximately 28% of the US population. The most common cancer sites of MPNs between 1974 and 2003 based on the SEER cancer registries were the urinary bladder (16%), oral cavity and pharynx (15%), uterus (11%), breast (10%), colon and rectum (10%), skin (10%) and kidney and renal pelvis (10%). The least frequent MPN was liver cancer (1%) [48]. To obtain more recent data, we performed a brief analysis of MPNs in the period 1973–2009 based on SEER databases. For this purpose, the SEER software package SEERStat 8.01 was used. We included patients from SEER-9 areas who were diagnosed from 1973 to 2009 with all kinds of MPNs for which there were available data. We excluded cases with the cancer diagnosis estab-

lished by a death certificate or autopsy. To avoid data duplication in case of simultaneous tumors, we applied a six months rule (only MPNs that appeared at least six months after the initial diagnosis were counted) to distinguish synchronous and metachronous tumors. Tab. 1 shows primary cancer sites and number of patients who developed MPNs within a follow-up period of six months after the initial diagnosis up to December 31, 2009. In contrast to Hayat et al [48], our data (up to 2003) show the oral cavity and pharynx (15.8%), urinary system (15.2%), breast (13.9%), male genital system (11.1%) being the most common primary cancer sites. The least frequent MPNs occurrence was found in pancreas (0.8%) indicating that the spectrum of primary cancer sites of MPNs might have been slightly changed.

Approaches to identify factors associated with multiple cancers

Advances in screening, early detection and treatment of many tumors has significantly increased patient survival and quality of life. Progress in human cancer medicine has generally been driven by a combination of cytogenetic technologies, the adoption of gene cloning advances and the use of model organisms to define cancer gene function. Completion of the human genome sequence facilitated the development of progressive technologies, such as DNA microarrays or next generation sequencing, that allow further investigations of common genetic variations associated with risk of primary tumors, tumor phenotype and susceptibility to cancer in general. These novel approaches allow examination of many common genetic variants in different individuals to evaluate their association with a specific trait, hence being often denoted as genome-wide association studies (GWAS) or whole genome association studies (WGAS). The most common method of GWAS is the case-control setup, in which one healthy control group and one case group affected by a certain disease are compared. Thanks to the development of these high-throughput methods, the possibility to determine a variety of predisposing factors linked with multiple

tumors, especially inherited mutations, SNPs and epigenetic patterns such as DNA and histone modifications, have become available.

Hierarchical clustering of gene expression patterns, based on large-scale analysis of gene expression using DNA array technology, has been successfully used to identify subtypes of many tumors that exhibit distinct clinical behavior [49–51]. Microarrays are used in cancer biology for several purposes such as the identification of SNPs, mutations, tumor classification, identification of potential biomarkers etc. Supervised analyses are applied to define a set of genes with expression patterns enabling to distinguish tumors on the basis of an external parameter such as survival, recurrence or response to therapy and could be performed to identify poor prognosis gene expression signatures predictive of recurrence of many primary cancers [41,49,51]. However, due to the biological complexity of gene expression, it is of critical importance to acknowledge the experimental designs discussed in each article that deals with expression profiling, if there are to be statistically and biologically valid conclusions drawn from the data.

Since the genomes of all cancer cells carry somatic mutations [52], systematic sequencing appears to be a promising tool for the identification of all classes of somatic mutations in individual cancer genomes, yielding complete spectra of somatic mutations [53]. As many cancer genomes have already been sequenced and the genetic fundamentals of cancer at least partially “uncovered”, introduction of new approaches for diagnosis, risk stratification and individualized treatment of cancer patients is expected to follow. Gradually, thousands of comprehensive, high-quality spectra of somatic mutations, SNPs and epigenetic modifications providing powerful insights into the processes of DNA damage, mutation, repair and selection will be generated. These data will become the basis for a concise picture reflecting the pathological relevance of individual human genome alterations. Taken together, DNA microarrays as well as next generation sequencing is a powerful re-

search tool; however, it remains unclear whether these technologies will ever be fully adopted in clinical practice, mainly due to the complexity of sample preparation, intra-tumor heterogeneity and other technical aspects [54].

The application of the new approaches mentioned above has provided the first hints in efforts to find weak points in the genome that are crucial for understanding the etiology of MPNs. A GWAS conducted on pediatric Hodgkin's disease survivors treated with radiation therapy has identified two genetic variants at chromosome 6q21 strongly associated with risk of MPN development [55]. The *PRDM1* gene lies inside the risk locus, encoding a zinc finger transcriptional repressor that is frequently lost in many cancer types [56]. These findings implicate *PRDM1* in the etiology of radiation therapy-induced MPNs. Similarly, identifying mutations that occur as a direct result of therapy (such as tAML) provide a useful screening tool for early detection of MPNs.

Conclusions and perspectives for the future

Most papers addressing the issue of MPNs and published at the beginning of this millennium linked the incidence of particular MPNs predominately to high doses of chemo-/radio-therapy or their combination used to treat primary tumors. The advances in molecular biology and genomics in the past 10 years had significantly raised the chances of increasing the efficiency of cancer diagnostics and treatment. The decryption of the entire human genome sequence and improved technologies for DNA sequencing assessments of genetic variation raises the possibility to analyze each individual's genotype and possibly to predict disease susceptibility. Large genomic data sets are being constantly generated and provided in public databases, pushing biological and biomedical research to a whole new level.

Many studies have reported an increased number of patients who survived their first malignancy. However, this growing group of survivors is directly affected by significantly elevated risk of MPNs development. Ear-

lier studies have more or less failed to systematically examine gene-therapy interactions, for many reasons such as the absence of detailed therapeutic exposure data, small sample sizes and lack of sufficiently sensitive yet robust methods. A systematic assessment of the role of drug-metabolizing enzymes, DNA repair proteins and drug pharmacokinetics in the development of MPNs is currently a major issue in understanding the reasons why additional cancers occur in certain individuals, and developing intervention strategies to reduce the risk and/or to improve the treatment of these MPN.

References

- Berrington de Gonzalez A, Curtis RE, Kry SF et al. Proportion of second cancers attributable to radiotherapy treatment in adults: a cohort study in the US SEER cancer registries. *Lancet Oncol* 2011; 12(4): 353–360. doi: 10.1016/S1470-2045(11)70061-4.
- Dusek L, Muzik J, Gelnarova E et al. Cancer incidence and mortality in the Czech Republic. *Klin Onkol* 2010; 23(5): 311–324.
- Billroth T (ed.). *Geral surgical pathology and therapeutics in 51 Vorlesungen: a textbook for students and physicians in fifty-one lectures*. 14th ed. Berlin: G. Reimer 1889.
- Warren S, Gates O. Multiple primary malignant tumors – a survey of the literature and statistical study. *Am J Cancer* 1932; 16: 1358–1414.
- Luciani A, Ascione G, Marussi D et al. Clinical analysis of multiple primary malignancies in the elderly. *Med Oncol* 2009; 26(1): 27–31. doi: 10.1007/s12032-008-9075-x.
- Demandante CG, Troyer DA, Miles TP. Multiple primary malignant neoplasms: case report and a comprehensive review of the literature. *Am J Clin Oncol* 2003; 26(1): 79–83.
- Evans HS, Møller H, Robinson D et al. The risk of subsequent primary cancers after colorectal cancer in southeast England. *Gut* 2002; 50(5): 647–652.
- Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; 100(1): 57–70.
- Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011; 144(5): 646–674.
- Roukos DH. Genome-wide association studies: how predictable is a person's cancer risk? *Expert Rev Anticancer Ther* 2009; 9(4): 389–392. doi: 10.1586/era.09.12.
- Broeks A, Schmidt MK, Sherman ME et al. Low penetrance breast cancer susceptibility loci are associated with specific breast tumor subtypes: findings from the Breast Cancer Association Consortium. *Hum Mol Genet* 2011; 20(16): 3289–3303. doi: 10.1093/hmg/ddr228.
- Anand P, Kunnumakkara AB, Sundaram C et al. Cancer is a preventable disease that requires major lifestyle changes. *Pharm Res* 2008; 25(9): 2097–2116. doi: 10.1007/s11095-008-9661-9.
- Park S, Bae J, Nam BH et al. Aetiology of cancer in Asia. *Asian Pac J Cancer Prev* 2008; 9(3): 371–380.
- Curtis RE, Freedman DM, Ron E et al. New Malignancies Among Cancer Survivors: SEER Cancer Registries, 1973–2000. National Cancer Institute. In: Bethesda MD. NIH Publ 2006.
- Geryk E, Dite P, Kozel J et al. Cancer multiplicities in the Czech population. *Cas Lek Cesk* 2010; 149(4): 178–183.
- Nielsen SF, Nordestgaard BG, Bojesen SE. Associations between first and second primary cancers: a population-based study. *CMAJ* 2012; 184(1): E57–E69. doi: 10.1503/cmaj.110167.
- Travis LB, Rabkin CS, Brown LM et al. Cancer survivorship-genetic susceptibility and second primary cancers: research strategies and recommendations. *J Natl Cancer Inst* 2006; 98(1): 15–25.
- Marees T, Moll AC, Imhof SM et al. Risk of second malignancies in survivors of retinoblastoma: more than 40 years of follow-up. *J Natl Cancer Inst* 2008; 100(24): 1771–1779.
- Marees T, van Leeuwen FE, de Boer MR et al. Cancer mortality in long-term survivors of retinoblastoma. *Eur J Cancer* 2009; 45(18): 3245–3253. doi: 10.1016/j.ejca.2009.05.011.
- Kleinerman RA, Tucker MA, Tarone RE et al. Risk of new cancers after radiotherapy in long-term survivors of retinoblastoma: an extended follow-up. *J Clin Oncol* 2005; 23(10): 2272–2279.
- Kleinerman RA, Yu CL, Little MP et al. Variation of second cancer risk by family history of retinoblastoma among long-term survivors. *J Clin Oncol* 2012; 30(9): 950–957. doi: 10.1200/JCO.2011.37.0239.
- Moll AC, Dommering CJ, Bosscha MI et al. Risk factors for the incidence of second cancers in survivors of retinoblastoma with a family history. *J Clin Oncol* 2012; 30(24): 3028. doi: 10.1200/JCO.2012.43.7640.
- Hemminki K, Li X, Dong C. Second primary cancers after sporadic and familial colorectal cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001; 10(7): 793–798.
- Noura S, Ohue M, Seki Y et al. Second primary cancer in patients with colorectal cancer after a curative resection. *Dig Surg* 2009; 26(5): 400–405. doi: 10.1159/000229991.
- Lee SH, Ahn BK, Baik SU. Multiple primary cancers in extracolonic sites with colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis* 2009; 24(3): 301–304. doi: 10.1007/s00384-008-0583-0.
- Evans HS, Lewis CM, Robinson D et al. Incidence of multiple primary cancers in a cohort of women diagnosed with breast cancer in southeast England. *Br J Cancer* 2001; 84(3): 435–440.
- Kmet LM, Cook LS, Weiss NS et al. Risk factors for colorectal cancer following breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2003; 79(2): 143–147.
- Khalil S, Ceccarelli F. Colorectal cancer after breast cancer: magnitude of risk in clinical practice and in the literature. *Tumori* 2009; 95(1): 28–31.
- Mellemkjaer L, Friis S, Olsen JH et al. Risk of second cancer among women with breast cancer. *Int J Cancer* 2006; 118(9): 2285–2292.
- Soerjomataram I, Louwman WJ, de Vries E et al. Primary malignancy after primary female breast cancer in the South of the Netherlands, 1972–2001. *Breast Cancer Res Treat* 2005; 93(1): 91–95.
- Zhang W, Becciolini A, Biggeri A et al. Second malignancies in breast cancer patients following radiotherapy: a study in Florence, Italy. *Breast Cancer Res* 2011; 13(2): R38. doi: 10.1186/bcr2860.
- Brown LM, Chen BE, Pfeiffer RM et al. Risk of second non-hematological malignancies among 376,825 breast cancer survivors. *Breast Cancer Res Treat* 2007; 106(3): 439–451.
- Matesich SM, Shapiro CL. Second cancers after breast cancer treatment. *Semin Oncol* 2003; 30(6): 740–748.
- Chander R, Kapoor NK, Dhawan BN. Effect of picroliv on glutathione metabolism in liver and brain of *Mastomys natalensis* infected with *Plasmodium berghei*. *Indian J Exp Biol* 1992; 30(8): 711–714.
- Zablotska LB, Neugut AI. Lung carcinoma after radiation therapy in women treated with lumpectomy or mastectomy for primary breast carcinoma. *Cancer* 2003; 97(6): 1404–1411.
- Franklin J, Pluetschow A, Paus M et al. Second malignancy risk associated with treatment of Hodgkin's lymphoma: meta-analysis of the randomised trials. *Ann Oncol* 2006; 17(12): 1749–1760.
- Thomas A, Mailankody S, Korde N et al. Second malignancies after multiple myeloma: from 1960s to 2010s. *Blood* 2012; 119(12): 2731–2737. doi: 10.1182/blood-2011-12-381426.
- Ng AK, Kenney LB, Gilbert ES et al. Secondary malignancies across the age spectrum. *Semin Radiat Oncol* 2010; 20(1): 67–78. doi: 10.1016/j.semradonc.2009.09.002.
- Lei D, Sturgis EM, Liu Z et al. Genetic polymorphisms of p21 and risk of second primary malignancy in patients with index squamous cell carcinoma of the head and neck. *Carcinogenesis* 2010; 31(2): 222–227. doi: 10.1093/carcin/bgp279.
- Khuri FR, Lee JJ, Lippman SM et al. Randomized phase III trial of low-dose isotretinoin for prevention of second primary tumors in stage I and II head and neck cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 2006; 98(7): 441–450.
- Wu X, Spitz MR, Lee JJ et al. Novel susceptibility loci for second primary tumors/recurrence in head and neck cancer patients: large-scale evaluation of genetic variants. *Cancer Prev Res (Phila)* 2009; 2(7): 617–624. doi: 10.1158/1940-6207.CAPR-09-0025.
- Gutierrez VF, Marcos CA, Llorente JL et al. Genetic profile of second primary tumors and recurrences in head and neck squamous cell carcinomas. *Head Neck* 2012; 34(6): 830–839. doi: 10.1002/hed.21824.
- Agrawal N, Frederick MJ, Pickering CR et al. Exome sequencing of head and neck squamous cell carcinoma reveals inactivating mutations in NOTCH1. *Science* 2011; 333(6046): 1154–1157. doi: 10.1126/science.1206923.
- Li F, Sturgis EM, Chen X et al. Association of p53 codon 72 polymorphism with risk of second primary malignancy in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer* 2010; 116(10): 2350–2359. doi: 10.1002/cncr.25072.
- Zhang X, Yang H, Lee JJ et al. MicroRNA-related genetic variations as predictors for risk of second primary tumor and/or recurrence in patients with early-stage head and neck cancer. *Carcinogenesis* 2010; 31(12): 2118–2123. doi: 10.1093/carcin/bgq177.
- Travis LB. The epidemiology of second primary cancers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006; 15(11): 2020–2026.
- Choi M, Craft B, Geraci SA. Surveillance and monitoring of adult cancer survivors. *Am J Med* 2011; 124(7): 598–601. doi: 10.1016/j.amjmed.2010.07.031.
- Hayat MJ, Howlader N, Reichman ME et al. Cancer statistics, trends, and multiple primary cancer analyses from the Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program. *Oncologist* 2007; 12(1): 20–37.
- Bertucci F, Finetti P, Cervera N et al. Gene expression profiling and clinical outcome in breast cancer. *OMICS* 2006; 10(4): 429–443.
- Perou CM, Sorlie T, Eisen MB et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2000; 406(6797): 747–752.
- Pollack JR, Perou CM, Alizadeh AA et al. Genome-wide analysis of DNA copy-number changes using cDNA microarrays. *Nat Genet* 1999; 23(1): 41–46.
- Stratton MR, Campbell PJ, Futreal PA. The cancer genome. *Nature* 2009; 458(7239): 719–724. doi: 10.1038/nature07943.
- Pleasant ED, Cheetham RK, Stephens PJ et al. A comprehensive catalogue of somatic mutations from a human cancer genome. *Nature* 2010; 463(7278): 191–196. doi: 10.1038/nature08658.
- Thomas D. Gene-environment-wide association studies: emerging approaches. *Nat Rev Genet* 2010; 11(4): 259–272. doi: 10.1038/nrg2764.
- Best T, Li D, Skol AD et al. Variants at 6q21 implicate PRDM1 in the etiology of therapy-induced second malignancies after Hodgkin's lymphoma. *Nat Med* 2011; 17(8): 941–943. doi: 10.1038/nm.2407.
- Beroukhim R, Mermel CH, Porter D et al. The landscape of somatic copy-number alteration across human cancers. *Nature* 2010; 463(7283): 899–905.

Cytokinové profily mnohočetného myelomu a Waldenströmovy makroglobulinemie

Cytokine Profiles of Multiple Myeloma and Waldenström Macroglobulinemia

Sedlaříková L.^{1,2}, Sadílková K.¹, Kubiczková L.^{1,2}, Hájek R.^{1,2}, Ševčíková S.^{1,2}

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

² Oddělení klinické hematologie, FN Brno

Souhrn

Mnohočetný myelom (MM) a Waldenströmová makroglobulinemie (WM) jsou nádorová onemocnění B lymfocytů, pro která je charakteristická nadprodukce monoklonálního imunoglobulinu a infiltrace kostní dřeně (KD) maligními buňkami. Tyto patologické jevy vedou posléze k typickým klinickým příznakům onemocnění, především ke vzniku osteolytických lézí a poruchám krvetvorby. U obou těchto onemocnění hraje velmi významnou roli mikroprostředí KD, jelikož interakce nádorových buněk s buňkami KD usnadňuje růst a přežívání těchto maligních buněk. Tyto interakce jsou zprostředkovány mimo jiné také cytokiny. Jejich produkce umožňuje růst, proliferaci a přežívání nádorových buněk, a tak významně přispívají k patogenezi MM i WM. V předkládaném přehledovém článku jsme se zaměřili na funkci nejdůležitějších cytokinů u obou onemocnění.

Klíčová slova

mnohočetný myelom – Waldenströmová makroglobulinemie – cytokiny – mikroprostředí kostní dřeně

Summary

Multiple myeloma (MM) and Waldenström macroglobulinemia (WM) are malignant disorders of B lymphocytes. These diseases are characterized by monoclonal immunoglobulin production and bone marrow infiltration, which further lead to disease manifestation mainly via osteolytic lesions and disruption of hematopoiesis. The bone marrow microenvironment plays a crucial role in pathogenesis of both of these diseases, as it is well known that interaction between malignant cells and bone marrow cells facilitates both survival and growth of these tumor cells. The interactions are mediated by several different factors, including cytokines. Their production leads to tumor cell growth, proliferation and survival contributing to pathogenesis of MM and WM. In this review, we focus on function of the most important cytokines in both these diseases.

Key words

multiple myeloma – Waldenström macroglobulinemia – cytokines – bone marrow microenvironment

Tato práce byla podpořena výzkumným záměrem Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy MSM0021622434, grantem IGA Ministerstva zdravotnictví NT14575 a NT12130 a interním grantem MUNI/11/InGA17/2012. Dále podpořeno projektem Ministerstva zdravotnictví koncepčního rozvoje výzkumné organizace 65269705 (FN Brno).

This study was supported by scientific programs of the Ministry of Education, Youth and Sports MSM0021622434, by grant of Integral Grant Agency of the Czech ministry of Health NT14575 and NT12130 and by internal grant MUNI/11/InGA17/2012. Further it was supported by project of the Ministry of Health for conceptual development of research organization 65269705 (UH Brno).

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

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

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

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



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

Obdrženo/Submitted: 5. 9. 2013

Přijato/Accepted: 7. 11. 2013

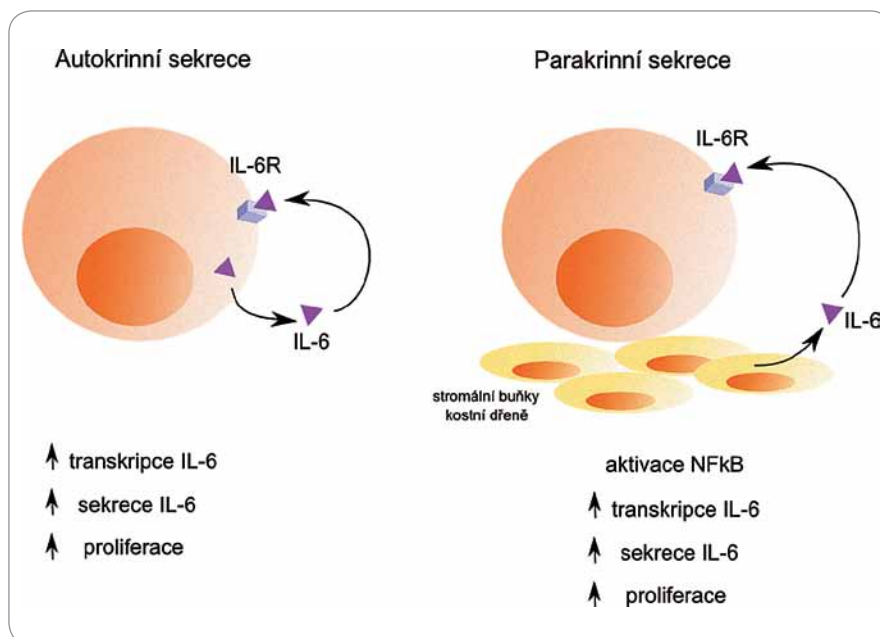
Úvod

Mnohočetný myelom (multiple myeloma – MM) je hematologické onemocnění charakterizované proliferací monoklonálních plazmatických buněk v kostní dřeni (KD), produkcí monoklonálního imunoglobulinu (IgM) a vývojem z asymptomatického stadia monoklonální gamapatie nejasného významu (monoclonal gammopathy of undetermined significance – MGUS). MM se vyskytuje především u starších osob, medián věku při stanovení diagnózy je 65 let. Pouze 2 % pacientů jsou mladší 40 let. Onemocnění je doprovázeno celou řadou příznaků, např. osteolytickými lézemi kostí, imunodeficiencí nebo selháním ledvin [1].

Waldenströmová makroglobulinemie (WM) je B buněčné lymfoproliferativní onemocnění charakterizované infiltrací KD populací malých B lymfocytů, které se mohou transformovat do plazmatických buněk. Pro tyto buňky je rovněž charakteristická produkce IgM. Původ WM je neznámý, nicméně podobně jako u MM je prekurzorovým stavem MGUS. Onemocnění postihuje především starší lidi ve věku kolem 63–68 let. Mezi nejtypičtější klinické příznaky patří hyperviskozita krevní plazmy, dále anémie a cytopenie, únava, bolest hlavy, rozmazané vidění a neuropatie. Velmi neobvyklé jsou u WM osteolytické léze, na rozdíl od MM, kde se vyskytují v hojné míře [2].

Mikroprostředí KD spolu s cytokiny produkovanými buňkami KD hrají klíčovou roli v patofyziologii jak MM, tak i WM. KD je primární lymfoidní tkáň a hlavní orgán krvetvorby. Nachází se v centrální dutině axiálních a dlouhých kostí a je složena z ostrůvků krvetvorné tkáně a tukových buněk obklopených cévami. Skládá se ze tří složek – buněčné složky, extracelulární matrix a rozpustné složky. Součástí rozpustné složky jsou cytokiny, růstové faktory, adhezivní molekuly a další faktory, které jsou vylučovány hematopoetickými i nehematopoetickými buňkami v KD [3]. Buňky KD nejsou vzájemně těsně spojeny a jejich komunikace je zprostředkována právě pomocí výše zmíněných molekul.

Cytokiny jsou různorodou skupinou rozpustných glykoproteinů a nízkomolekulárních peptidů. Zprostředkovávají



Obr. 1. Autokrinní a parokrinní sekrece IL-6.

Autokrinní sekrece IL-6 nádorovými buňkami i parokrinní sekrece IL-6 stromálními buňkami kostní dřene pozitivně ovlivňují další transkripci a sekreci IL-6, a také proliferaci nádorových buněk.

interakce mezi buňkami a jsou zodpovědné za regulaci buněčných a tkáňových funkcí. Důležitou roli hrají při koordinaci embryonálního vývoje, růstu a zrání buněk, hojení ran, imunitní odpovědi a také při formaci nových krevních cév [4]. Interakce cytokinů může být buď intrakrinní, autokrinní, nebo parakrinní. Parakrinní interakce ovlivňuje jiné buňky než ty, které produkují cytokin. U autokrinní interakce působí cytokin na tutéž buňku. V případě intrakrinní interakce zůstává cytokin i receptor uvnitř v buňce, ovšem tento případ je vzácný.

Cytokiny mohou být produkovány téměř všemi typy buněk a ve všech typech tkání, a to prostřednictvím sekrečních drah. Mnoho z nich je vylučováno buď v aktivní formě, nebo jako neaktivní prekurzory, které aktivaci teprve vyžadují. Produkce a vylučování cytokinů je velmi přísně regulováno.

Kromě svých základních funkcí jsou zapojeny také do růstu a šíření nádorových buněk, které produkují cytokiny konstitutivně. Cytokiny tak mohou působit buď apokrinně přímo na nádorové buňky, nebo působí na podpůrné tkáně, čímž pozitivně ovlivňují šíření maligních buněk [5].

V další části článku se zaměříme na nejdůležitější cytokiny u obou onemocnění.

Interleukin-6

Interleukin-6 (IL-6) je multifunkční cytokin, který je popsán jako jeden z nejvíce deregulovaných cytokinů u různých typů nádorů. Je produkován různými typy buněk včetně nádorových, jelikož přispívá k nádorovému růstu tím, že dokáže inhibovat apoptózu maligních buněk a indukovat angiogenezi [6].

IL-6 je hlavním růstovým faktorem pro buňky MM, umožňuje jejich přežívání a navozuje rezistenci buněk k léčbě [7]. Nádorové buňky ovlivňuje buď přes parakrinní, nebo autokrinní regulační mechanismy (obr. 1). Podle exprese IL-6 se zdá, že se u WM jedná spíše o autokrinní produkci IL-6, zatímco u MM jde o produkci parakrinní, kdy je IL-6 produkován především stromálními buňkami KD [8]. Produkce IL-6 stromálními buňkami KD je spuštěna v závislosti na adhezi myelomových buněk ke stromálním buňkám KD. Rovněž může být spuštěna v závislosti na produkci dalších faktorů mikroprostředí KD, např. VEGF [9,10].

IL-6 působí odlišně při různých koncentracích. Vysoké koncentrace IL-6 za-

jišťují přežití myelomových buněk pomocí regulace anti-apoptotických proteinů, zatímco nízké koncentrace IL-6 myelomové buňce stačí pro postup buněčným cyklem [11].

Hladina IL-6 v séru tedy koreluje jak u pacientů s MM, tak i u WM s progresí onemocnění. U zdravých jedinců je hladina nízká, nebo dokonce nedetekovatelná, kdežto u nemocných s MM i WM se IL-6 nachází ve vysokém množství [12,13].

IL-6 se u MM podílí na kostní degradaci a podporuje sekreci IgG [14]. Jeho důležitou rolí u WM je podpora růstu plazmocytoidních lymfocytů a je zodpovědný za produkci IgM [13,15].

RANKL

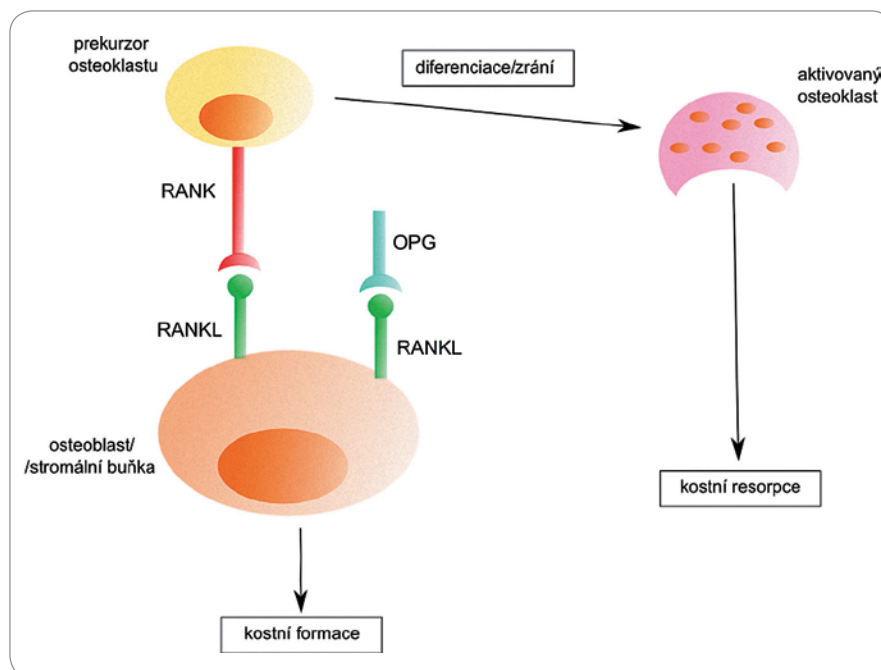
RANKL je součástí cytokinového systému důležitého pro činnost osteoklastů. Ten se skládá z receptorového aktivátoru NF- κ B ligandu (RANKL), jeho receptoru RANK a rozpustného receptoru osteoprotegerinu (OPG). RANKL se společně se svými receptory RANK a OPG podílí na kostní formaci (obr. 2). Jeho hlavní úlohou je stimulace diferenciace osteoklastů z prekurzorových buněk, stimulace kostní resorpce zralými osteoklasty a inhibice jejich apoptózy. OPG blokuje RANKL a funguje jako inhibitor formace osteoklastů [16].

Buňky MM indukují nerovnováhu mezi RANKL a OPG a to tak, že zvyšují expresi RANKL a naopak snižují hladinu OPG v kostním mikroprostředí a tím indukují zvýšení aktivity osteoklastů a zvyšují kostní resorpci [17]. Existuje korelace mezi hladinou těchto molekul a klinickou manifestací MM, stejně tak jako se závažností kostního postižení u MM [18].

Také u pacientů s WM se nachází zvýšené hodnoty rozpustného RANKL, které se s rostoucí fází onemocnění nemění. Nicméně takto zvýšená aktivita osteoklastů nevede k vývoji kostních lézí. Bylo totiž zjištěno, že i hladina OPG a markerů novotvorby kostí je vyšší. To je v souladu s teorií, že nadměrná resorpce kostí je u WM přítomna ve stejném rozsahu jako u MM, ale novotvorba kostí se zdá být normální a vyrovnává abnormální remodelaci kostí [19,20].

MIP-1 α

Makrofágový zánětlivý protein-1 α (MIP-1 α) je členem rodiny CC chemokinů



Obr. 2. Aktivace osteoklastů pomocí RANKL.

Po spojení RANKL s RANK na prekurzoru osteoklastu dojde k diferenciaci a vzniku osteoklastu, který je zodpovědný za resorpci kosti. Navázání OPG na RANKL zabrání aktivaci osteoklastu a k resorpci tak nedochází.

a je znám také pod názvem CCL3 [21]. Podílí se především na zánětlivém procesu, neboť vykazuje řadu protizánětlivých aktivit. Může hrát roli u chronických zánětlivých onemocnění [22]. Účastní se krvetvorby, kde působí jako inhibitor proliferace krvetvorných kmenových buněk a je spojován s poškozením kostí, protože je silným aktivátorem osteoklastů [23].

U MM je MIP-1 α produkován myelomovými buňkami. Doposud provedené studie zjistily, že u pacientů s MM je hladina MIP-1 α vyšší než u zdravých jedinců, a to především u jedinců s aktivním onemocněním a rozsáhlejším poškozením kostí. Množství MIP-1 α tedy koreluje s aktivitou onemocnění [24]. Myelomové buňky adherují ke stromálním buňkám a osteoblastům v KD přes receptor ze skupiny integrinů (VLA4), který na kostních buňkách váže příbuzný ligand, vaskulární adhezivní molekulu 1 (VCAM-1). Tato interakce musí být aktivována pomocí MIP-1 α . Dráha aktivovaná interakcí VCAM-1-VLA4 přispívá k růstu a přežití buněk MM a je zodpovědná za tvorbu osteoklastů a kostní resorpci [25]. Ve studii Valleta et al (2011) objevili, že MIP-1 α

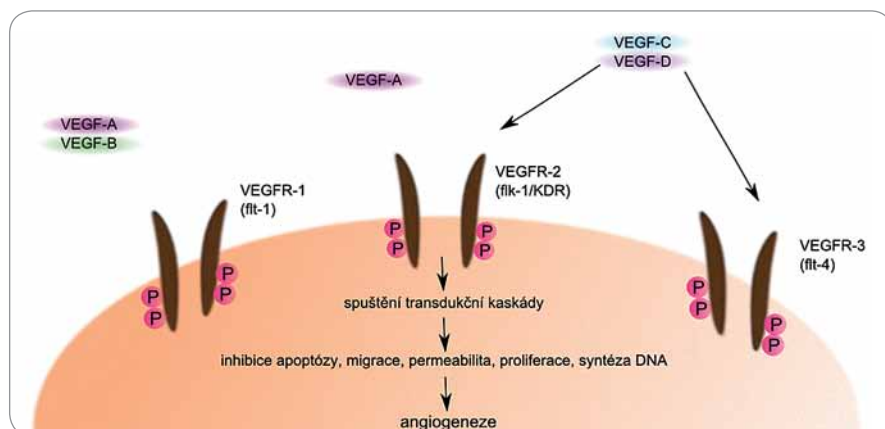
je rovněž zodpovědný za inhibici funkce osteoklastů, čímž rovněž přispívá k rozvoji osteolýzy [26].

MIP-1 α má však i přímý vliv na myelomové buňky. Ve studii Lentzsch et al (2003) bylo zjištěno, že MIP-1 α hraje roli v přežívání myelomových buněk, jejich růstu a migraci a významně se tak podílí na patofyziologii tohoto onemocnění [27].

MIP-1 α je produkován i buňkami WM. Jeho funkce u tohoto onemocnění není zatím dostatečně známa, ovšem některé studie poukazují na korelaci mezi zvýšenou hladinou MIP-1 α a kostní resorpcí. Omezení tvorby kostních lézí, které nejsou u WM přítomné, je připisováno poměru RANKL/OPG [20].

VEGF

Vaskulární endoteliální růstový faktor (vascular endothelial growth factor – VEGF) je glykoprotein vázající heparin. Kromě toho, že je nezbytným regulátorem fyziologického růstu endoteliálních buněk, je také zásadním faktorem krvetvorby. Je spojován s indukci angiogeneze a je důležitým regulátorem vaskulogeneze. Kromě toho může také



Obr. 3. VEGF a jeho receptory.

Po navázání VEGF na své receptory dojde ke spuštění transdukčních kaskád, které vedou k indukci angiogeneze.

indukovat vazodilataci cév, cévní propustnost a migraci buněk [28].

VEGF může být sekretován různými buňkami včetně myelomových a jeho sekrece je stimulována jinými cytokiny a produkty některých aktivovaných onkogenů [29]. Jeho činnost je zprostředkována především prostřednictvím jeho receptorů (obr. 3). Jedním z nich je VEGFR-1, označovaný také jako FLT-1, druhým je VEGFR-2, který je známý také pod názvem KDR, příp. Flk-1, a méně často je přítomen také receptor VEGFR-3, označovaný jako FLT-4 [30].

Změna angiogeneze je u MM jednou z charakteristických změn v mikroprostředí KD. Lze ji považovat za jeden z faktorů ovlivňujících růst nádorů a může být důležitým indikátorem aktivity onemocnění [31]. Nadměrná exprese VEGF maligními buňkami je přítomna u většiny pacientů s MM a přispívá k tvorbě nových cév v KD [32]. Přímým měřítkem angiogeneze je mikrovaskulární hustota (microvascular density – MVD). Byla prokázána významná korelace mezi mírou MVD a proliferační aktivitou buněk MM [33].

VEGF indukuje proliferaci myelomových buněk, spouští jejich migraci a je zodpovědný za produkci dalších cytokinů, jako např. IL-6. Ten zpětně způsobuje nadměrnou sekreci VEGF a jeho receptoru. Tím, že je VEGF schopný stimulovat produkci IL-6, působí také nepřímo jako regulátor růstu buněk, jejich migrace a přežívání [34]. Další funkcí VEGF je schopnost ovlivnit aktivitu os-

teoklastů. To vede k tvorbě kostních lytických lézí typických pro MM [35].

U pacientů s WM byly rovněž zjištěny zvýšené hodnoty VEGF, což naznačuje, že by i v patogenezi tohoto onemocnění mohla hrát angiogeneze významnou roli. Rozdíly hodnot mezi různými fázemi onemocnění však zjištěny nebyly [36]. Hladina VEGF a jeho receptoru je mezi pacienty s WM a nově diagnostikovanými MM podobná [37].

IGF-1

IGF-1 je malý peptid patřící do rodiny peptidů příbuzných s inzulinem [38]. IGF-1 reguluje buněčnou proliferaci, transformaci a apoptózu. Je jedním z nejdůležitějších růstových faktorů u MM. Tento cytokin je zodpovědný za proliferaci myelomových buněk, jejich růst a přežívání, ochranu před apoptózou a také umožňuje jejich migraci. Kromě toho podporuje angiogenní procesy, které stimulují buňky MM k sekreci VEGF [39,40].

IGF-1 je považován za prognostický znak MM i přesto, že se jeho hladiny u zdravých jedinců a pacientů velmi neliší [41]. U WM toho o tomto cytokinu není příliš známo. Ovšem v jedné studii, která se zabývala účinkem perifosinu na léčbu tohoto onemocnění, bylo popsáno, že by se IGF-1 mohl podílet na proliferaci buněk WM a na lékové rezistenci [42].

BlyS

BlyS, označovaný někdy také jako BAFF, je stimulator B lymfocytů, který patří

do rodiny tumor nekrotizujících faktorů (TNF) [43]. Hraje velmi významnou roli v udržování správného vývoje B buněk a vývoji homeostáze. Některé studie naznačují, že je ko-stimulátorem proliferace B lymfocytů a podílí se i na sekreci imunoglobulinů [44]. Nedostatečná hladina BlyS může vést k imunitním dysfunkcím, zatímco nadměrná exprese je zodpovědná za vznik autoimunitních onemocnění a B buněčných malignit [45].

Pro BlyS byly identifikovány tři receptory. Jsou jimi BCMA, TACI a BAFF-R. Jedná se o jednoduché receptory, které patří do rodiny TNF receptorů. BAFF-R je považován za hlavní receptor pro BlyS, který je zodpovědný za B buněčnou homeostázi, vývoj a přežití B buněk. BAFF-R váže BlyS specificky, zatímco TACI a BCMA mohou vázat také příbuznou molekulu APRIL [46,47]. Tento ligand je zodpovědný za stimulaci růstu nádorových buněk [48].

Myelomové buňky exprimují na svém povrchu všechny tři typy receptorů. Hladina BlyS je u MM zvýšená a pravděpodobně podporuje přežívání myelomových buněk. Zabezpečuje také jejich proliferaci, ovšem BlyS sám o sobě na ni nemá žádný efekt, proto je zřejmé, že mechanismus, kterým proliferaci ovlivňuje, je ve schopnosti tlumit apoptózu [49]. BlyS dokáže také ovlivnit buňky MM tak, aby reagovaly na přítomnost IL-6 a IGF-1, a tímto umožňuje jejich růst a přežívání [50].

Také na povrchu buněk WM jsou přítomny všechny tři typy receptorů [51]. Produkce BlyS je zvýšená i u tohoto onemocnění, ovšem v porovnání s MM je poměrně nízká [49]. U normálních B buněk je BlyS zodpovědný za regulaci sekrece IgM. Spojitost mezi zvýšenou hladinou BlyS a zvýšenou hladinou IgM u pacientů s WM tak naznačuje, že zde hraje zásadní roli, spolu s dalšími cytokiny. Zvýšená hladina BlyS v séru nebo v mikroprostředí KD podporuje také přežívání a proliferaci buněk WM, proto je možné, že by jeho inhibice mohla přispět k léčbě WM tím, že by došlo ke snížení hladiny IgM [51].

HGF

Hepatocytární růstový faktor (hepatocyte growth factor – HGF) je cytokin

s pleiotropními účinky. HGF se s vysokou afinitou váže na receptor c-Met, což je tyrozinkináza účastnící se celé řady procesů odehrávajících se v nádorových buňkách. HGF tak spouští vnitrobuněčnou signalizaci vedoucí k buněčné proliferaci, migraci a přežívání. Tento cytokin hraje rovněž roli v inhibici apoptózy indukci proapoptotických proteinů či snížením aktivity kaspázy 3 [52]. Dráha HGF/c-Met se účastní vývoje a progresu B buněčných malignit, jako je např. MM [53]. U B buněčných nádorových onemocnění je aktivace receptoru c-Met nejčastěji zprostředkována HGF produkovaným samotnými nádorovými buňkami, případně buňkami mikroprostředí KD [54]. HGF pak ovlivňuje proliferaci, růst, migraci, adhezi myelomových buněk, invazivitu onemocnění a novotvorbu cév [55,56].

Bylo prokázáno, že koncentrace HGF v krvi a plazmě KD je výrazně zvýšená u pacientů s MM oproti zdravým kontrolám a vyšší hladina HGF znamená horší prognózu onemocnění [57]. Ve studii Alexandrakise et al (2003) navíc sérová koncentrace HGF korelovala se stadii podle Durieho a Salmona. Dále byla jeho hladina v korelaci s hladinami IL-6 a TNF- α , což jsou cytokiny účastnící se stimulace osteoklastů u MM [58]. IL-6 indukovaná proliferace myelomových buněk byla také ovlivněna signalizací pomocí HGF/c-Met dráhy u některých myelomových linií. To naznačuje, že signalizace HGF/c-Met hraje roli při zesílení efektu dalších růstových faktorů u MM [59]. Receptor c-Met je exprimován také na osteoblastech a osteoklastech. Vysoká hladina HGF v séru pak koreluje s pokročilými stadii kostních lézí u MM [57,58]. Dále bylo prokázáno, že HGF inhibuje osteoblastogenezi *in vitro* [60]. HGF také indukuje adhezi myelomových buněk k fibronektinu a podporuje tak migraci myelomových buněk. HGF také hraje klíčovou roli v angiogenezi asociované s myelomem [61].

Ve studii Minaříka et al (2012) srovnali hladinu HGF u pacientů s MGUS a různými stadii MM. Bylo zjištěno, že sérová hladina HGF odráží aktivitu onemocnění a zvyšuje se s pokročilejším stadiem onemocnění. Může tak být užitečná při odlišení MGUS, asymptomatického my-

elomu a aktivní nemoci [62]. V jiné studii bylo rovněž pozorováno, že k odlišení MM od MGUS přispívá zvýšená sérová hladina HGF. Nicméně přestože statistická analýza srovnávající hladiny HGF u MM a MGUS ukázala vysoký význam, diagnostický potenciál sérové hladiny HGF se přesto jeví jako omezený z toho důvodu, že hodnoty u MM a MGUS se vzájemně překrývaly [63].

Ve studiích Poura et al se hladina HGF v plazmě periferní krve i KD před zahájením léčby zdála být dobrým markerem pro hodnocení angiogenní aktivity a dobrým prediktivním faktorem pro pacienty s MM léčené vysoce dávkovanou chemoterapií s autologní transplantací [64,65]. V další studii byla pak nízká hladina HGF před zahájením léčby asociovaná s léčebnou odpovědí na bortezomib [66].

Role HGF u WM prozatím nebyla popsána, ale je pravděpodobné, že bude hrát velkou roli i u tohoto onemocnění, stejně jako u MM.

Souhrn

Mikroprostředí KD hraje velmi významnou roli ve vývoji jak MM, tak i WM. Jedním ze způsobů komunikace mezi nádorovými buňkami a buňkami KD je sekrece cytokinů. Produkce jednotlivých cytokinů významně ovlivňuje růst, proliferaci a přežívání maligních buněk a rovněž se podílí na klinické manifestaci MM i WM.

Nicméně na základě dosud studovaných cytokinových profilů nejsme schopni tyto dvě choroby odlišit a pro jejich rozlišení musí být využita jiná kritéria. Snahou dalších studií by mělo být nalezení cytokinových profilů umožňujících jejich odlišení a také upřesnění funkcí jednotlivých cytokinů u MM i WM, jak při jejich vývoji, tak i např. při vzniku lékové rezistence.

Literatura

- Hájek R, Krejčí M, Pour L et al. Multiple myeloma. *Klin Onkol* 2011; 24 (Suppl 1): S10–S13.
- Adam Z, Smardová J, Scudla V. Waldenströмова makroglobulinemie: klinické projevy a diferenciální diagnostika a prognóza nemoci. *Vnitr Lek* 2007; 53(12): 1325–1337.
- Balakumaran A, Robey PG, Fedarko N et al. Bone marrow microenvironment in myelomagenesis: its potential role in early diagnosis. *Expert Rev Mol Diagn* 2010; 10(4): 465–480.
- Haas HS, Schauenstein K. Neuroimmunomodulation via limbic structures – the neuroanatomy of psychoimmunology. *Prog Neurobiol* 1997; 51(2): 195–222.
- Negus RP, Balkwill FR. Cytokines in tumour growth, migration and metastasis. *World J Urol* 1996; 14(3): 157–165.

- Naugler WE, Karin M. The wolf in sheep's clothing: the role of interleukin-6 in immunity, inflammation and cancer. *Trends Mol Med* 2008; 14(3): 109–119.
- Mitsiades CS, Mitsiades N, Munshi NC et al. Focus on multiple myeloma. *Cancer Cell* 2004; 6(5): 439–444.
- Chng WJ, Schop RF, Price-Troska T et al. Gene-expression profiling of Waldenström macroglobulinemia reveals a phenotype more similar to chronic lymphocytic leukemia than multiple myeloma. *Blood* 2006; 108(8): 2755–2763.
- 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.
- Dankbar B, Padró T, Leo R et al. Vascular endothelial growth factor and interleukin-6 in paracrine tumor-stromal cell interactions in multiple myeloma. *Blood* 2000; 95(8): 2630–2636.
- Jourdan M, Mahtouk K, Veyrune JL et al. Delineation of the roles of paracrine and autocrine interleukin-6 (IL-6) in myeloma cell lines in survival versus cell cycle. A possible model for the cooperation of myeloma cell growth factors. *Eur Cytokine Netw* 2005; 16(1): 57–64.
- Abildgaard N, Glerup H, Rungby J et al. Biochemical markers of bone metabolism reflect osteoclastic and osteoblastic activity in multiple myeloma. *Eur J Haematol* 2000; 64(2): 121.
- Hatzimichael EC, Christou L, Bai M et al. Serum levels of IL-6 and its soluble receptor (sIL-6R) in Waldenström's macroglobulinemia. *Eur J Haematol* 2001; 66(1): 1–6.
- Blanchard F, Duplomb L, Baud'huin M et al. The dual role of IL-6-type cytokines on bone remodeling and bone tumors. *Cytokine Growth Factor Rev* 2009; 20(1): 19–28.
- Elsawa SF, Novak AJ, Ziesmer SC et al. Comprehensive analysis of tumor microenvironment cytokines in Waldenström macroglobulinemia identifies CCL5 as a novel modulator of IL-6 activity. *Blood* 2011; 118(20): 5540–5549.
- Boyce BF, Xing L. The RANKL/RANK/OPG pathway. *Curr Osteoporos Rep* 2007; 5(3): 98–104.
- Corso A, Dovio A, Rusconi C et al. Osteoprotegerin serum levels in multiple myeloma and MGUS patients compared with age- and sex-matched healthy controls. *Leukemia* 2004; 18(9): 1555–1557.
- Terpos E, Szydlo R, Apperley JF et al. Soluble receptor activator of nuclear factor kappaB ligand-osteoprotegerin ratio predicts survival in multiple myeloma: proposal for a novel prognostic index. *Blood* 2003; 102(3): 1064–1069.
- Marcelli C, Chappard D, Rossi JF et al. Histologic evidence of an abnormal bone remodeling in B-cell malignancies other than multiple myeloma. *Cancer* 1988; 62(6): 1163–1170.
- Terpos E, Anagnostopoulos A, Kastritis E et al. Abnormal bone remodelling and increased levels of macrophage inflammatory protein-1 alpha (MIP-1alpha) in Waldenström macroglobulinaemia. *Br J Haematol* 2006; 133(3): 301–304.
- Terpos E, Tasidou A, Eleftherakis-Papaiakovou E et al. Expression of CCL3 by neoplastic cells in patients with Waldenström's macroglobulinemia: an immunohistochemical study in bone marrow biopsies of 67 patients. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2011; 11(1): 115–117.
- Miñano FJ, Sancibrian M, Vizziano M et al. Macrophage inflammatory protein-1: unique action on the hypothalamus to evoke fever. *Brain Res Bull* 1990; 24(6): 849–852.
- Kukita T, Nomiya H, Ohmoto Y et al. Macrophage inflammatory protein-1 α (LD78) expressed in human bone marrow: its role in regulation of hematopoiesis and osteoclast recruitment. *Lab Invest* 1997; 76(3): 399–406.
- Uneda S, Hata H, Matsuno F et al. Macrophage inflammatory protein-1 alpha is produced by human multiple myeloma (MM) cells and its expression correlates with bone lesions in patients with MM. *Br J Haematol* 2003; 120(1): 53–55.
- Michigami T, Shimizu N, Williams PJ et al. Cell-cell contact between marrow stromal cells and myeloma

- cells via VCAM-1 and $\alpha 4 \beta 1$ -integrin enhances production of osteoclast-stimulating activity. *Blood* 2000; 96(5): 1953–1960.
26. Vallet S, Pozzi S, Patel K et al. A novel role for CCL3 (MIP-1 α) in myeloma-induced bone disease via osteocalcin downregulation and inhibition of osteoblast function. *Leukemia* 2011; 25(7): 1174–1181. doi: 10.1038/leu.2011.43.
 27. Lentzsch S, Gries M, Janz M et al. Macrophage inflammatory protein 1- α (MIP-1 α) triggers migration and signaling cascades mediating survival and proliferation in multiple myeloma (MM) cells. *Blood* 2003; 101(9): 3568–3573.
 28. Neufeld G, Cohen T, Gengrinovitch S et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. *FASEB J* 1999; 13(1): 9–22.
 29. Okada F, Rak JW, Croix BS et al. Impact of oncogenes in tumor angiogenesis: mutant K-ras upregulation of vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor is necessary, but not sufficient for tumorigenicity of human colorectal carcinoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95(7): 3609–3614.
 30. Kumar S, Witzig TE, Timm M et al. Expression of VEGF and its receptors by myeloma cells. *Leukemia* 2003; 17(10): 2025–2031.
 31. Rajkumar SV, Mesa RA, Fonseca R et al. Bone marrow angiogenesis in 400 patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance, multiple myeloma, and primary amyloidosis. *Clin Cancer Res* 2002; 8(7): 2210–2216.
 32. Podar K, Tai YT, Davies FE et al. Vascular endothelial growth factor triggers signaling cascades mediating multiple myeloma cell growth and migration. *Blood* 2001; 98(2): 428–435.
 33. Marković O, Marisavljević D, Čemerikić V et al. Expression of VEGF and microvessel density in patients with multiple myeloma: clinical and prognostic significance. *Med Oncol* 2008; 25(4): 451–457.
 34. Podar K, Anderson K. The pathophysiologic role of VEGF in hematologic malignancies: therapeutic implication. *Blood* 2005; 105(4): 1383–1395.
 35. Nakagawa M, Kaneda T, Arakawa T et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) directly 51 enhances osteoclastic bone resorption and survival of mature osteoclasts. *FEBS Lett* 2000; 473(2): 161–164.
 36. Anagnostopoulos A, Eleftherakis-Papaiakovou V, Kasritsis E et al. Serum concentrations of angiogenic cytokines in Waldenstrom macroglobulinaemia: the ratio of angiopoietin-1 to angiopoietin-2 and angiogenin correlate with disease severity. *Br J Haematol* 2007; 137(6): 560–568.
 37. Kumar S, Witzig TE, Timm M et al. Bone marrow angiogenic ability and expression of angiogenic cytokines in myeloma: evidence favoring loss of marrow angiogenesis inhibitory activity with disease progression. *Blood* 2004; 104(4): 1159–1165.
 38. Rinderknecht E, Humbel RE. The amino acid sequence of human insulin like growth factor I and its structural homology, with proinsulin. *J Biol Chem* 1978; 253(8): 2769–2776.
 39. Menu E, van Valckenborgh E, van Camp B et al. The role of the insulin-like growth factor 1 receptor axis in multiple myeloma. *Arch Physiol Biochem* 2009; 115(2): 49–57.
 40. Qiang YW, Yao L, Tosato G et al. Insulin-like growth factor I induces migration and invasion of human multiple myeloma cells. *Blood* 2004; 103(1): 301–308.
 41. Standal T, Borset M, Lenhoff S et al. Serum insulin-like growth factor is not elevated in patients with multiple myeloma but is still a prognostic factor. *Blood* 2002; 100(12): 3925–3929.
 42. Leleu X, Jia X, Runnels J et al. The Akt pathway regulates survival and homing in Waldenstrom macroglobulinemia. *Blood* 2007; 110(13): 4417–4426.
 43. Schneider P, MacKay F, Steiner V et al. BAFF, a novel ligand of the tumor necrosis factor family, stimulates B cell growth. *J Exp Med* 1999; 189(11): 1747–1756.
 44. Mackay F, Schneider P, Rennett P et al. BAFF AND APRIL: a tutorial on B cell survival. *Annu Rev Immunol* 2003; 21: 231–264.
 45. Xu G, Shen XJ, Pu J et al. BlyS expression and JNK activation may form a feedback loop to promote survival and proliferation of multiple myeloma cells. *Cytokine* 2012; 60(2): 505–513.
 46. Gross JA, Johnston J, Mudri S et al. TACI and BCMA are receptors for a TNF homologue implicated in B-cell autoimmune disease. *Nature* 2000; 404(6781): 995–999.
 47. Thompson JS, Bixler SA, Qian F et al. BAFF-R, a newly identified TNF receptor that specifically interacts with BAFF. *Science* 2001; 293(5537): 2108–2111.
 48. Hahne M, Kataoka T, Schröter et al. APRIL, a new ligand of the tumor necrosis factor family, stimulates tumor cell growth. *J Exp Med* 1998; 188(6): 1185–1190.
 49. Novak AJ, Darce JR, Arendt BK et al. Expression of BCMA, TACI, and BAFF-R in multiple myeloma: a mechanism for growth and survival. *Blood* 2004; 103(2): 689–694.
 50. Hideshima T, Anderson KC. Molecular mechanisms of novel therapeutic approaches for multiple myeloma. *Nat Rev Cancer* 2002; 2(12): 927–937.
 51. Elswa SF, Novak AJ, Grote DM et al. B-lymphocyte stimulator (BlyS) stimulates immunoglobulin production and malignant B-cell growth in Waldenstrom macroglobulinemia. *Blood* 2006; 107: 2882–2888.
 52. Cohen S, Shachar I. Cytokines as regulators of proliferation and survival of healthy and malignant peripheral B cells. *Cytokine* 2012; 60(1): 13–22. doi: 10.1016/j.cyt.2012.06.019.
 53. Derksen PW, de Gorter DJ, Meijer HP et al. The hepatocyte growth factor/Met pathway controls proliferation and apoptosis in multiple myeloma. *Leukemia* 2003; 17(4): 764–774.
 54. Mahtouk K, Tjin EP, Spaargaren M et al. The HGF/MET pathway as target for the treatment of multiple myeloma and B-cell lymphomas. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1806(2): 208–219. doi: 10.1016/j.bbcan.2010.07.006.
 55. Hov H, Holt RU, Rø TB et al. A selective c-met inhibitor blocks an autocrine hepatocyte growth factor growth loop in ANBL-6 cells and prevents migration and adhesion of myeloma cells. *Clin Cancer Res* 2004; 10(19): 6686–6694.
 56. Du W, Hattori Y, Yamada T et al. NK4, an antagonist of hepatocyte growth factor (HGF), inhibits growth of multiple myeloma cells: molecular targeting of angiogenic growth factor. *Blood* 2007; 109(7): 3042–3049.
 57. Seidel C, Borset M, Turesson I et al. Elevated serum concentrations of hepatocyte growth factor in patients with multiple myeloma. The Nordic Myeloma Study Group. *Blood* 1998; 91(3): 806–812.
 58. Alexandrakis MG, Passam FH, Sfridakis A et al. Elevated serum concentration of hepatocyte growth factor in patients with multiple myeloma: correlation with markers of disease activity. *Am J Hematol* 2003; 72(4): 229–233.
 59. Hov H, Tian E, Holien T et al. c-Met signaling promotes IL-6-induced myeloma cell proliferation. *Eur J Haematol* 2009; 82(4): 277–287. doi: 10.1111/j.1600-0609.2009.01212.
 60. Standal T, Abildgaard N, Fagerli UM et al. HGF inhibits BMP-induced osteoblastogenesis: possible implications for the bone disease of multiple myeloma. *Blood* 2007; 109(7): 3024–3030.
 61. Holt RU, Baykov V, Rø TB et al. Human myeloma cells adhere to fibronectin in response to hepatocyte growth factor. *Haematologica* 2005; 90(4): 479–488.
 62. Minarik J, Pika T, Bacovsky J et al. Prognostic value of hepatocyte growth factor, syndecan-1, and osteopontin in multiple myeloma and monoclonal gammopathy of undetermined significance. *ScientificWorldJournal* 2012; 2012: 356128. doi: 10.1100/2012/356128.
 63. Scudla V, Budíková M, Petrová P et al. Analýza sérových hladin vybraných bio logických ukazatelů u monoklonální gamapatie nejistého významu a mnohočetného myelomu. *Klin Onkol* 2010; 23(3): 171–181.
 64. Pour L, Svachova H, Adam Z et al. Levels of angiogenic factors in patients with multiple myeloma correlate with treatment response. *Ann Hematol* 2010; 89(4): 385–389. doi: 10.1007/s00277-009-0834-3.
 65. Pour L, Svachova H, Adam Z et al. Pretreatment hepatocyte growth factor and thrombospondin-1 levels predict response to high-dose chemotherapy for multiple myeloma. *Neoplasia* 2010; 57(1): 29–34.
 66. Pour L, Svachova H, Adam Z et al. Treatment response to bortezomib in multiple myeloma correlates with plasma hepatocyte growth factor concentration and bone marrow thrombospondin concentration. *Eur J Haematol* 2010; 84(4): 332–336. doi: 10.1111/j.1600-0609.2009.01396.x.

Lymfomy se dvěma zásahy – přehled literatury a kazuistika

Double-hit Lymphomas – Review of the Literature and Case Report

Šmardová J.¹, Moulis M.¹, Lišková K.¹, Koptíková J.², Hrabáková R.¹, Klusáková J.³

¹ Ústav patologie, LF MU a FN Brno

² Institut biostatistiky a analýz, LF MU, Brno

³ MDgK-plus spol. s r.o., Újezd u Brna

Souhrn

B lymfocyty jsou buňky imunitního systému zodpovědné především za specifickou, protilátkami zprostředkovanou imunitní odpověď. Odhaduje se, že lidský organizmus disponuje 10^{11} protilátkami s různou specifitou. V genomu neexistují specifické geny pro jednotlivé protilátky. Rozpor mezi obrovskou diverzitou protilátek a omezenou kódující kapacitou genomu je vyřešen kombinací unikátního uspořádání genetické informace pro imunoglobuliny a unikátními genetickými a somatickými procesy, které vytvoření tak širokého spektra různých protilátek zajistí. Tyto mechanismy na jedné straně představují život ochraňující zdroj širokého spektra protilátek, na straně druhé představují život ohrožující riziko v podobě možnosti vývoje závažného nádorového onemocnění, B lymfomu. Lymfomy se dvěma zásahy tvoří mezi B lymfomy specifickou skupinu onemocnění. Nejčastěji nesou aberaci genů *BCL2* a *MYC*. Důsledkem aktivace *MYC*, typické pro Burkittův lymfom (BL), je výrazná stimulace buněčného cyklu. Vysoká aktivita *BCL2*, typická pro folikulární lymfomy, způsobuje rezistenci k apoptóze. Paralelní závažné poškození regulace proliferace a apoptózy je příčinou charakteristických klinických projevů lymfomů se dvěma zásahy – velké agresivity, rezistence ke standardní terapii, vysokého rizika brzkého relapsu, krátkého celkového přežití, častého postižení extranodálních míst a centrální nervové soustavy. Lymfomy se dvěma zásahy v posledních letech přitahují velkou pozornost odborníků, mimo jiné proto, že přinášejí vhledy do procesu zrání lymfocytů a vývoje lymfomů a výrazně poukazují na dvousečnost mechanismů umožňujících diverzifikaci protilátek. **Případ:** U 53letého muže byl na základě morfologických a imunofenotypických znaků diagnostikován B buněčný lymfom neklasifikovatelný, s rysy mezi difúzním velkobuněčným lymfomem (diffuse large B-cell lymphoma – DLBCL) a BL. Cytogenetická analýza prokázala, že se jedná o lymfom se dvěma zásahy nesoucí translokaci t(14;18) a přestavbu *MYC*. Pacient zemřel pět měsíců po stanovení diagnózy.

Klíčová slova

B lymfocyty – tvorba protilátek – B lymfomy – lymfomy se dvěma zásahy

Tato práce byla podpořena grantem IGA MZ ČR č. NT/13519-4/2012.

This study was supported by grant of Internal Grant Agency of the Czech ministry of Health No. NT/13519-4/2012.

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.



prof. RNDr. Jana Šmardová, CSc.
Ústav patologie
LF MU a FN Brno
Jihlavská 20
625 00 Brno
e-mail: janasmarda@seznam.cz

Obdrženo/Submitted: 2. 8. 2013

Přijato/Accepted: 11. 9. 2013

Summary

B-lymphocytes are cells of the immune system responsible for the antibody-mediated immune response. As estimated, a human body can produce as much as 10^{11} specific antibodies. There are no specific genes coding for every individual antibody in the human genome. Discrepancy between the huge diversity of antibodies and limited coding capacity of the genome is solved by combination of unique arrangement of genetic information for immunoglobulin and unique genetic and somatic processes providing this wide spectrum of antibodies. On one side, these mechanisms represent a life protecting source of a wide spectrum of antibodies but at the same time, they can be life threatening by raising the risk of a serious tumor disease, the B-cell lymphoma. Double-hit lymphomas represent a specific group of B-cell lymphomas often featuring concurrent rearrangements of *BCL2* and *MYC* genes. Activation of the *MYC* oncogene, typical for Burkitt lymphoma (BL), causes strong stimulation of cell proliferation. High activity of *BCL-2*, typical for follicular lymphoma, induces resistance to apoptosis. Concurrent damage of regulation of apoptosis and proliferation is probably responsible for the typical clinical manifestation of double-hit lymphomas – aggressive course, resistance to conventional chemotherapy, high-risk of early relapse, short overall survival, frequent extranodal and central nervous system involvement. Recently, these lymphomas have attracted a strong attention of researchers as they provide sharp insights into processes of lymphocytes maturing and lymphomas development and highlight the double-edged nature of mechanisms allowing the antibody broad diversity. **Case report:** Fifty-three-year-old man was diagnosed with B-cell lymphoma unclassifiable with features intermediate between diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) and BL, based on morphology and immunophenotype. Fluorescent *in situ* hybridization analysis revealed double-hit lymphoma diagnosis as the tumor cells bear t(14;18) translocation concurrently with the *MYC* gene rearrangement. The patient died five months after diagnosis.

Key words

B-lymphocytes – antibody formation – B-cell lymphoma – double-hit lymphoma

Úvod

B lymfocyty jsou buňky imunitního systému zodpovědné především za specifickou, protilátkami zprostředkovanou imunitní odpověď. Odhaduje se, že každý lidský organizmus disponuje asi 10^{11} protilátkami s různou specifitou [1]. To je tak velký počet, že je vyloučené, aby pro každou z nich v genomu existoval specifický gen. Rozpor mezi obrovskou diverzitou protilátek a omezenou kódovací kapacitou genomu je vyřešen kombinací unikátního uspořádání genetické informace pro imunoglobuliny a unikátními genetickými a somatickými procesy, které vytvoření tak širokého spektra různých protilátek zajistí. V lidském genomu jsou tři geny pro imunoglobulinové řetězce. Gen *IGH* na chromozomu 14 (14q32) kóduje těžký řetězec μ , *IGK* na chromozomu 2 (2p12) lehký řetězec κ a *IGL* na chromozomu 22 (22q11) lehký řetězec λ . Jedním zdrojem diverzity protilátek je uspořádání genů do tzv. genových segmentů V, D a J a možnost jejich přeskupování a kombinování. Dalšími jsou pak úpravy vazebných míst pro antigen mechanismem somatických hypermutací a izotypové přepnutí. Tyto unikátní mechanismy na jedné straně představují život ochraňující a život umožňující zdroj širokého spektra protilátek, na straně druhé představují život ohrožující riziko v podobě možnosti vý-

voje závažného nádorového onemocnění, B lymfomu.

Lymfomy se dvěma zásahy (double-hit lymphomas – DHL) jsou specifickým typem B lymfomů. Vyznačují se vysokou agresivitou a rezistencí ke standardní terapii a v posledních letech přitahují velkou pozornost odborníků. Jejich studium přináší hluboké vhledy do procesu vývoje zdravých B lymfocytů i vývoje lymfomů. Mimo jiné proto, že právě lymfomy se dvěma zásahy zřetelně poukazují na dvousečnost mechanismů umožňujících diverzifikaci protilátek.

Vývoj B lymfocytů

Prekurzory B lymfocytů vznikají dělením pluripotentní hematopoietické kmenové buňky (hematopoietic stem cells – HSC) v kostní dřeni [2]. Vývoj B lymfocytů lze rozdělit na tři fáze (obr. 1). První se uskutečňuje bez přítomnosti antigenu, ke druhé je zapotřebí antigenní stimulace, třetí fáze je terminální stadium diferenciace aktivovaného B lymfocytu. Jednotlivé fáze diferenciace B lymfocytů se odehrávají v odlišných tělních kompartmentech a lze je sledovat na základě morfologických změn a také na základě změn exprese specifických membránových markerů [1,3].

První fáze vyzrávání B lymfocytů – bez přítomnosti antigenu – probíhá v kostní dřeni. V této fázi dochází k přeskupo-

vání genových segmentů – rekombinaci V(D)J – nejdříve těžkých a pak lehkých řetězců, za účasti RAG1 a 2. Nezralé B lymfocyty tak exprimují na svém povrchu přeskupený B buněčný receptor (BcR), nejdříve typu IgM, později IgD. Prostřednictvím BcR B lymfocyty rozpoznávají antigenní podněty. Rozpustné formy BcR fungují jako protilátky nacházející se v tělních tekutinách. Po přeskupení genových segmentů je selekčními procesy testována autoimunita a schopnost přežít v periferních lymfatických tkáních. Buňky s nefunkčními či autoreaktivními receptory jsou eliminovány apoptózou. Buňky, které projdou selekcí, dozrávají v naivní B buňky.

Druhá fáze vývoje B lymfocytů začíná vyplavováním naivních B buněk do krve, odkud se dostávají do periferních lymfatických orgánů (sleziny, lymfatických uzlin, tonsily a dalších), kde osídlují primární lymfoidní folikly. Tam se prostřednictvím folikulárních dendritických buněk (follicular dendritic cell – FDC) setkávají s antigeny a jsou pomocnými T buňkami aktivovány. Po aktivaci B buňky intenzivně proliferují a tvoří germinální (zárodečná) centra (GC). Primární folikly se tak přeměňují na folikly sekundární. V germinálních centrech probíhají dva klíčové procesy – 1. Dochází zde procesem řízeným antigeny k **somatickým hypermutacím** (somatic

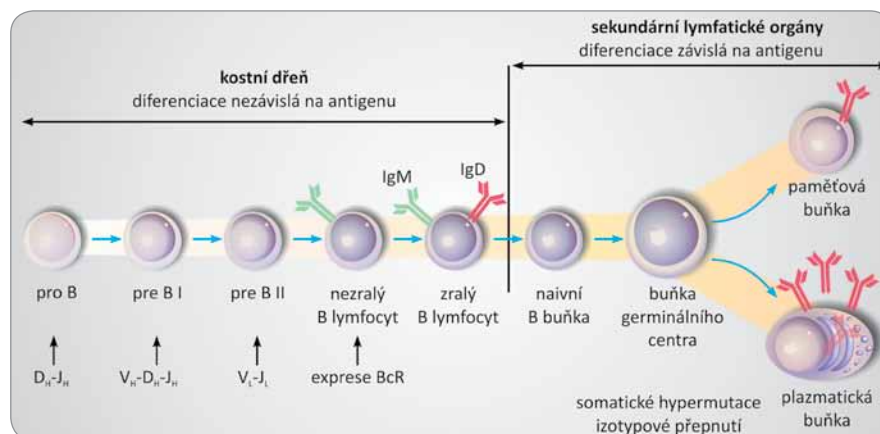
hypermutace – SHM) ve variabilních oblastech imunoglobulinů (IgV). Hypermutace zvyšují afinitu imunoglobulinu k příslušnému aktivujícímu antigenu. 2. Druhým klíčovým procesem je **izotypové přepnutí** (class-switch recombination – CSR) neboli změna třídy imunoglobulinů, které se z původních IgM a IgD mění na IgG, IgA nebo IgE. Izotypové přepnutí zajišťují, že budou produkovány protilátky různých tříd. Oba procesy – SHM i CSR – jsou spjaty s **aktivací indukovanou cytidin deaminázou** (activation-induced cytidine deaminase – AID).

Vývoj B lymfocytu končí třetí fází, přeměnou na plazmatickou buňku, která produkuje protilátky, a vznikem paměťové buňky. Plazmatické buňky jako nejvýše diferencované B lymfocyty se opět nacházejí především v kostní dřeni [1,3,4].

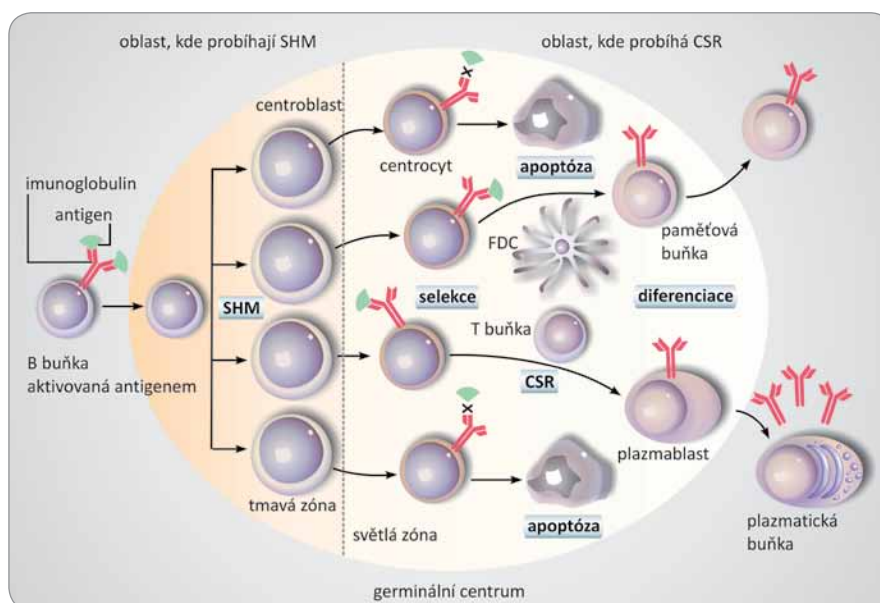
Úloha germinálního centra v diferenciaci B lymfocytu

Germinální centra jsou vytvářena proliferujícími B buňkami ve foliklech periferních lymfoidních tkání (obr. 2). Mají specifickou strukturu. Tzv. **tmavá zóna** GC je tvořena rychle se dělícími centroblasty, u kterých dochází k somatickým hypermutacím. Klidové B buňky jsou vytlačovány těmi vysoce proliferujícími na periferii foliklu, kde tvoří tzv. **plášťovou zónu**. **Světlá zóna** GC je tvořena nedělícími se centrocyty, u kterých probíhá izotypové přepnutí. Postupně vznikají paměťové a plazmatické buňky. Proces SHM je spojen s vytvářením dvouřetězcových zlomů DNA a vede k jednonukleotidovým záměnám nebo krátkým deletcím a insercím v IgV oblastech imunoglobulinů. Proces CSR probíhá mechanismem rekombinace DNA a nehomologního spojování konců DNA. Jak SHM, tak CSR jsou absolutně závislé na IAD. IAD katalyzuje cílenou deaminaci zbytků deoxycytidinů a jejich konverzi na uracil. To vede ke změně páru C : G na pár U : G [5–8].

Diferenciace antigenem aktivovaných B buněk v centroblasty je spojena s dramatickým zvýšením **proliferace**. Zároveň je ale u těchto buněk na rozdíl od jiných intenzivně proliferujících buněk výrazně **snížena citlivost k poškození DNA**, tak aby byly tolerovány procesy



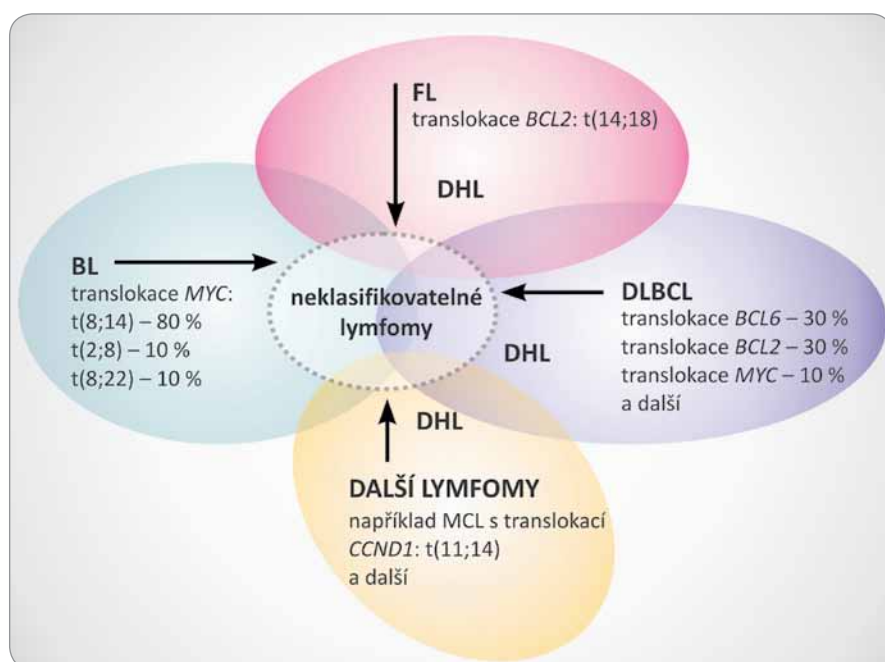
Obr. 1. Vývoj B lymfocytu. Prekurzorový B lymfoblast v kostní dřevě prodělává přeskupování genových segmentů genů pro imunoglobuliny. Postupně zraje nezávisle na přítomnosti antigenu až do stadia nezralého B lymfocytu, který začíná exprimovat již přeskupovaný B buněčný receptor (BCR). Zralé B lymfocyty migrují krví do sekundárních lymfatických orgánů. Naivní B buňky osidlují primární lymfatické folikly a po aktivaci antigenem vytvářejí germinální centra. V germinálním centru podléhají B buňky somatickým hypermutacím variabilních úseků imunoglobulinů a izotypovému přepnutí. Vývoj B lymfocytu končí přeměnou na plazmatické buňky produkující protilátky a klidové paměťové buňky. Převzato a upraveno dle [3,37].



Obr. 2. Mikroprostředí germinálního centra. B buňky aktivované antigenem diferencují v centroblasty, které klonálně expandují v tmavé zóně germinálního centra. Během proliferace probíhá proces somatických hypermutací (SHM). Centroblasty diferencují v centrocyty a přesunují se do světlé zóny, kde za pomoci T buněk a folikulárních dendritických buněk (FDC) dochází k selekci na základě vazby k imunizujícímu antigenu. Centrocyty, které produkují nevyhovující protilátky, vstupují do apoptózy, ostatní centrocyty procházejí procesem izotypového přepnutí (CSR) a dále diferencují v plazmatické a paměťové buňky. Převzato a upraveno dle [4].

související s vyžíváním – SHM a CSR. Centroblasty mají **aktivní telomerázu**, aby během klonální expanze B buněk v GC nebyl vyčerpán jejich replikační potenciál. Na druhé straně jsou tyto buňky

silně **citlivé k indukci apoptózy**, např. vůbec neexprimují antiapoptotické geny *BCL2*. Klíčovým regulátorem fenotypu centroblastů v GC je protein *BCL6*. Funguje jako transkripční repre-



Obr. 3. Šedá zóna netypických, neklasifikovatelných lymfomů. Potenciální zdroje a vývoj neklasifikovatelných lymfomů a lymfomů se dvěma zásahy. Převzato a upraveno dle [13].

sor, který prostřednictvím svých cílových genů (např. *p53*, *PIAS2*, *ATM*, *BCL2*, *BLIMP1*) zajišťuje snížení vnímavosti buněk k indukcii apoptózy, zástavě buněčného cyklu a citlivosti k poškození DNA. *BCL6* se také podílí na regulaci aktivity B buněk a jejich diferenciaci v paměťové buňky. *BCL6* je tak skutečně klíčovým a hlavním efektozem vývoje B buněk v GC [4].

Vznik lymfomů

Protiváhou prospěšné a nezastupitelné úlohy germinálních center ve vyžívání a rozrůžňování B lymfocytů je jejich úloha, kterou sehrávají při vývoji většiny typů B lymfomů. Obecně lze říci, že mnohé lymfomy vznikají právě v GC, a to kvůli chybám, ke kterým dochází během procesů somatických hypermutací a izotypového přepnutí. Tyto procesy jsou fyziologicky cíleny na IgV oblasti imunoglobulinových řetězců, ale mohou způsobit hypermutace nebo translokace i některých jiných genů, např. *BCL6*, *MYC*, *BCL2*, *CCND1*, *NF-κB* a dalších, a stát se tak příčinou vývoje některých ne Hodgkinsonských lymfomů [5–8]. Většina těchto lymfomů skutečně vykazuje mutovaný IgV, což jasně ukazuje, že jsou odvozeny z buněk, které prošly nebo prochá-

zely GC. Výjimkou jsou např. translokace *t(14;18)*, které vedou k fúzi genu *BCL2* a regulační sekvenční genu *IGH*, spojené s vývojem folikulárního lymfomu (FL), a translokace *t(8;14)* spojené s endemickým typem Burkittova lymfomu (BL), které jsou pravděpodobněji výsledkem aberací, ke kterým dochází během V(D)J rekombinace, a tedy v pre-GC buňkách.

Aberantní SHM zasahující neimunoglobulinové geny (např. *MYC*, *PIM1*, *BCL6*, *PAX5* a další) jsou spojeny především s DLBCL. Až 30 % případů DLBCL nese chromozomální translokaci genu *BCL6* (3q27), a to buď s některým genem pro imunoglobulinový řetězec, nebo s neimunoglobulinovým genem. Také translokace *t(14;18)* způsobující aktivaci *BCL2*, typická pro FL, je u DLBCL častá, vyskytuje se až u 30 % případů. Chromozomální translokace způsobující fúzi genu *MYC* s některým z genů pro imunoglobulin (*IGH*, *IGL*, *IGK*) se vyskytují téměř u všech případů BL, ale také asi u 10 % případů DLBCL. Pro lymfom z buněk plášťové zóny (mantle cell lymphoma – MCL) jsou typické translokace *t(11;14)*, které vedou k translokaci genu *CCND1* s genem *IGH*. Tyto typické chromozomální přestavby a hypermu-

tace jsou nejenom charakteristické pro určité typy lymfomů, ale považují se také za změny primární, iniciující vývoj nádoru [4,9].

Lymfomy se dvěma zásahy

DHL tvoří specifickou skupinu onemocnění s charakteristickým klinickým chováním. Typické DHL nesou aberaci genu *BCL2* a *MYC*. Důsledkem aktivace *MYC*, typické pro Burkittův lymfom, je výrazná stimulace buněčného cyklu. Vysoká aktivita *BCL2*, typická pro folikulární lymfomy, vede k výrazné rezistenci k apoptóze. Paralelní závažné poškození těchto dvou klíčových buněčných procesů je pravděpodobně příčinou charakteristických klinických projevů těchto lymfomů. Jsou velmi agresivní, rezistentní ke standardní terapii, s vysokým rizikem brzkého relapsu. Medián přežití je odhadován mezi 4,5 a 18,5 měsíci, tedy výrazně kratší než např. u BL a IPI odpovídajícího DLBCL. Typické je časté postižení extranodálních míst a postižení centrální nervové soustavy [10–12].

Definice DHL

Termín „lymfomy se dvěma zásahy“ není zcela jednoznačný. Původně se používal pro označení B lymfomů, které nesou zároveň přestavbu genu *MYC* a genu *BCL2*. V současnosti se označení DHL používá obecněji i pro další agresivní B lymfomy, které nesou přestavbu genu *MYC* v kombinaci s další či dalšími přestavbami jiných genů typickými pro lymfomy. Jsou to např. lymfomy nesoucí vedle přestavby genu *MYC* aberaci *BCL6*, *BCL3* nebo *CCND1*, lymfomy se třemi zásahy *MYC/BCL2/BCL6* a další varianty [11–13]. Někdy se označení DHL užívá ještě obecněji pro všechny B lymfomy, které nesou násobné přestavby [11].

„Klasické“ DHL nesou aberace *MYC* a *BCL2*. Morfologicky tyto lymfomy nesou často znaky jak BL, tak DLBCL. Podle poslední WHO klasifikace z roku 2008 existuje kategorie B buněčný lymfom neklasifikovatelný s rysy mezi DLBCL a BL (BCLU: *B-cell lymphoma, unclassifiable with features intermediate between DLBCL and BL*) [14]. Řada případů DHL spadá právě do této kategorie a podle některých studií představují vysoký podíl

BCLU [13,15,16]. Některé případy DHL jsou diagnostikovány jako DLBCL, mezi kterými mohou představovat 5–12 % případů [11,17,18]. BCLU a DLBCL nejsou jediné dvě kategorie, ve kterých lze DHL nalézat. Obecněji platí, že hranice mezi jednotlivými typy lymfomů nejsou ostré a zcela jasně vymezitelné. Naopak existuje plynulé spektrum případů od jasně vymezených a jednoznačně klasifikovatelných po nejružnější nezařaditelné, netypické lymfomy se znaky více kategorií. DHL se nejčastěji nalézají právě v té „šedé zóně“ netypických lymfomů, ale mohou se rekrutovat téměř ze všech skupin lymfomů (obr. 3) [13].

Zajímavou okolností DHL je typ přestavby, který postihuje gen *MYC*. U BL je převážná většina případů (80–90 %) přestavby *MYC* typu t(8;14), tedy fúzí genu *MYC* s genem *IGH* pro těžký imunoglobulin μ ; jen zbylých 10–20 % případů připadá na t(2;8) a t(8;22), tedy přestavby *MYC* s geny *IGL* a *IGK* pro lehké imunoglobulinové řetězce λ a κ . Pro BL je navíc typický jednoduchý karyotyp jen s malým množstvím dalších cytogenetických aberací. U DHL je v translokaci s genem *MYC* mnohem vyšší zastoupení genů pro lehké imunoglobulinové řetězce a také neimunoglobulinových genů [10,16,19]. Podstatně nižší zastoupení *IGH* v translokaci s *MYC* u DHL ve srovnání s BL může souviset s tím, že přestavbě *MYC* obvykle předchází jiná přestavba, nejčastěji lokusu *BCL2* v translokaci t(14;18), v důsledku které je jedna alela *IGH* již přestavěna – „spotřebována“. Proto se následné translokace s *MYC* účastní geny ostatních imunoglobulinů [10,15]. Přitom není vyloučeno, že typ partnera v translokaci *MYC* může mít vliv na klinické chování onemocnění [16,19,20].

„Klasická“ varianta DHL – současná aberace *MYC* a *BCL2* – je nejčastější, představuje asi 2/3 všech případů DHL. Kombinace aberace *MYC* a *BCL6* je výrazně vzácnější, je detekována asi v 1/10 případů. Až 2násobně častější jsou THL (triple hit lymphoma) s kombinací aberací *MYC/BCL2/BCL6* [11,17]. Podle některých studií se zdá, že specifické kombinace aberantních genů jsou spojeny se specificky odlišnými fenotypy onemocnění. Tak např. studie 23 vzá-

nějších případů DHL, které nesou přestavbu genů *MYC* a *BCL6*, ukázala, že se jedná o typicky agresivní lymfomy, často s postižením extranodálních míst a často s GC fenotypem, ale oproti DHL s aberacemi *MYC/BCL2* jsou cytologicky méně komplexní a mohou mít odlišný imunofenotyp [21].

DHL typu MCL

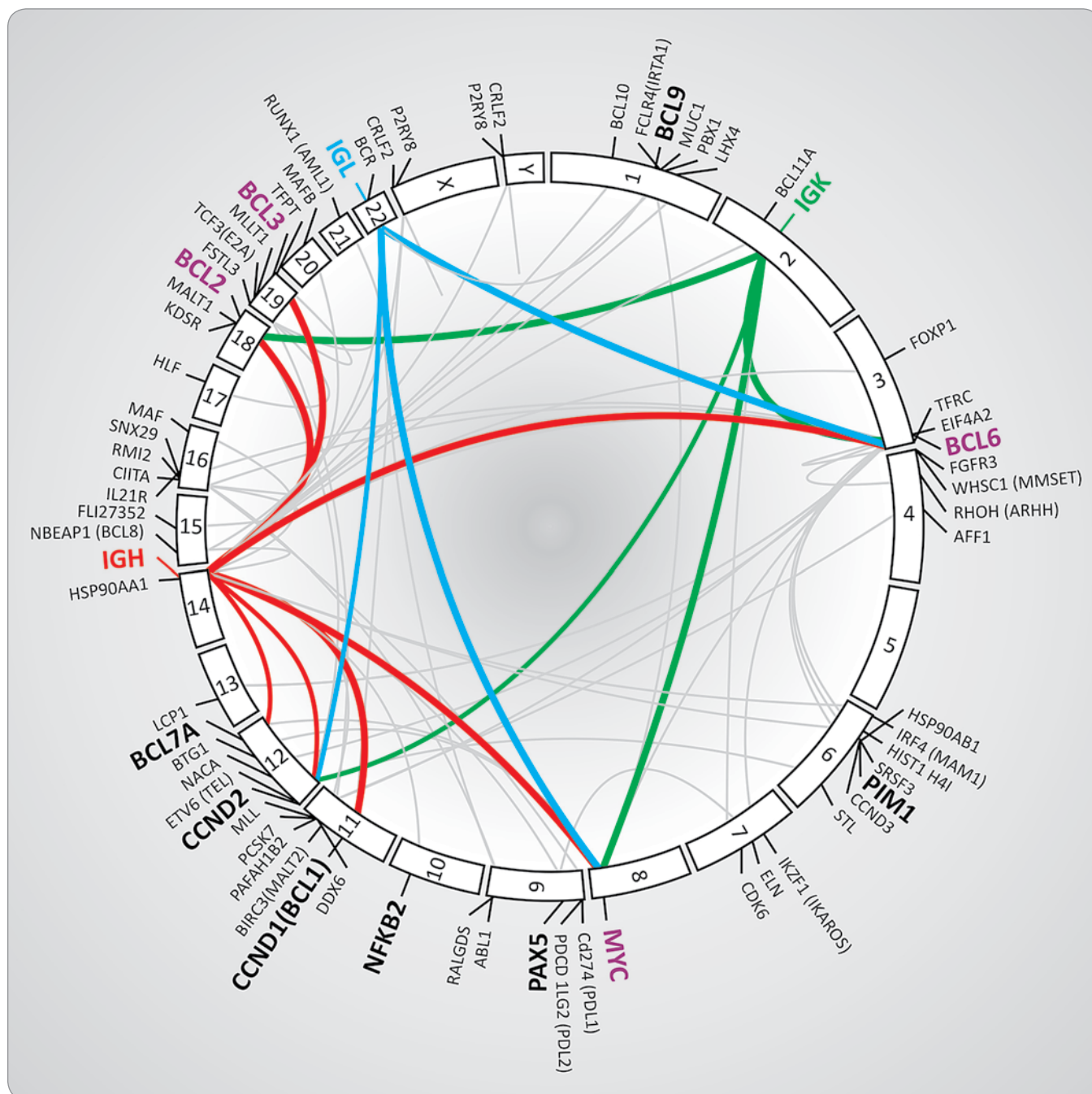
Svébytnou skupinu DHL tvoří lymfomy zahrnující přestavbu *CCND1*. Představují asi 10 % všech případů DHL [11]. Translokace t(11;14), která vede k přemístění genu *CCND1* pod regulační sekvenční genu *IGH* pro těžký imunoglobulinový řetězec a způsobí vysokou expresi cyklinu D1, je typickým molekulárním znakem MCL. Existují vzácné případy, kdy je namísto cyklinu D1 zvýšena exprese cyklinu D2 nebo D3 [22], a také případy, kdy je sice zvýšena hladina cyklinu D1, ale v důsledku jiné aberace než translokace t(11;14) [23]. Vysoká exprese cyklinu D1 (případně D2, D3) je považována za změnu, která iniciuje vývoj MCL, ale není změnou pro vývoj MCL dostačující. Účast sekundárních aberací je nezbytná. Až 5 % všech případů MCL nese vedle přestavby *CCND1* přestavbu *MYC* [11]. Nedávno byla publikována práce, která podrobně představila čtyři nové případy tohoto typu a shrnula data již dříve publikovaných 26 případů [24]. Podle této studie se vždy jednalo o pokročilé stadium (stage IV) onemocnění MCL, nejčastěji blastoidní nebo pleomorfni varianty. Pacienti, často navzdory agresivní terapii, zemřeli nejčastěji během prvních dvou let po stanovení diagnózy. Pokud šlo o typ aberace postihující gen *MYC*, méně častá byla amplifikace, častější (18/30) byly translokace. Z nich asi ve třetině případů byl gen *MYC* translokován s *IGH*, v další třetině s *IGL* nebo *IGK* a třetina případů nesla translokaci *MYC* s jiným než imunoglobulinovým genem [24]. Ačkoliv jsou DHL typu MCL samy o sobě poměrně vzácné, nejsou vyloučeny ani případy, které nesou kombinaci aberace *MYC* a vzácnějšího typu aberace „MCL typu“, jako je např. aberace t(11;22)(q13;q11.2) genu *CCND1* s *IGL* [25]. Tato přestavba genu pro cyklin D1 byla již dříve popsána u MCL, který nebyl DHL [23].

Podobně byl popsán případ DHL, který měl vedle „obvyklé“ translokace t(8;14) velice ojedinělou translokaci t(12;14)(q24;q32) zahrnující na chromozomu 12 pravděpodobně gen *BCL7A* [26]. Translokace zahrnující gen *BCL7A* byla již dříve zachycena v buněčné linii odvozené z BL [27]. Ačkoliv buněčná funkce proteinu *BCL7A* zůstává zatím neznámá, jeho spojení s vývojem lymfomů, především DLBCL, prokázáno bylo [28,29]. Navíc byl gen *BCL7A* detekován mezi geny, které patří k velice účinným substrátům aktivované cytidin deaminázy AID [30]. Na tomto příkladu je ovšem dobře patrná jistá bezbřehost současného používání označení lymfomů se dvěma zásahy. Bylo prokázáno, že genů, které se mohou stát cílem působení AID a zároveň mají onkogenní potenciál, jsou tucty (obr. 4) [6]. Otázkou pak je, které geny zasažené translokací, hypermutacemi a dalšími aberacemi – vedle t(8;14) či jiné aberace „obvyklé“ u lymfomů – naplňují ještě kritérium DHL.

Dynamika vývoje DHL

Za přestavbu genu *MYC* je nejčastěji zodpovědná AID během zrání lymfocytů v GC, zatímco přestavba *BCL2* a *CCND1* je obvykle zprostředkována RAG1 a RAG2 během V(D)J rekombinace v prekurzorových buňkách. To znamená, že vznik translokace t(14;18) předchází přestavbě genu *MYC*. Někdy bývá tento fakt i klinicky manifestován v podobě časově odlišitelných fází onemocnění, kdy je původně diagnostikovaný indolentní lymfom, nejčastěji FL, transformován na BCLU či obecně DHL [16,19,31–33].

Většina DHL lymfomů (asi 80 %) jsou *de novo* případy bez předchozí historie indolentního lymfomu. I v takovém případě ale může být časová souslednost vzniku cytogenetických aberací patrná. Tak tomu bylo např. u pacientky, které byl diagnostikován lymfom podobný BL v čelisti a rameni. V nádorových buňkách byla prokázána přítomnost translokace genu *BCL2* – t(14;18) – a amplifikace genu *MYC*. U téže pacientky byla v době diagnózy detekována infiltrace kostní dřeně, periferní krve a cerebrospinální tekutiny nádorovými buňkami, které morfologicky odpovídaly FL a nesly translokaci t(14;18), zatímco amplifikace



Obr. 4. Chromozomální translokace vyskytující se u B lymfomů. Kruhový diagram znázorňuje lidský genom s vyznačenými geny, které se účastní chromozomálních přestaveb u malignit odvozených z B buněk. Oblouky uvnitř diagramu spojují partnerské geny, které se v přestavbách vyskytují. Barevně jsou zvýrazněny geny a přestavby zmíněné v textu. Převzato a upraveno dle [6].

genu *c-MYC* u nich nalezena nebyla [34]. Dynamika procesu vývoje DHL se může vzácně manifestovat také ve struktuře nádorové tkáně. Byl popsán DHL, v jehož tkáni se vyskytovala ohniska BL spojeného s translokací *MYC* na pozadí FL. Zatímco translokace $t(14;18)$ byla přítomna ve všech oblastech nádorové tkáně, translokace genu *MYC* byla de-

tekována pouze v ohniscích BL [33]. Podobně heterologní struktura nádorové tkáně byla popsána také u případu DHL typu MCL. Lymfatická uzlina, v níž byly zřetelné oblasti nádorové tkáně s obvyklým typem MCL, byla difúzně infiltrovaná tkání morfologicky a imunofenotypicky odpovídající BL včetně toho, že v těchto úsecích nádoru, na rozdíl od

původní MCL tkáně, bylo možné metodou FISH detekovat přestavbu genu *MYC*. Translokace $t(11;14)$ byla přítomna ve všech nádorových buňkách [35].

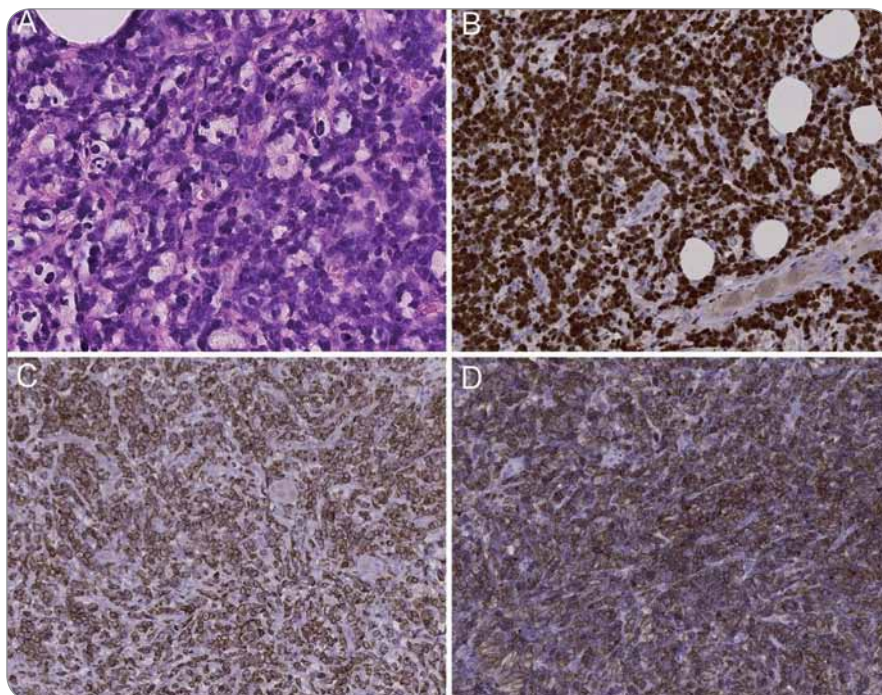
U DHL, které nesou aberace genu *MYC* spolu s aberacemi *BCL6*, *BCL3* a dalších genů, je o dynamice jejich vývoje známo mnohem méně. O těchto genech se předpokládá, že jejich aberace

jsou zprostředkovány stejným mechanismem – aktivací indukovanou cytidin deaminázou – a tak je mnohem těžší předjímat, v jakém pořadí vznikají a jak se navzájem ovlivňují [11].

Kazuistika

U muže ve věku 53 let byla v srpnu 2012 na Chirurgickém oddělení Městské nemocnice v Hustopečích provedena probatorní biopsie infiltrátu mezenteria při explorativní laparotomii. Materiál byl s klinickou diagnózou Sarkoma radialis mesenterii inoper. generalisatum odeslán do Biopstické a cytologické laboratoře MDgK-plus spol. s r. o. Újezd u Brna, kde byl stanoven předběžný závěr, že se jedná o lymfom. Materiál byl v září 2012 odeslán ke druhému čtení a další analýze do Ústavu patologie FN Brno-Bohunice.

Nádor měl některé morfologické a imunofenotypické znaky jak Burkittova lymfomu, tak difúzního velkobuněčného B lymfomu. Byl tvořen mírně polymorfní populací středně velkých a velkých buněk převážně centroblastického vzhledu, úsekovitě je naznačen obraz hvězdnoho nebe (A); nádorové buňky vykazují proliferační aktivitu 90–100 % dle Ki67 (B), difúzní silnou pozitivitu BCL-2 (C) a CD79a (D).

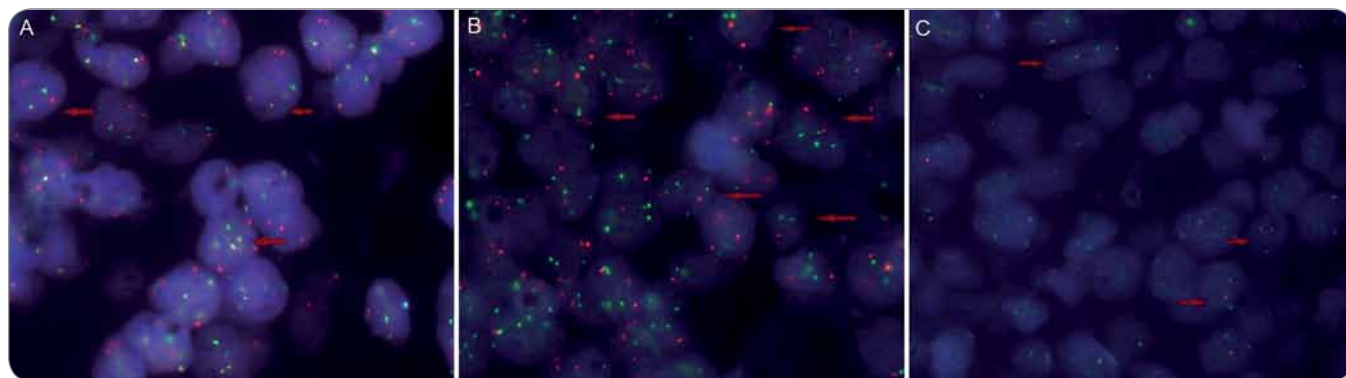


Obr. 5. Nádorová tkáň prezentovaného případu vykazuje morfologické a imunofenotypické znaky jak Burkittova lymfomu, tak difúzního velkobuněčného B lymfomu. Je tvořena mírně polymorfní populací středně velkých a velkých buněk převážně centroblastického vzhledu, úsekovitě je naznačen obraz hvězdnoho nebe (A); nádorové buňky vykazují proliferační aktivitu 90–100 % dle Ki67 (B), difúzní silnou pozitivitu BCL-2 (C) a CD79a (D).

sifikovatelný s rysy mezi DLBCL a BL, s tím, že je nutné zvážit možnost, zda se nejedná o **lymfom se dvěma zásahy**. Následovaly proto molekulárně biologické analýzy, jejichž cílem bylo vyšetřit aberace genů *BCL2* a *MYC*.

Byla provedena fluorescenční hybridizace *in situ* (FISH), detekující translokaci *t(14;18)* s využitím dvoubarevné fúzní sondy *IgH/BCL2* (Vysis – ABBOTT). Výsledek byl jednoznačně pozitivní,

translokace byla detekována v 77 % vyšetřených buněčných jader (obr. 6). Dále byla provedena FISH využívající dvoubarevnou fúzní sondu *IgH/MYC* (Vysis – ABBOTT) detekující translokaci *t(8;14)*. Výsledek byl negativní, fúzní signál byl zaznamenán pouze u 1 % vyšetřených jader. Proto byla následně provedena další analýza, využívající zlomovou sondu (break-apart rearrangement probe), která detekuje přestavbu



Obr. 6. Fluorescenční hybridizace *in situ*. Translokace *t(14;18)* byla detekována využitím dvoubarevné fúzní sondy *IgH/BCL2* v 77 % vyšetřených buněčných jader (A); translokace *t(8;14)* byla pomocí fúzní sondy *IgH/MYC* nalezena jen u 1 % jader; přestavba genu *MYC* – lokusu 8q24 – byla detekována využitím zlomové sondy ve 28 % jader (C).

genu *MYC* – lokusu 8q24, aniž by identifikovala partnerský gen, který se translokace účastní. Výsledek byl pozitivní, představbu obsahovalo 28 % jader (obr. 6). Výsledky analýz FISH jednoznačně potvrdily, že se jedná o lymfom se dvěma zásahy, který nese translokaci genu *BCL2* i translokaci genu *MYC*.

Průběh nemoci poukazoval na to, že lymfom je chemorezistentní. Navzdory intenzivní chemoterapii (R-CODOX-M) onemocnění progredovalo a pacient zemřel v lednu 2013.

Diskuze

Prezentovaný případ patří k nejtypičtější formě lymfomu se dvěma zásahy – nese translokaci genu *BCL2* a genu *MYC*. Translokace *BCL2* byla prokázána u 77 % nádorových buněk, zatímco translokace *MYC* se vyskytovala u výrazně nižšího podílu nádorových buněk – 28 %. Ačkoliv morfologicky či fenotypicky nádorová tkáň nejevila známky heterologní struktury, výsledky FISH naznačují možnost, že translokace *BCL2* byla ve vývoji tohoto lymfomu změnou primární, po které následovala jako sekundární změna translokace genu *MYC*. Taková možnost je v naprostém souladu jak s literárními prameny, tak se současnou představou o vývoji DHL typu *BCL2/MYC* [16,19,31–34]. Podobně je v souladu se současnými poznatky fakt, že gen *MYC* není translokován s lokusem genu *IGH* pro těžký imunoglobulin μ , ale buď s genem *IGK* pro lehký imunoglobulinový řetězec κ , *IGL* pro lehký imunoglobulinový řetězec λ nebo s neimunoglobulinovým genem [10,16,19]. Typické znaky DHL naplnil náš případ také svou morfologií a imunofenotypem, kdy měl znaky na rozhraní Burkittova lymfomu a difuzního velkobuněčného B lymfomu, a také průběhem onemocnění – chemorezistencí a krátkým celkovým přežitím.

Závěr

Pomocí metody FISH jsme jednoznačně potvrdili navrženou diagnózu – lymfom se dvěma zásahy – a prokázali souběžnou představbu antiapoptotického genu *BCL2* a genu *MYC*, který kóduje induktor proliferace. Metoda FISH či jiná cytogenetická analýza je v diagnostice DHL na-

prосто nezastupitelná, bez těchto analýz nelze DHL jednoznačně diagnostikovat. Zdá se, že v současnosti představují DHL spíše podhodnocenou kategorii lymfomů, protože bez cílené detekce aberrací klíčových genů, především *MYC*, *BCL2*, *BCL6*, *BCL3* a *CCND1*, zůstávají DHL často nerozpoznány.

Přesná diagnóza DHL je důležitá. DHL jsou velmi agresivní lymfomy, rezistentní ke standardní terapii, s vysokým rizikem brzkého relapsu a krátkým celkovým přežitím, s častým postižením extranodálních míst a centrální nervové soustavy. Velkou výzvou v oblasti DHL zůstává na-
lezení účinné terapie [11,12,18,31,36].

Double-Hit Lymphoma $\approx$ Double-Edged Sword!

Unikátní mechanismy somatických hypermutací a izotypového přepnutí imunoglobulinů během vyzrání B lymfocytů představují na jedné straně život umožňující zdroj širokého spektra protilátek, na straně druhé život ohrožující riziko v podobě možnosti vývoje B lymfomů. B buňky platí vysokou cenu za to, že mohou využívat AID a tvořit dvouřetězcové zlomy – asi 95 % všech lidských lymfomů je odvozeno od B buněk. Výhody ale převažují. Efektivní ochrana proti patogenním infekcím je pro přežití druhu mnohem kritičtější než perfektní ochrana proti pomalé akumulaci genomové nestability, která u některých jedinců vede k vývoji nádoru [7].

Literatura

- Krejsek J, Kopecký O. B lymfocyty a protilátková imunita. In: Krejsek J, Kopecký O (eds). Klinická imunologie. 1. vyd. NUCLEUS HK 2004: 241–270.
- Nagasawa T. Microenvironmental niches in the bone marrow required for B-cell development. *Nat Rev Immunol* 2006; 6(2): 107–116.
- Jares P, Colomer D, Campo E. Genetic and molecular pathogenesis of mantle cell lymphoma: perspectives for new targeted therapeutics. *Nat Rev Cancer* 2007; 7(10): 750–762.
- Klein U, Dalla-Favera R. Germinal centres: role in B-cell physiology and malignancy. *Nat Rev Immunol* 2008; 8(1): 22–33.
- Di Noia JM, Neuberger MS. Molecular mechanisms of antibody somatic hypermutation. *Annu Rev Biochem* 2007; 76: 1–22.
- Robbiani DF, Nussenzweig MC. Chromosome translocation, B cell lymphoma, and activated-induced cytidine deaminase. *Annu Rev Pathol* 2013; 8: 79–103.
- Wang JH. The role of activation-induced deaminase in antibody diversification and genomic instability. *Immunol Res* 2013; 55(1–3): 287–297.

- Keim C, Kazadi D, Rothschild G et al. Regulation of AID, the B-cell genome mutator. *Genes Dev* 2013; 27(1): 1–17.
- Vega F, Medeiros LJ. Chromosomal translocations involved in non-Hodgkin lymphomas. *Arch Pathol Lab Med* 2003; 127(9): 1148–1160.
- Tomita N, Tokunaka M, Nakamura N et al. Clinicopathological features of lymphoma/leukemia patients carrying both *BCL2* and *MYC* translocations. *Haematologica* 2009; 94(7): 935–943.
- Aukema SM, Siebert R, Schuurin E et al. Double-hit B-cell lymphomas. *Blood* 2011; 117(8): 2319–2331.
- Lindsley RC, LaCasce AS. Biology of double-hit B-cell lymphomas. *Curr Opin Hematol* 2012; 19(4): 299–304.
- Salaverria I, Siebert R. The gray zone between Burkitt's lymphoma and diffuse large B-cell lymphoma from genetics perspective. *J Clin Oncol* 2011; 29(14): 1835–1843.
- Kluin P, Harris N, Stein H et al. B-cell lymphoma, unclassifiable, with features intermediate between diffuse large B-cell lymphoma and Burkitt's lymphoma. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL (eds). WHO, Classification of tumors of haematopoietic, lymphoid tissues. 4th ed. Lyon: IARC Press 2008: 265–266.
- Foot NJ, Dunn RG, Geoghegan H et al. Fluorescence in situ hybridisation analysis of formalin-fixed paraffin-embedded tissue sections in the diagnostic work-up of non-Burkitt high grade B-cell non-Hodgkin's lymphoma: a single centre's experience. *J Clin Pathol* 2011; 64(9): 802–808.
- Pedersen MO, Gang AO, Poulsen TS et al. Double-hit *BCL2/MYC* translocations in a consecutive cohort of patients with large B-cell lymphoma – a single centre's experience. *Eur J Haematol* 2012; 89(1): 63–71.
- Barrans S, Crouch S, Smith A et al. Rearrangement of *MYC* is associated with poor prognosis in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated in the era of rituximab. *J Clin Oncol* 2010; 28(20): 3360–3365.
- Kobayashi T, Tsutsumi Y, Sakamoto N et al. Double-hit lymphomas constitute a highly aggressive subgroup in diffuse large B-cell lymphomas in the era of rituximab. *Jpn J Clin Oncol* 2012; 42(11): 1035–1042.
- Johnson NA, Savage KJ, Ludkovski O et al. Lymphomas with concurrent *BCL2* and *MYC* translocations: the critical factors associated with survival. *Blood* 2009; 114(11): 2273–2279.
- Hummel M, Bentink S, Berger H et al. A biological definition of Burkitt's lymphoma from transcriptional and genomic profiling. *N Engl J Med* 2006; 354(23): 2419–2430.
- Pillai RK, Sathanoori M, Van Oss SB et al. Double-hit B-cell lymphomas with *BCL6* and *MYC* translocations are aggressive, frequently extranodal lymphomas distinct from *BCL2* double-hit lymphomas. *Am J Surg Pathol* 2013; 37(3): 323–332.
- Salaverria I, Royo C, Carvajal-Cuenca A et al. *CCND2* rearrangements are the most frequent genetic events in cyclin D1–mantle cell lymphoma. *Blood* 2013; 121(8): 1394–1402.
- Rocha CK, Praulich I, Gehrke I et al. A rare case of t(11;22) in a mantle cell lymphoma like B-cell neoplasia resulting in a fusion of *IGL* and *CCND1*: case report. *Mol Cytogenet* 2011; 4(1): 8–12.
- Setoodeh R, Schwartz S, Papenhausen P et al. Double-hit mantle cell lymphoma with *MYC* gene rearrangement or amplification: a report of four cases and review of the literature. *Int J Clin Exp Pathol* 2013; 6(2): 155–167.
- Delas A, Dobbelsstein S, Brousset P et al. Unusual concomitant rearrangements of Cyclin D1 and *MYC* genes in blastoid variant of mantle cell lymphoma: Case report and review of literature. *Pathol Res Pract* 2013; 209(2): 115–119.

26. Yamazaki T, Ohno H. Double-hit lymphoma with t(8;14)(q24;q32) and t(12;14)(q24;q32) chromosomal translocations. *Intern Med* 2011; 50(21): 2659–2662.
27. Nacheva E, Fischer P, Karpas A et al. Complex translocation t(8;12;14) in a cell line derived from a child with nonendemic Burkitt-type acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 1987; 28(1): 145–153.
28. Blenk S, Engelmann J, Weniger M et al. Germinal center B cell-like (GCB) and activated B-cell-like (ABC) type of diffuse large B cell lymphoma (DLBCL): analysis of molecular predictors, signatures, cell cycle state and patient survival. *Cancer Informatics* 2007; 3: 399–420.
29. Morton LM, Purdue MP, Zheng T et al. Risk of non-Hodgkin lymphoma associated with germline variation in genes that regulate the cell cycle, apoptosis, and lymphocyte development. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18(4): 1259–1270.
30. Kato L, Begum NA, Burroughs AM et al. Nonimmunoglobulin target loci of activation-induced cytidine deaminase (AID) share unique features with immunoglobulin genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012; 109(7): 2479–2484.
31. Parker SM, Olteanu H, VanTuinen P et al. Follicular lymphoma transformation to dual translocated Burkitt-like lymphoma: improved disease control associated with radiation therapy. *In J Haematol* 2009; 90(5): 616–622.
32. Xu X, Zhang L, Wang Y et al. Double-hit and triple-hit lymphomas arising from follicular lymphoma following acquisition of MYC: report of two cases and literature review. *Int J Clin Exp Pathol* 2013; 6(4): 788–794.
33. Hwang YY, Loong F, Chung LP et al. Atypical Burkitt's lymphoma transforming from follicular lymphoma. *Diagn Pathol* 2011; 6: 63–69.
34. Kobayashi H, Ichikawa M, Hangaishi A et al. Concurrent development of the „Burkitt-like” lymphoma and BCL-2-rearranged low-grade B cell lymphoma sharing the same germinal center origin. *Int J Hematol* 2011; 93(1): 112–117.
35. Felten CL, Stephenson CF, Ortiz RO et al. Burkitt transformation of mantle cell lymphoma. *Leuk Lymph* 2004; 45(10): 2143–2147.
36. Friedberg JW. Double-hit diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 2012; 30(28): 3439–3443.
37. LeBien TW, Tedder TF. B lymphocytes: how they develop and function. *Blood* 2008; 112(5): 1570–1580.

Interakcia medzi p53 a MDM2 v nádorových bunkách karcinómu pľúc

Interaction between p53 and MDM2 in Human Lung Cancer Cells

Rybárová S.¹, Hodorová I.¹, Vecanová J.¹, Muri J.², Mihalik J.¹

¹ Ústav anatómie, LF UPJŠ, Košice, Slovenská republika

² Národný ústav tuberkulózy, pľúcnych chorôb a hrudníkovej chirurgie, Vyšné Hágy, Slovenská Republika

Súhrn

Východiská: Odpoveďou onkoproteínu p53 na poškodenie DNA je indukcia zastavenia bunkového delenia (apoptózy). Mutácia génu *TP53* (gén, ktorý kóduje proteín p53) je veľmi častá v humánných malignitách a mení pôsobenie proteínu p53. Výsledkom je stabilná forma p53, ktorá sa hromadí v jadrách nádorových buniek súčasne so stratou jeho funkcie. Mutovaná p53 je stabilizovaná a ľahko imunohistochemicky (IHC) detegovateľná. Hladina p53 je v zdravých bunkách výrazne determinovaná proteínom MDM2 (murine double minute-2). Tento spolupôsobí pri degradácii proteínu p53, a zároveň ho považujeme za potenciálny marker funkčnosti p53. Nadexpresia proteínu MDM2 predstavuje mechanizmus, ktorý môže počas tumorigenézy rušiť funkciu p53. **Súbor a metódy:** Stotridsaťšesť vzoriek karcinómu pľúc sme získali od pacientov, ktorí podstúpili radikálnu resekciu (lobektómiu alebo pulmonektómiu a lymfadenektómiu). Patologická diagnóza bola stanovená na základe WHO kritérií. V našej štúdii sme sledovali expresiu proteínu p53 a proteínu MDM2, ktorý môže slúžiť ako IHC marker pre p53 status. Oba proteíny sme imunohistochemicky detegovali. Stanovili sme ich expresiu, ďalej sme porovnali ich výskyt s klinicko-patologickými parametrami. **Výsledky:** Vo vzorkách p53 a MDM2 pozitívnych sme pozorovali silne tmavohnedo sfarbené jadrá nádorových buniek. Väčšina p53 pozitívnych vzoriek predstavovala *skvamocelulárny typ* (55 %), nasledovali vzorky *veľkobunkového typu* (53 %) a 26 % p53 pozitívnych vzoriek predstavoval *adenokarcinóm*. Ani jedna vzorka z *iných typov* neexprimovala p53. Ďalej sme porovnali výskyt p53 a stupeň malignity nádoru (grade). Zistili sme, že expresia p53 stúpa so stupňom malignity nádoru. Na štatistické vyhodnotenie sme použili chi-kvadrátový test, ktorým sme dokázali štatistickú významnosť medzi expresiou p53 na jednej strane, a typom nádoru a stupňom malignity na strane druhej ($p = 0,000425$; $p = 0,00157$). S ohľadom na expresiu p53 a MDM2 sme zistili nasledovné: len deväť vzoriek bolo simultánne p53 a MDM2 pozitívnych. V 46 prípadoch (34 %) zvýšená hladina p53 bola kombinovaná s MDM2 negativitou. Ostatné vzorky boli buď negatívne na oba proteíny (71/52 %), alebo p53 negatívne a MDM2 pozitívne v počte 10/7 %. **Záver:** Vo väčšine štúdií je absencia p53 imunoreaktivity dávaná do súvisu s absenciou p53 mutácií. Platí to aj naopak, a síce, pozitívna expresia p53 je považovaná za znak mutácie p53, ktorý súvisí so stratou funkcie. V našej štúdii 34 % prípadov vykazovalo vysokú hladinu p53 bez expresie MDM2. Tieto nádory považujeme za tumory s inaktivujúcimi mutáciami, ktoré stabilizujú proteín p53. Na druhej strane nádory, ktoré exprimujú vysoké hladiny stabilnej p53 a sú súčasne pozitívne na MDM2 (v našom prípade 9 vzoriek/7 %) predstavujú skupinu s funkčnou p53. U tejto skupiny pacientov by sme mohli očakávať lepšiu prognózu.

Kľúčové slová

onkoproteín p53 – MDM2 proteín – karcinóm pľúc – imunohistochemia

Táto práca vznikla vďaka finančnej podpore grantovej agentúry ministerstva školstva Slovenskej republiky VEGA: 1/0224/12; 1/0925/11; 1/0928/11.

This work was supported by the Grant Agency of the Ministry of Education of the Slovak Republic VEGA: 1/0224/12; 1/0925/11; 1/0928/11.

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

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

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

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



doc. MVDr. Silvia Rybárová, Ph.D.
Lekárska fakulta
Univerzita P. J. Šafárika v Košiciach
Ústav anatómie
Šrobárova 2
040 11 Košice
Slovenská republika
e-mail: silvia.rybarova@upjs.sk

Obdrženo/Submitted: 13. 6. 2013
Přijato/Accepted: 23. 7. 2013

Summary

Background: The oncoprotein p53 protein induces cell growth arrest (apoptosis) in response to endo- or exogenous stimuli. Mutation of *TP53* (gene encoding the p53 protein) is common in human malignancies and alters the conformation of p53. The result is a more stable protein which accumulates in nuclei of tumor cells with loss of function. Mutant p53 is stabilized, and it is possible to detect this form very clearly by immunohistochemistry (IHC). Expression of the MDM2 protein is used as a potential marker of p53 function. P53 levels in normal cells are highly determined by the MDM2 protein (murine double minute-2) – mediated degradation of p53. MDM2 overexpression represents at least one mechanism by which p53 function can be abrogated during tumorigenesis. **Material and Methods:** Lung carcinoma samples were obtained from patients, who underwent radical resection (lobectomy or pneumonectomy and lymphadenectomy). Pathological diagnosis was based on the WHO criteria. In our study, we investigated the expression of p53 and MDM2 protein that might improve IHC as a marker for p53 status. Proteins were IHC detected in 136 samples of primary lung carcinoma. Immunostaining results of p53 positive samples were compared to IHC expression of MDM2 positive and MDM2 negative samples. **Results:** Strong brown nuclear staining was visible in p53 and MDM2 positive cells. The most p53 positive cases were samples of *squamous carcinoma* (55%), then samples of *large cell carcinoma* (53%) and 26% *adenocarcinoma* samples showed the p53 immunoreactivity. No one sample of *different types* was p53 positive. When we compared the p53 expression and grade of tumor, we found that the p53 expression increased with the grade of tumor. For statistical evaluation, the chi-square test was used. The relationship between p53 expression and type of tumor, also the p53 expression and grade of tumor was statistically significant ($p = 0.000425$; $p = 0.00157$). Regarding p53 and MDM2 expression, only nine samples (7%) were simultaneously p53 and MDM2 positive. In 46 (34%) cases, elevation of p53 was combined with MDM2 negative expression. Other tumor samples were either negative for both proteins (71/52%), or p53 negative and MDM2 positive in 10 (7%) tumor samples. **Conclusion:** Absence of p53 staining in most studies indicates absence of p53 mutation, and on the contrary, positive expression of p53 is a sign of p53 mutations with loss of function. In our study, 34% of cases with extensively high level of p53 without increased level of MDM2 were identified. We suppose that these are tumors with inactivating mutations that stabilize p53. On the other hand, tumors with high level of stabilized wild-type p53 protein and simultaneously with increased MDM2 staining (9 samples/7%) represent group with functional p53. In this group of patients, we could expect better prognosis with regard to function of p53 protein.

Key words

oncoprotein p53 – MDM2 protein – lung cancer – immunohistochemistry

Úvod

Proteín p53 je vysoko účinný inhibítor bunkového rastu, ktorý reguluje bunkový cyklus vo fáze G1-S. V podmienkach poškodenia DNA aktivuje mechanizmy, ktoré vedú k zastaveniu bunkového cyklu v niekoľkých fázach a ktoré následne vyústia do programovanej smrti buniek – apoptózy [1]. V podmienkach nádorového bujnenia je táto funkcia proteínu p53 pre jeho antionkogénny účinok mimoriadne dôležitá. Génom *p53* je *TP53* a jeho mutácie môžu viesť buď k zastaveniu produkcie p53, alebo k tvorbe nefunkčnej formy p53. Strata funkcie p53 je častokrát príčinou zvýšeného rizika vzniku nádorov a/alebo progresie nádorov, čo závisí od stupňa dysfunkcie p53. Gén *TP53* je jedným z najčastejšie mutovaných génov v ľudských nádoroch. Okolo 50 % nádorov človeka vykazuje jeho mutáciu. Avšak stupeň poškodenia, resp. strata funkcie mutovanej p53, závisí na type mutácie. Zárodočnou mutáciou v géne *TP53* vzniká Li-Fraumeni syndróm, ktorý je charakteristický vysokou predispozíciou vzniku rôznych typov nádorov v detskom aj dospelom veku [2]. Na základe tohto odporúčajú autori Foretová

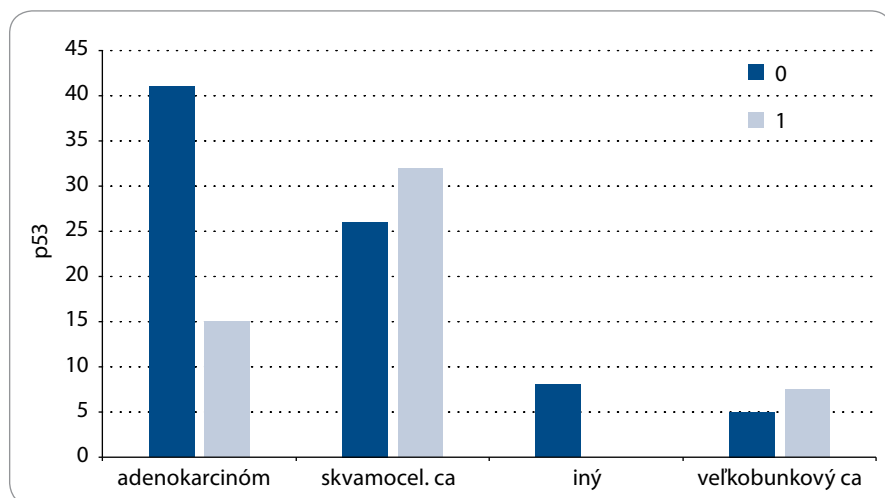
et al [3] zaistiť včasnú diagnostiku nositeľov danej mutácie na nádorové ochorenia, čím sa dosiahne celkové zlepšenie prežívania osôb so spomínaným syndrómom.

Abnormality v géne *TP53* sú veľmi časté u nádorov pľúc a obvyčajne sú to bodové mutácie. Mutácie vznikajú veľmi často následkom expozície na environmentálne karcinogény, napr. v prípade karcinómu pľúc je to cigaretový dym [4]. Bolo zistené, že abnormality génu *TP53* zhoršujú prognózu u pacientov s adenokarcinómom pľúc v štádiu I [5]. Mutovaný proteín p53 má oveľa dlhšiu životnosť ako wild-type p53, čo vyúsťuje do vysokých hladín proteínu v nádorových bunkách. Pomocou imunohistochemie sa potom deteguje vysoká expresia tejto nefunkčnej formy proteínu p53.

Jednou z najdôležitejších zložiek de-gradačnej dráhy proteínu p53 je proteín MDM2 (murine double minute-2). Má mnoho biologických funkcií. Jeho hlavnou úlohou je priama interakcia s proteínom p53 a inhibícia jeho aktivity. Okrem toho má MDM2 množstvo p53 nezávislých účinkov [6]. Rast nádoru závisí aj od krvného zásobenia, nádoro-

vej strómy a tiež od imunosupresívneho nádorového prostredia, čo sú faktory, ktoré nie sú nevyhnutne späté a davané do kontextu s MDM2. Nedávno bolo v tejto súvislosti zistené, že MDM2 pôsobí ako kofaktor pre NF- κ B (transkripčný faktor). V bunkách s normálnou aktivitou NF- κ B indukuje MDM2 zvýšenú aktiváciu NF- κ B a bunkovú proliferáciu. Toto zistenie vedie k závažnej hypotéze, podľa ktorej sa zdá, že MDM2 je chýbajúcim článkom medzi zápalom a karcinogenezou [7]. MDM2 je teda dôležitým regulátorom NF- κ B, prirodzenej imunity a zápalového procesu a ich možného účinku na bunkovú biológiu nádoru, nádorovú terapiu, iné abnormálne hyperproliferatívne syndrómy, ako aj na hojenie rán. Na druhej strane v bunkách s vysokou aktivitou NF- κ B MDM2 potláča tento faktor a zvyšuje apoptózu [8].

V súvislosti s proteínom p53 slúži MDM2 ako jeho negatívny regulátor a tým limituje zastavenie bunkového cyklu a apoptózu. Bolo tiež zistené, že MDM2 participuje na degradácii proteínu p53 [5]. P53 a MDM2 sa navzájom veľmi silne regulujú, čo je v zdravých bunkách jav vysoko pozitívny. Aktivovaná p53 zvyšuje expresiu MDM2, čo



Graf 1. Porovnanie exprese p53 s typom nádoru. 1 = p53 pozitívna, 0 = p53 negatívna.

naopak vedie k jej degradácii [8–10]. Keďže blokáda MDM2 potláča rast nádorových buniek *in vitro* aj *in vivo*, je jeho inhibícia v súčasnosti pokladaná za jednu z možností protinádorovej terapie. Dôvodom je aj fakt, že MDM2 negatívne reguluje p53 hlavne cestou ubiquitínom sprostredkovanej degradácie, čím potláča koordináciu zastavenia bunkového cyklu (apoptózu) a podporuje prežívanie a rast buniek [4,5]. Množstvo nádorov exprimuje veľmi vysoké hladiny MDM2, čo vedie následne k potláčaniu antiapoptotického účinku wild-type p53 a k rastu nádoru [4,9]. Amplifikovaný proteín MDM2 môže byť tiež združený s nefunkčným a mutovaným proteínom p53 [4,9]. Celkovo môžeme povedať, že MDM2, či už sám o sebe alebo vo vzťahu s p53, pôsobí na nádorové bunky proliferatívne, podporuje rast nádoru a tvorbu metastáz.

Súbor a metódy

V tejto práci sme použili 136 vzoriek karcinómu pľúc, ktoré sme rozdelili podľa histologického typu nádoru nasledovne: 56 vzoriek – adenokarcinóm, 58 vzoriek – skvamocelulárny typ (epidermoidný), 13 – veľkobunkový typ a 9 – iné typy (malobunkový, neuroendokrinný, typický karcinoid, atypický karcinoid). Vzorky pochádzali od pacientov, ktorí nám poskytli informovaný súhlas. Pacienti podstúpili radikálnu resekciu (lobektómiu alebo pulmonektómiu) a lymfadenektómiu. Patologická diagnóza bola stanovená na základe kritérií WHO [11] a po-

kročilé štádiá boli hodnotené podľa TNM klasifikácie [12].

Vo vzorkách sme imunohistochemicky detegovali expresiu proteínov p53 a MDM2. Na detekciu p53 sme použili primárnu monoklonovú protilátku D07 – ready to use (BioGenex Lab. Inc.), na detekciu MDM2 primárnu monoklonovú protilátku MDM2 SPM14: sc-965 (Santa Cruz Biotechnology, Inc.), v riedení 1 : 50. Na detekciu naviazanej primárnej protilátky sme použili univerzálny detekčný kit (Universal detection kit LSAB+KIT/HRP, Dako). Tento obsahoval sekundárnu biotinylovanú protilátku (LINK) a streptavidín peroxidázu (LABEL). Ako chromogén sme použili DAB (diamínobenzidín). Jadrá buniek boli dofarbené hematoxylínom na modro. Správnosť použitej metodiky sme skontrolovali vynechaním primárnej protilátky a jej nahradením základným premývacím pufrom. Ostatné kroky ostali plne zachované. Výsledky boli vyhodnocované vo svetelnom mikroskope tromi nezávislými hodnotiteľmi. Expresiu proteínu sme určili semikvantitatívnou metódou a použili sme nasledovnú škálu od 0 do 3+: 0 % pozitívnych buniek = negatívny výsledok (–); 1–10 % = 1+; 11–90 % = 2+; 91–100 % = 3+. Za pozitívne vzorky sme považovali len tie, ktoré boli ohodnotené na 2+ a 3+, tj. percento pozitívnych buniek bolo nad 10 %. Vzorky, ktoré boli hodnotené na (–) a 1+ sme považovali za negatívne, keďže pozitivita bola pod 10 %. Na štatistické vyhodnotenie výsledkov

Tab. 1. Tabuľka uvádza štatisticky významný vzťah medzi expresiou p53 a typom nádoru, medzi p53 a stupňom malignity nádoru (grade) ($p < 0,01$). Vzťah medzi p53 a štádiom ochorenia (TNM) nebol štatisticky významný.

	p53	MDM2
typ	0,000425 $p < 0,01$	0,365
fázy	0,25347	0,298
stupeň	0,00157 $p < 0,01$	0,215

sme použili chi-kvadrátový test. Hodnoty $p < 0,01$ a $p < 0,05$ boli štatisticky významné.

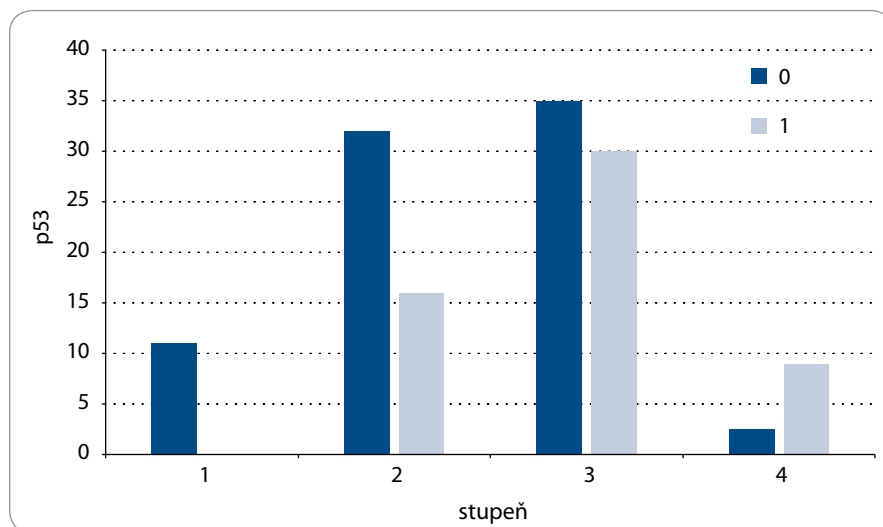
Výsledky

Výsledky sme kvalitatívne aj semikvantitatívne vyhodnocovali vo svetelnom mikroskope. Vzorky, ktoré vykazovali p53 a MDM2 pozitivitu mali v dôsledku použitia chromogénu diamínobenzidínu tmavohnedo sfarbené nádorové bunky, resp. ich jadrá. Výsledky imunoreakcie p53 a MDM2 sme porovnali s klinicko-patologickými údajmi, a to s histologickým typom nádoru, s TNM štádiom ochorenia (stage) a so stupňom malignity nádoru (grade).

P53

V jednotlivých morfológických diagnózach vyzerala expresia proteínu p53 nasledovne – najväčší počet vzoriek, ktoré vykazovali prítomnosť p53 boli vzorky skvamocelulárneho karcinómu (55 %), nasledoval veľkobunkový karcinóm (53 %) a adenokarcinóm (26 %). Ani jedna vzorka – iný typ, neexprimovala p53 (graf 1). Použitím chi-kvadrátového testu sme zistili, že vzťah medzi expresiou p53 a typom nádoru je štatisticky významný ($p = 0,000425$, $p < 0,01$) (tab. 1).

Pri porovnávaní exprese p53 a stupňa malignity (grade G) sme detegovali stúpajúcu expresiu p53 so stúpajúcim gradom. Kým v G1 ani jedna vzorka nevykazovala prítomnosť p53 – 0 %, v G2 to bolo 33 % vzoriek, v G3 – 46 % a nako-



Graf 2. Porovnanie exprese p53 so stupňom malignity 1–4. 1 = p53 pozitívna, 0 = p53 negatívna.

nec v G4 až 75 % vzoriek (graf 2). Táto závislosť bola aj štatisticky významná, nakoľko $p = 0,00157$ ($p < 0,01$) (tab. 1).

Vyhodnotenie p53 vo vzťahu k štádiu ochorenia bolo nasledovné – v štádiu TNM I exprimovalo p53 42 % vzoriek, v štádiu TNM II 55 % a v štádiu TNM III 23 % vzoriek. V tomto prípade sme však štatistickú významnosť nezistili.

MDM2

Celkovo sme detegovali veľmi nízke hladiny proteínu MDM2 či už vo vzťahu k typu nádoru, štádiu ochorenia alebo k stupňu malignity nádoru. Z celkového počtu 136 vzoriek len 19 exprimovalo daný proteín, z čoho bolo šesť vzoriek adenokarcinómu (9,3 %), 11 bolo skvamocelulárneho typu (5,3 %) a dve vzorky predstavovali veľkobunkový typ (6,5 %). Všetky percentuálne údaje sa týkali konkrétnej morfolologickej diagnózy.

Štatistickú významnosť medzi expresiou MDM2 a sledovanými, vyššie spomínanými parametrami ochorenia sme nezistili.

P53 a MDM2

Funkčnosť imunohistochemicky exprimovaného proteínu p53 môžeme s veľkou pravdepodobnosťou dokázať súčasne s expresiou MDM2. Väčšina vzoriek vykazovala negatívitu oboch proteínov. Bolo to 71 vzoriek (52 %). Malé percento vzoriek bolo p53 negatívnych a MDM2 pozitívnych (10/7 %). Zvýšenú

hladinu p53 v kombinácii s MDM2 negatívnou sme zistili v 46 vzorkách, čo predstavuje 34 %. Len deväť vzoriek bolo simultánne pozitívnych na p53 aj MDM2, čo predstavovalo 7 % všetkých skúmaných vzoriek. Z nich dve vzorky z 56 predstavovali adenokarcinóm, päť z 58 skvamocelulárny typ a dve z 13 veľkobunkový karcinóm. Výlučne p53 pozitívnych vzoriek bolo 48 (19 %) všetkých sledovaných vzoriek (136).

Diskusia

Použitím imunohistochemie na detekciu samotného proteínu p53 sme schopní určiť jeho zvýšenú expresiu v nádorových bunkách. Predpokladáme, že je to jeho nefunkčná forma. V našej práci sme sa snažili zistiť expresiu skutočnej formy proteínu p53 vo vzorkách karcinómu pľúc. Predpokladáme teda, že nádory, ktoré exprimujú vysoké hladiny tohoto proteínu, budú p53 inaktívne. Na druhej strane ale, vzorky bez imunoexpresie p53 by mali obsahovať funkčnú formu proteínu. Ak chceme rozlíšiť či zvýšená expresia proteínu p53 vznikla ako následok stabilizujúcej mutácie génu alebo je dôsledkom funkčného génu p53, ktorý bol stabilizovaný určitou formou bunkového stresu, na to nám posluží dôkaz exprese proteínu MDM2. Ak nájdeme zvýšenú expresiu p53 bez exprese MDM2 pôjde s najväčšou pravdepodobnosťou o mutovanú formu génu, čoho výsledkom je nefunkčný proteín p53.

Ak však pri zvýšenej expresii p53 zistíme súčasne aj zvýšenú prítomnosť MDM2, v takomto prípade pôjde zrejme o funkčnú variantu p53 – wild-type p53 (Wtp53). Z tohto dôvodu sme teda svoju pozornosť upriamili na vzorky p53 pozitívne a v nich sme dôsledne sledovali aj prítomnosť MDM2.

V našom súbore, ktorý predstavoval 136 vzoriek, 46 vzoriek bolo p53 pozitívnych. Pri ich ďalšom dofarbení na MDM2 sme zistili, že len deväť vzoriek bolo súčasne pozitívnych aj na proteín MDM2. U týchto vzoriek predpokladáme, že exprimujú funkčnú variantu p53 (wild-type p53), a zároveň u týchto pacientov by mala byť prognóza z hľadiska exprese proteínu p53 priaznivejšia.

Mutácie p53 sú v bunkových líniiach nemalobunkového karcinómu pľúc (non-small cell lung cancer – NSCLC) veľmi časté [13] a vedú k zvýšenej rezistencii na cisplatinu [14–17], cyklofosfamid [15], 5-FU [14], etopozid [14–16], kamptotecín [17], metotrexát [14], antracyklíny [14], bleomycín [14], a rádiáciu [13]. Schopnosť indukovať rezistenciu na chemoterapiu a rádiáciu varíruje s typom p53 mutácie. Naopak, vpravenie Wtp53 do bunkových línii s mutovanou p53 zvráti rezistenciu [14,17]. Transfekcia Wtp53 do NSCLC bunkových línii, ktoré neobsahujú p53, zvyšuje senzitivitu na platínu, 5-FU, doxorubicín, irinotekan a etopozid [18,19] a vedie k bunkovej senescencii [19,20]. Transfekcia p73 (homológ p53) do Wtp53 a p53 negatívnych NSCLC bunkových línii tiež zvyšuje cisplatinou indukovanú apoptózu [21], a efektívnosť účinku cisplatinu a žiarenia koreluje s expresiou MDM2 proteínu [22]. Taxány môžu interagovať s p53 trochu odlišne ako iné agensy. Vpravenie Wtp53 do p53 negatívnych buniek zvyšuje senzitivitu na taxány [18], podľa iných zvyšuje rezistenciu na taxány [23]. Vpravenie Wtp53 do iných bunkových línii znižuje senzitivitu na taxány [20] a mutovaná forma p53 (Mtp53) v iných štúdiách nemá vplyv na taxánovú rezistenciu [14,24]. Nemalobunkové karcinómy pľúc exprimujú mutácie p53 v 40–90 % [15]. To, že nádory, ktoré sú imunohistochemicky p53 pozitívne sú nositeľmi Mtp53 platí asi na 70 % [15,25].

V klinických štúdiách NSCLC mala expresia MTP53 u pacientov liečených na báze platiny súvislosť so zníženou odpoveďou na liečbu a skrátením celkovej doby prežívania [25,26]. U tejto skupiny pacientov ale MTP53 nebolo výrazne asociované s odpoveďou na liečbu taxánmi bez platiny. U pacientov, ktorí ex-primovali p53 a boli liečení platinovými derivátmi v kombinácii s celým radom cytostík (vinka alkaloidy, taxány, etopozid, 5-FU,...) bola tendencia k zníženej odpovedi na liečbu so skrátením doby prežívania [27–31]. Na druhej strane, IHC p53 pozitivita nekorelovala s redukciou odpovede na liečbu a celkovým prežívaním u pacientov liečených len vinka alkaloidmi [32], alebo platinovými derivátmi v kombinácii s etopozidom, gemcitabínom, rádioterapiou a inými [27,32–34]. Vidíme, že názory na výpovednú hodnotu imunohistochemickej expresie p53 sa výrazne rôznia a sú často protirečivé. Súčasný IHC stanovovanie p53 a MDM2 by mohlo viesť k objasneniu tohto problému a pomôcť presnejšie určiť skutočnú funkciu, resp. nefunkčnosť MTP53 v nádorových bunkách.

Záver

Častá prítomnosť imunohistochemicky dokázaného proteínu p53 v nádorových bunkách ešte neznamená, že tento proteín je apriori nefunkčný. Na presnejšie určenie skutočnej aktivity proteínu p53 v nádorových bunkách karcinómu pľúc nám poslúži IHC stanovovanie proteínu MDM2. Ak p53 pozitívna vzorka vykazuje súčasne MDM2 expresiu, resp. pozitivitu, pôjde s najväčšou pravdepodobnosťou o funkčnú formu MTP53.

Podakovanie

Naša vďaka patrí kolektívu laborantiek Ústavu anatómie.

Literatúra

1. Bates S, Vousden KH. p53 in signaling checkpoint arrest or apoptosis. *Curr Opin Genet Dev* 1996; 6(1): 12–18.
2. Li FP, Fraumeni JF Jr. Soft-tissue sarcomas, breast cancer, and other neoplasms: a familial syndrome? *Ann Intern Med* 1969; 71(4): 747–752.
3. Foretová L, Štěrba J, Opletal P et al. Li-Fraumeni syndrome – návrh komplexní preventivní péče o nosiče TP53 mutace s použitím celotělové magnetické rezonance. *Klin Onkol* 2012; 25 (Suppl 1): 49–54.
4. Mao L, Hruban RH, Boyle JO et al. Detection of oncogene mutations in sputum precedes diagnosis of lung cancer. *Cancer Res* 1994; 54(7): 1634–1637.
5. Han H, Landreneau RJ, Santucci TS et al. Prognostic value of immunohistochemical expressions of p53, HER-2/neu, and bcl-2 in stage I non-small-cell lung cancer. *Hum Pathol* 2002; 33(1): 105–110.
6. Bouska A, Eischen CM. Mdm2 affects genome stability independent of p53. *Cancer Res* 2009; 69(5): 1697–1701.
7. Mantovani A. Molecular pathways linking inflammation and cancer. *Curr Mol Med* 2010; 10(4): 369–373.
8. Eischen CM, Lozano G. p53 and MDM2: antagonists or partners in crime? *Cancer Cell* 2009; 15(3): 161–162.
9. Marine JC, Lozano G. Mdm2-mediated ubiquitylation: p53 and beyond. *Cell Death Differ* 2010; 17(1): 93–102.
10. Clegg HV, Itahana K, Zhang Y. Unlocking the Mdm2–p53 loop: ubiquitin is the key. *Cell Cycle* 2008; 7(3): 287–292.
11. Beasley MB, Brambilla E, Travis WD. The 2004 World Health Organization classification of lung tumors. *Semin Roentgenol* 2005; 40(2): 90–97.
12. IASLC Staging Manual in Thoracic Oncology. Orange Park, FL, USA: Editorial Rx Press 2009: 129–140.
13. Bergqvist M, Brattström D, Gullbo J et al. p53 Status and its in vitro relationship to radiosensitivity and chemosensitivity in lung cancer. *Anticancer Res* 2003; 23(2B): 1207–1212.
14. Wang T, Xu J, Zhong NS. Relationship between the acquired multi-drug resistance of human large cell lung cancer cell line NCI-H460 by cisplatin selection and p53 mutation. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi* 2005; 28(2): 102–107.
15. Brattström D, Bergqvist M, Lamberg K et al. Complete sequence of p53 gene in 20 patients with lung cancer: comparison with chemosensitivity and immunohistochemistry. *Med Oncol* 1998; 15(4): 255–261.
16. Blandino G, Levine AJ, Oren M. Mutant p53 gain of function: differential effects of different p53 mutants on resistance of cultured cells to chemotherapy. *Oncogene* 1999; 18(2): 477–485.
17. Lai SL, Perng RP, Hwang J. p53 Gene status modulates the chemosensitivity of non-small cell lung cancer cells. *J Biomed Sci* 2000; 7(1): 64–70.
18. Inoue A, Narumi K, Matsubara N et al. Administration of wild-type p53 adenoviral vector synergistically enhances the cytotoxicity of anti-cancer drugs in human lung cancer cells irrespective of the status of p53 gene. *Cancer Lett* 2000; 157(1): 105–112.
19. Wang Y, Blandino G, Oren M et al. Induced p53 expression in lung cancer cell line promotes cell senescence and differentially modifies the cytotoxicity of anti-cancer drugs. *Oncogene* 1998; 17(15): 1923–1930.
20. Ling YH, Zou Y, Perez-Soler R. Induction of senescence-like phenotype and loss of paclitaxel sensitivity after wild-type p53 gene transfection of p53-null human non-small cell lung cancer H358 cells. *Anticancer Res* 2000; 20(2A): 693–702.
21. He Y, Fan SZ, Jiang YG et al. Effect of p73 gene on chemosensitivity of human lung adenocarcinoma cells H1299. *Ai Zheng* 2004; 23(6): 645–649.
22. Mori T, Okamoto H, Takahashi N et al. Aberrant overexpression of 53BP2 mRNA in lung cancer cell lines. *FEBS Lett* 2000; 465(2–3): 124–128.
23. Ji D, Deeds SL, Weinstein EJ. A screen of shRNAs targeting tumor suppressor genes to identify factors involved in A549 paclitaxel sensitivity. *Oncol Rep* 2007; 18(6): 1499–1505.
24. Vogt U, Zaczek A, Klinke F et al. p53 Gene status in relation to ex vivo chemosensitivity of non-small cell lung cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2002; 128(3): 141–147.
25. Kandilier-Eckersberger D, Kappel S, Mittlböck M et al. The TP53 genotype but not immunohistochemical result is predictive of response to cisplatin-based neoadjuvant therapy in stage III non-small cell lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1999; 117(4): 744–750.
26. Kandilier D, Stamatis G, Eberhardt W et al. Growing clinical evidence for the interaction of the p53 genotype and response to induction chemotherapy in advanced non-small cell lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2008; 135(5): 1036–1041.
27. Ludovini V, Gregorc V, Pistola L et al. Vascular endothelial growth factor, p53, Rb, Bcl-2 expression and response to chemotherapy in advanced non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2004; 46(1): 77–85.
28. Miyatake K, Gemba K, Ueoka H et al. Prognostic significance of mutant p53 protein, P-glycoprotein and glutathione S-transferase-pi in patients with unresectable non-small cell lung cancer. *Anticancer Res* 2003; 23(3C): 2829–2836.
29. Brooks KR, To K, Joshi MB et al. Measurement of chemoresistance markers in patients with stage III non-small cell lung cancer: a novel approach for patient selection. *Ann Thorac Surg* 2003; 76(1): 187–193.
30. Azuma K, Komohara Y, Sasada T et al. Excision repair cross-complementation group 1 predicts progression-free and overall survival in non-small cell lung cancer patients treated with platinum-based chemotherapy. *Cancer Sci* 2007; 98(9): 1336–1343.
31. Gajra A, Tatum AH, Newman N et al. The predictive value of neuroendocrine markers and p53 for response to chemotherapy and survival in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2002; 36(2): 159–165.
32. Berrieman HK, Cawthell L, O’Kane SL et al. Hsp27 may allow prediction of the response to single-agent vinorelbine chemotherapy in non-small cell lung cancer. *Oncol Rep* 2006; 15(1): 283–286.
33. Gregorc V, Darwish S, Ludovini V et al. The clinical relevance of Bcl-2, Rb and p53 expression in advanced non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2003; 42(3): 275–281.
34. van de Vaart PJ, Belderbos J, de Jong D et al. DNA-adduct levels as a predictor of outcome for NSCLC patients receiving daily cisplatin and radiotherapy. *Int J Cancer* 2000; 89(2): 160–166.

Chirurgická liečba metastáz a jej vplyv na prognózu u pacientov s metastatickým kolorektálnym karcinómom

Surgical Treatment of Metastases and its Impact on Prognosis in Patients with Metastatic Colorectal Carcinoma

Ševčíková K.^{1,2}, Ušáková V.¹, Bartošová Z.³, Sabol M.⁴, Ondrušová M.^{5,6}, Ondruš D.², Špánik S.^{1,2}

¹ Interná onkologická klinika, Onkologický ústav sv. Alžbety, Bratislava

² I. onkologická klinika LF UK a Onkologický ústav sv. Alžbety, Bratislava

³ Oddelenie lekárskej genetiky, Onkologický ústav sv. Alžbety, Bratislava

⁴ Klinika onkologickej chirurgie LF UK a Onkologický ústav sv. Alžbety, Bratislava

⁵ Ústav experimentálnej onkológie, SAV, Bratislava

⁶ Vysoká škola zdravotníctva a sociálnej práce sv. Alžbety, Bratislava

Súhrn

Východiská: Približne 25 % pacientov s kolorektálnym karcinómom (CRC) má už v čase stanovenia diagnózy potvrdené vzdialené metastázy a asi u 50 % pacientov dochádza k ich vzniku v priebehu ochorenia. Chirurgická liečba metastáz zlepšuje klinické výsledky a ako jediná poskytuje šancu na dlhodobé prežítie. Resekabilitu inoperabilných metastáz je možné dosiahnuť ich zmenšením prostredníctvom systémovej liečby. **Materiál a metódy:** Retrospektívne sa analyzoval súbor 21 pacientov s metastatickým kolorektálnym karcinómom (mCRC) liečených v rokoch 2006–2012, ktorí podstúpili radikálne odstránenie metastáz. Iniciálne resekabilných bolo 14 pacientov, sedem pacientov dosiahlo operabilitu metastáz po aplikácii systémovej liečby. Cieľom analýzy je zhodnotenie vplyvu chirurgickej liečby metastáz na prognózu pacientov s mCRC v korelácii s klinicko-patologicko-genetickými faktormi. **Výsledky:** Medián veku pacientov bol 59 rokov. Metastázy v pečeni malo 14 pacientov, metastázy v pľúcach jeden pacient, dvaja pacienti mali kombináciu hepatálneho a extrahepatálneho postihnutia a štyria pacienti mali metastázy v iných lokalitách. Pri mediáne sledovania 47 mesiacov došlo u 17 pacientov k progresii ochorenia a 13 pacienti zomreli. Medián prežívania bez progresie (progression free survival – PFS) po odstránení metastáz bol 17 mesiacov (95% CI 13,88–20,12) a medián celkového prežívania (overall survival – OS) dosiahol 48 mesiacov (95% CI 38,77–57,23). Mutácia génu *KRAS* bola potvrdená u 47,6 % pacientov a mutácia génu *BRAF* u 9,5 % pacientov. Pacienti s mutáciou génu *BRAF* mali horší PFS (medián = 10 mesiacov vs 17 mesiacov; $p = 0,523$) a OS (medián = 22 mesiacov vs 51 mesiacov, $p = 0,05$) v porovnaní s pacientmi s *BRAF* wild-type. Nebol pozorovaný rozdiel v PFS ani v OS v závislosti od počtu odstránených metastatických ložísk, a ani medzi pacientmi, ktorí podstúpili odstránenie metastáz iniciálne, a pacientmi, ktorí dosiahli operabilitu po systémovej liečbe. **Záver:** Výsledky potvrdzujú, že odstránenie metastáz zlepšuje prognózu pacientov s mCRC a že mutácia génu *BRAF* má negatívny prognostický význam aj u tejto skupiny pacientov.

Kľúčové slová

kolorektálny karcinóm – pečenné metastázy – metastazektómia – prognóza – prežívanie

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. Katarína Ševčíková
Interná onkologická klinika
Onkologický ústav sv. Alžbety
Heydukova 10
812 50 Bratislava
e-mail: katka.sevcik@yahoo.com

Obdrženo/Submitted: 2. 7. 2013

Přijato/Accepted: 25. 7. 2013

Summary

Background: Approximately one quarter of patients with colorectal carcinoma (CRC) have distant metastases at initial diagnosis and almost 50% will develop them during the disease course. Only radical surgical resection of metastases improves clinical outcome and offers a chance of long-term survival. Initially unresectable metastases can become resectable after downsizing with systemic therapy. **Materials and Methods:** Retrospective analysis included 21 patients with metastatic colorectal carcinoma (mCRC) who were treated from 2006 to 2012 and underwent resection/ablation of metastases. Fourteen patients had resection at initial diagnosis of metastatic disease and seven patients achieved operability of metastases after systemic treatment. The aim of the analysis was to evaluate surgical treatment of metastases and its impact on prognosis in patients with mCRC in correlation with clinical-pathological-genetic factors. **Results:** The median age of patients was 59 years. Fourteen patients had metastases in the liver, one patient had metastases in the lungs, two patients had combination of hepatic and extrahepatic metastases and four patients had metastases in other regions. During median follow-up of 47 months, 17 patients experienced disease progression and 13 patients died. Median progression free survival (PFS) after surgical resection/ablation of metastases was 17 months (95% CI 13.88–20.12), and median overall survival (OS) was 48 months (95% CI 38.77–57.23). *KRAS* mutation was detected in 47.6% of patients and *BRAF* mutation in 9.5% of patients. Patients with *BRAF* mutation had worse PFS (median = 10 months vs 17 months; $p = 0.523$) and OS (median = 22 months vs 51 months; $p = 0.05$) compared to patients with *BRAF* wild-type. No difference was observed in PFS and OS between the patients with one or more metastatic lesions and between the patients who underwent resection/ablation of metastases initially or after systemic treatment. **Conclusion:** These data suggest that resection/ablation of metastases significantly improves prognosis of patients with mCRC and support the notion that mutated *BRAF* has a strong negative prognostic significance also in the group of patients, who undergo surgical resection/ablation of metastatic lesions.

Key words

colorectal cancer – liver metastases – metastasectomy – prognosis – survival

Úvod

Kolorektálny karcinóm (colorectal carcinoma – CRC) je v odhadoch pre rok 2008 celosvetovo tretím najčastejším nádorovým ochorením u mužov a druhým u žien (s výnimkou ne-melanómových nádorov kože), a zároveň predstavuje štvrtú a tretiu najčastejšiu príčinu smrti spomedzi všetkých malignít u mužov, resp. žien. Geografické rozdiely v incidencii ochorenia značne varujú, pre rok 2008 sa predpokladá celosvetovo najvyšší výskyt ochorenia u mužov v Slovenskej republike (SR), u žien v Maďarsku (a na druhom mieste v SR) [1]. Na Slovensku sa v poslednom štatisticky spracovanom roku 2007 diagnostikovalo 1 943 prípadov ochorení u mužov, čo predstavuje štandardizovanú incidencia (priamou metódou na svetovú štandardnú populáciu) 55,6/100 000 a prvé miesto v rebríčku výskytu zhubných nádorov. U žien sa v danom roku diagnostikovalo 1 408 prípadov CRC (štandardizovaná incidencia 27,8/100 000), čím sme sa umiestnili na druhom mieste zo všetkých zhubných nádorov [2]. Incidencia ochorenia mala u mužov v SR štatisticky signifikantne rastúci trend od roka 1987 až do roka 2005 o priemernú medziročnú hodnotu 2,6 % ($p < 0,001$), od roka 2005 sa zaznamenáva výrazný pokles hodnôt. U žien sa signifikantný vzostup incidence CRC zaznamenával v rokoch

1993–2004 (o priemernú medziročnú hodnotu 2 %, $p < 0,001$), od roka 2004 sa podobne ako u mužov registruje pokles trendov incidencie. Mortalita na CRC má u mužov od roka 1999 stabilizovaný, u žien od roka 1998 dokonca významne klesajúci (–1,6 % medziročne, $p < 0,001$) trend [3]. Na Slovensku má v čase diagnózy viac ako 22 % mužov a 21 % žien prítomné vzdialené metastázy (IV. klinické štádium), pričom však viac ako 9 % zo všetkých chorých nemá v čase registrácie klinické štádium zadefinované [2].

Vo všeobecnosti má asi 25 % pacientov s CRC už v čase stanovenia diagnózy prítomné vzdialené metastázy a celkovo k ich rozvoju dochádza takmer u 50 % pacientov, čo má zásadný dopad na prognózu [4]. Kým päťročné prežívanie v I. štádiu presahuje 90 %, v IV. štádiu klesá na hodnotu okolo 8 % [5]. Pokroky v systémovej liečbe prispeli u pacientov v IV. štádiu ochorenia k predĺženiu priemerného prežívania približne na dva roky. Dlhodobejšie prežívanie poskytuje pacientom s metastatickým kolorektálnym karcinómom (metastatic colorectal cancer – mCRC) len radikálna eliminácia metastáz. Najčastejšou lokalitou metastatického rozsevu je pečeň a odstránenie hepatálnych metastáz je možné realizovať chirurgickou resekciiou alebo lokálnou abláciou (napr. rádio-frekvenčná ablácia, chemoembolizácia

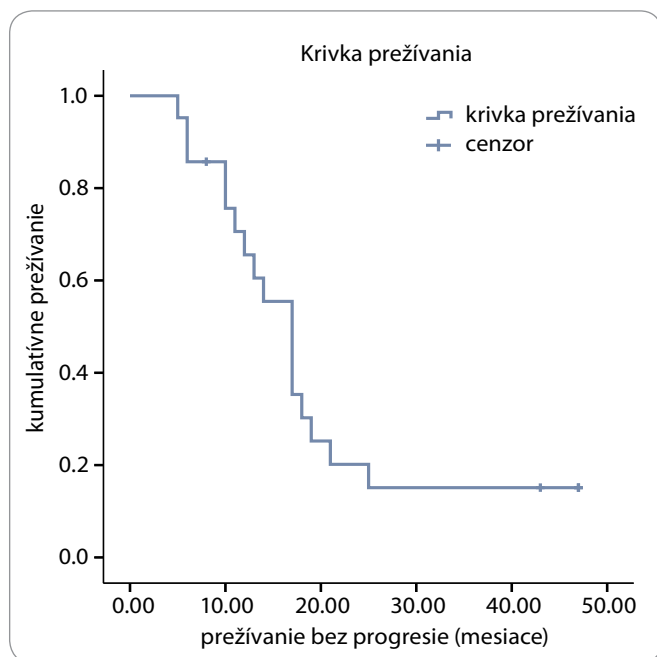
a pod.). Iničiálne nerezekabilní pacienti môžu dosiahnuť operabilitu prostredníctvom systémovej, tzv. konverznej liečby. V prípade kompletného odstránenia solitárnej metastázy môže päťročné prežívanie presiahnuť 50 %, v prípade štyroch a menej lézií je to 30–50 % [6,7].

Cieľom nasledovnej retrospektívnej analýzy je zhodnotenie vplyvu chirurgickej liečby metastáz na prognózu pacientov s mCRC v korelácii s klinicko-patologicko-genetickými faktormi.

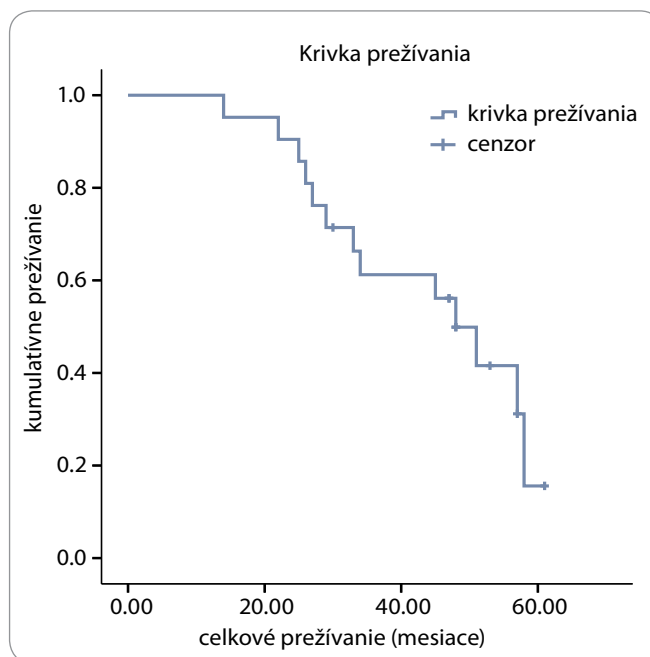
Materiál a metódy

Analýza pacientov

Do analýzy bolo zaradených 21 pacientov (10 mužov, 11 žien), s histologicky verifikovaným mCRC, ktorí boli liečení v rokoch 2006–2012 a ktorí podstúpili radikálne odstránenie metastáz v rokoch 2006–2010 v Onkologickom ústave sv. Alžbety. Cieľom našej analýzy bolo vyhodnotenie nasledovných parametrov: veková štruktúra pacientov v čase stanovenia diagnózy metastatickej choroby, lokalizácia primárneho tumoru a metastáz, počet metastáz, prežívanie bez choroby (disease free survival – DFS) u podskupiny pacientov, ktorí neboli iničiálne metastatickí (II. a III. štádium), prežívanie bez progresie (progression free survival – PFS) po metastazektómii, celkové prežívanie (overall survival – OS), stanovenie frekvencie výskytu mutácií *KRAS*



Graf 1. Prežívanie bez progresie (PFS) po metastazektómii (medián = 17 mesiacov, 95% CI 13,88–20,12).



Graf 2. Celkové prežívanie (OS) (medián = 48 mesiacov, 95% CI 38,77–57,23).

a *BRAF* génov a významu *BRAF* mutácie ako negatívneho prognostického faktora. Odstránenie metastáz bolo realizované chirurgickou resekciou alebo v prípade hepatálnych metastáz aj lokálne-rádiofrekvenčnou abláciou (RFA). Metastazektómiu podstúpilo iniciálne 14 pacientov, siedmi pacienti boli iniciálne neresekabilní a operabilita bola dosiahnutá prostredníctvom systémovej liečby.

Analýza *KRAS* a *BRAF*

Pri analýze mutácií génov *KRAS* a *BRAF* sme sa zamerali na skríning najčastejšie sa vyskytujúcich bodových alterácií, ktoré sú v géne *KRAS* lokalizované v kodónoch 12 a 13 exónu 2 a v géne *BRAF* v kodóne 600 exónu 15. Z nádorových buniek (vzorky natívneho tkaniva alebo fixovaného preparátu v parafíne) bola izolovaná DNA, z ktorej boli pomocou PCR amplifikované fragmenty obsahujúce exón 2 génu *KRAS* (fragment o dĺžke 173 bp) a exón 15 génu *BRAF* (103 bp fragment). PCR produkty boli purifikované použitím ExoSAP-IT® kitu (USB Corporation, Cleveland, Ohio) inkubáciou 45 minút pri teplote 37°C a následne pri teplote 80°C 15 minút. K mutovaným pozíciám boli nadizajnované špecifické oligonukleotidy končiacie jednu bázu pred "hot-spotom" spôsobom, aby umožňovali para-

lelnú detekciu rôznych mutácií v jednej analýze. Jednobázovou extenziou týchto oligonukleotidov v SNaPshot reakcii použitím ABI PRISM SNaPshot Multiplex Kitu (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) vznikajú fluorescenčne značené fragmenty v mieste potenciálnej mutácie. Multiplexná SNaPshot reakcia obsahovala v celkovom objeme 10 ml po 1 ml z každého PCR produktu (*KRAS* a *BRAF*), 2 ml SNaPshot Multiplex Ready Reaction Mix zmesi, 1 ml 5-krát sekvenčného pufru Big Dye V3.1 Terminator Kitu, 2 ml SNaPshot oligonukleotidov v koncentrácii 0.01–0.06 mM a 3 ml vody. Pri nastavení reakčných podmienok boli dodržané odporúčania výrobcu kitu a SNaPshot produkty boli následne purifikované enzymaticky použitím 2U alkalické fosfatázy SAP (USB Corporation, Cleveland, Ohio) pri teplote 37°C po dobu 45 minút. Po tepelnej inaktivácii enzýmu SAP pri teplote 80°C počas 15 minút boli fluorescenčne značené produkty separované elektroforeticky na kapilárnom sekvenátore ABI Prism 3130. Výsledky SNaPshot analýzy boli hodnotené použitím softvéru GeneMapper (Applied Biosystems).

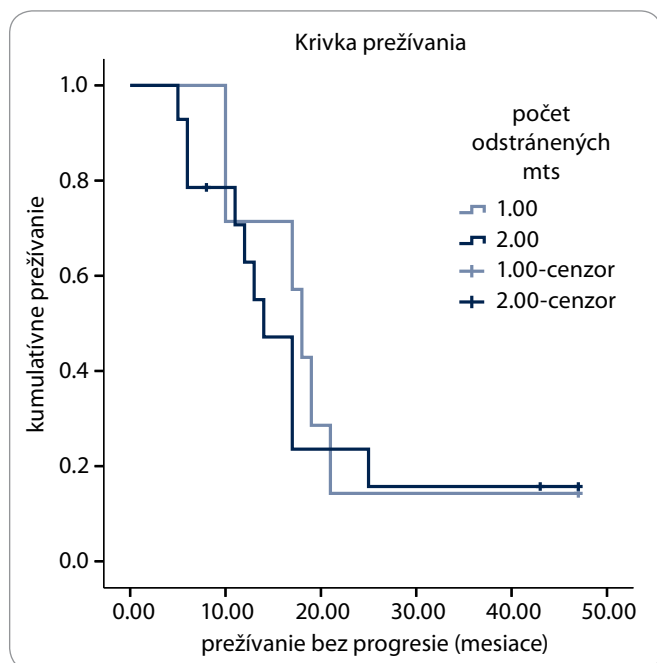
Štatistická analýza

Spracovanie a vyhodnotenie dát bolo plánované formou deskriptívnej štatis-

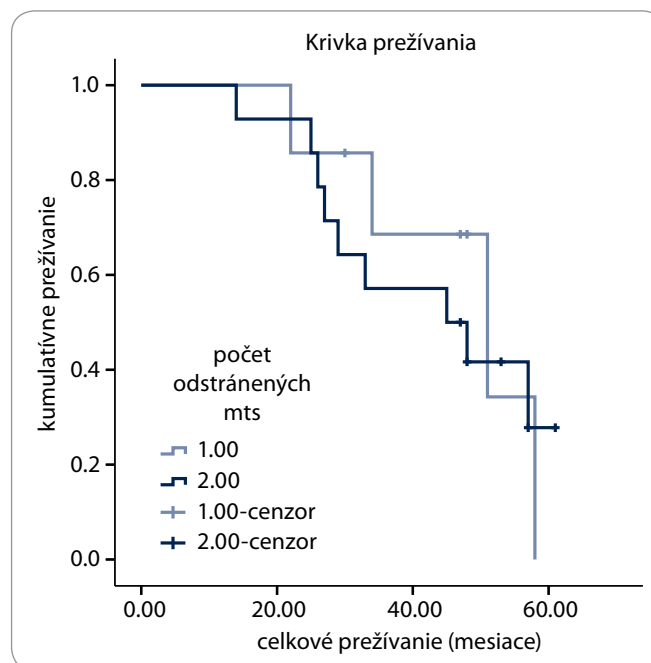
tickej metodiky. Medián sledovania bol vypočítaný ako medián času observácie u všetkých pacientov od stanovenia diagnózy metastatického ochorenia až po úmrtie a u ešte žijúcich pacientov k dátumu ich poslednej kontroly. PFS bolo vypočítané od dátumu metastazektómie až po dátum progresie alebo u pacientov bez progresie k smrti, alebo dátumu poslednej kontroly. OS bolo vypočítané od stanovenia diagnózy metastatického ochorenia až po dátum úmrtia a u žijúcich pacientov k dátumu poslednej kontroly. PFS a OS boli počítané pomocou Kaplan-Meierovej metódy a porovnané log-rank testom. Pre všetky štatistické analýzy bola za signifikantnú považovaná hodnota $p < 0,05$.

Výsledky

Hodnotený súbor pozostával z 21 pacientov (10 mužov a 11 žien) s mediánom veku 59 rokov (rozpätie 33–71 rokov, 25–75% kvantil (45–65 rokov)) v čase stanovenia diagnózy metastatickej choroby. Primárny tumor bol najčastejšie lokalizovaný v oblasti colon sigmoideum. V IV. štádiu ochorenia bolo diagnostikovaných 12 pacientov. Iniciálne v II. alebo III. štádiu ochorenia bolo diagnostikovaných deväť pacientov a k vzniku vzdialených metastáz u nich



Graf 3. Porovnanie PFS podľa počtu odstránených metastáz (mts). Pacienti s jednou metastázou (svetlomodrá čiara) mali dlhšie PFS (medián 18,0 mesiacov, 95% CI 15,43–20,57) v porovnaní s pacientmi s dvomi a viacerými metastázami (tmavomodrá čiara) (medián 14,0 mesiacov, 95% CI 10,55–17,45); $p = 0,642$.



Graf 4. Porovnanie OS podľa počtu odstránených metastáz (mts). Pacienti s jednou metastázou (svetlomodrá čiara) mali dlhšie OS (medián 51,0 mesiacov, 95% CI 25,76–76,24) v porovnaní s pacientmi s dvomi a viacerými metastázami (tmavomodrá čiara) (medián 45,0 mesiacov, 95% CI 19,61–70,39); $p = 0,747$.

došlo neskôr, s mediánom DFS 11 mesiacov. Šiesti pacienti z uvedenej skupiny deväť pacientov absolvovali v minulosti po odstránení primárneho tumoru aj adjuvantnú liečbu.

Typickým miestom metastatického rozsevu bola pečeň, ktorá bola súčasne jediným miestom postihnutia u 14 pacientov, pričom v siedemich prípadoch išlo o solitárnu metastázu. Izolované pľúcne metastázy mal jeden pacient, dvaja pacienti mali kombináciu hepatálneho a extrahepatálneho postihnutia (pľúca, infiltrácia bránice) a štyria pacienti mali metastázy v iných lokalitách (maternica, močový mechúr, vaječníky, peritoneum, hrudná stena).

Z celkového počtu pacientov, traja pacienti so solitárnou metastázou v pečeni podstúpili RFA, jeden pacient mal kombináciu operačného riešenia s RFA, všetci ostatní pacienti mali metastázy odstránené chirurgickou resekciou. Najčastejšie aplikovaným bol režim IFL – irinotekán (125 mg/m^2), 5-fluorouracil (500 mg/m^2) i.v. bolus a leukovorín (20 mg/m^2) i.v. bolus – aplikovaný jedenkrát týždenne počas štyroch zo šiestich týždňov, v kombinácii s biologickou

liečbou (bevacizumab v dávke 5 mg/kg a dva týždne), pričom priemerné trvanie predoperačnej liečby bolo sedem mesiacov.

Zo skupiny pacientov s predoperačnou liečbou sa komplikácie po chirurgickom výkone vyskytli u jedného pacienta, a to vo forme akútnej hepatálnej insuficiencie, peritonitídy a subileózneho stavu, s potrebou revízie dutiny brušnej, evakuácie infikovaného ascitu a antibiotickej liečby.

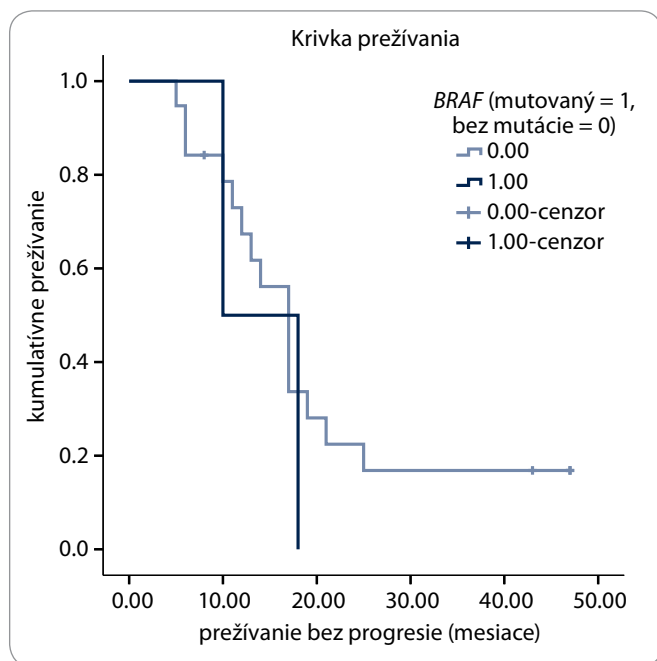
Pri mediáne sledovania 47 mesiacov (rozpätie 14–61 mesiacov) došlo u 17 pacientov (81 %) k progresii ochorenia a 13 pacienti (62 %) zomreli.

Medián PFS po odstránení metastáz bol 17 mesiacov (95% CI 13,88–20,12) a medián OS dosiahol 48 mesiacov (95% CI 38,77–57,23) (graf 1 a 2). Pacienti ($n = 7$), ktorí mali solitárnu metastázu v pečeni dosiahli štatisticky nesignifikantne lepší PFS (medián = 18 vs 14 mesiacov; $p = 0,642$) a OS (medián = 51 vs 45 mesiacov; $p = 0,747$) v porovnaní s pacientmi s dvoma a viacerými metastázami (graf 3 a 4).

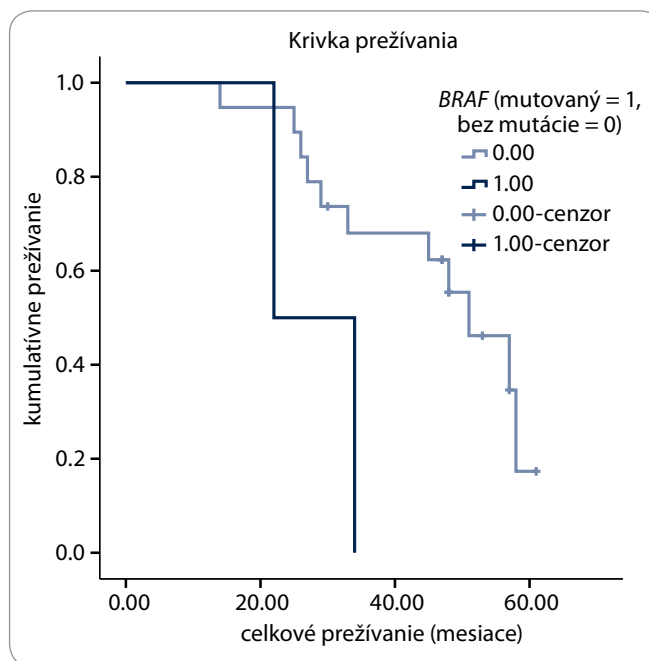
PFS ani OS neboli signifikantne lepšie u pacientov, ktorí podstúpili metasta-

zektómiu po systémovej liečbe, v porovnaní s tými, ktorí ju mali realizovanú iniciálne (medián PFS = 17 vs 14 mesiacov; $p = 0,593$; medián OS = 48 vs 51 mesiacov; $p = 0,710$). V našom súbore podstúpili RFA bez komplikácií celkovo štyria pacienti, z toho jeden pacient aj v kombinácii s chirurgickou resekciou. Z uvedených štyroch pacientov traja pacienti zomreli a jeden naďalej prežíva bez progresie ochorenia. PFS ani OS neboli signifikantne lepšie u pacientov, ktorí podstúpili chirurgickú liečbu v porovnaní s pacientmi, u ktorých bola súčasťou liečby RFA (medián PFS = 17 vs 18 mesiacov; $p = 0,44$; medián OS = 51 vs 25 mesiacov; $p = 0,09$). Mutácia génu *KRAS* bola potvrdená u 47,6 % pacientov a mutácia génu *BRAF* u 9,5 % pacientov. Pacienti s mutáciou *BRAF* mali horší PFS (medián = 10 mesiacov vs 17 mesiacov; $p = 0,523$) a OS (medián = 22 mesiacov vs 51 mesiacov; $p = 0,05$) v porovnaní s pacientmi s *BRAF* wild-type, pričom v prípade OS uvedený rozdiel dosiahol aj štatisticky významnú signifikantnosť (graf 5 a 6).

Pacienti s mutáciou *KRAS* nemali odlišné PFS (medián = 17 mesiacov



Graf 5. Porovnanie PFS podľa prítomnosti mutácie *BRAF* génu. Pacienti bez mutácie *BRAF* génu („*BRAF* 0“) (svetlomodrá čiara) mali dlhšie PFS (medián 17,0 mesiacov) oproti pacientom s mutáciou *BRAF* génu („*BRAF* 1“) (tmavomodrá čiara) (medián 10,0 mesiacov); $p = 0,523$.



Graf 6. Porovnanie OS podľa prítomnosti mutácie *BRAF* génu. Pacienti bez mutácie *BRAF* génu („*BRAF* 0“) (svetlomodrá čiara) mali dlhšie OS (medián 51,0 mesiacov) oproti pacientom s mutáciou *BRAF* génu („*BRAF* 1“) (tmavomodrá čiara) (medián 22,0 mesiacov); $p = 0,050$.

vs 13 mesiacov; $p = 0,66$) a OS (medián = 51 mesiacov vs 45 mesiacov, $p = 0,65$) v porovnaní s pacientmi s *KRAS* wild-type.

Diskusia

Metastázy CRC predstavujú závažný klinický problém. Vzhľadom na významné zlepšenie prognózy, ktoré môže priniesť ich odstránenie, by otázka metastazektómie mala byť vždy predmetom dôkladného zváženia. Vo väčšine prípadov ide o pacientov s metastatickým postihnutím pečene, avšak nie viac ako 20 % týchto pacientov je vhodných na resekciu. Príčinou býva najmä nevhodná lokalizácia metastáz a multifokálne postihnutie heparu, s nemožnosťou zachovať dostatočnú funkčnú rezervu hepatálneho parenchýmu.

Za resekabilné pečenné metastázy sa vo všeobecnosti považujú iba tie, ktoré možno odstrániť kompletne, pri zachovaní dostatočného podielu funkčného pečenného parenchýmu [8]. Medzi dôležité kritériá, ktoré by mali byť splnené pred chirurgickým výkonom, patrí vylúčenie postihnutia hepatálnej artérie, hlavných žľčovodov, portálnej veny

alebo celiakálnych/paraaortálnych lymfatických uzlín [9], a zároveň už vyššie uvedená dostatočná funkčná rezerva zvyškového parenchýmu. Taktiež by pacient nemal mať iné, neresekovateľné, extrahepatálne postihnutie a kompletne by mal byť odstránený aj primárny tumor [10]. V prípade extrahepatálneho postihnutia býva u vhodných pacientov technicky najlepšie realizovateľná predovšetkým resekcia pľúcnych a ovariálnych metastáz [11].

Metódou voľby odstránenia hepatálnych metastáz je chirurgická resekcia. U pacientov s izolovanými hepatálnymi metastázami, ktorí z rozličných dôvodov nemôžu podstúpiť chirurgický zákrok, prichádza do úvahy lokálna ablácia metastáz, pričom preferovanou metódou je RFA. Najlepšie výsledky s RFA sú dosahované u metastáz v počte menej ako tri, s priemerom ≤ 5 cm, ktoré nie sú lokalizované v blízkosti hlavných cievnych štruktúr. V našom súbore podstúpili RFA bez komplikácií celkovo štyria pacienti, z toho jeden pacient aj v kombinácii s chirurgickou resekciou. PFS a OS neboli u týchto pacientov horšie v porovnaní s pacientmi liečenými chirurgickou resekciou, i keď

sme pozorovali trend k horšiemu celkovému prežívaniu u pacientov, kde súčasťou liečby bola RFA (51 vs 25 mesiacov).

U pacientov, ktorí iniciálne nie sú vhodní na resekciu je operabilitu možné dosiahnuť prostredníctvom systémovej, tzv. konverznej liečby, a to s pravdepodobnosťou 5–15 % [12]. Zaujímavou je otázka, či existuje podstatný rozdiel v prognóze medzi pacientmi, ktorí resekciu podstúpili iniciálne, a pacientmi, ktorí dosiahli operabilitu po systémovej liečbe. Výsledky francúzskej skupiny [13] preukázali, že obe skupiny pacientov majú podobnú prognózu. V našej analýze sme taktiež nepotvrdili štatisticky signifikantný rozdiel v PFS a OS medzi uvedenými skupinami pacientov.

Optimálny režim konverznej liečby jednoznačne definovaný nie je. Základ predstavuje fluoropyrimidín, ktorý môže byť kombinovaný s irinotekánom alebo oxaliplatinou, event. možná je aj trojkombinácia cytostatík. Údaje z viacerých štúdií zároveň potvrdzujú, že pridanie biologickej liečby k cytostatikám môže ďalej zlepšiť výsledky a zvýšiť podiel pacientov, ktorí sa stanú vhodnými na metastazektómiu [14–19].

Nevyhnutné je však vždy brať do úvahy toxicitu aplikovanej terapeutickú schému a jej možný vplyv na výskyt perioperačných komplikácií. Kým pri oxaliplatine sa častejšie popisuje riziko postihnutia a obštrukcie hepatálnych sínusov, u irinotekánu je častejšia steatóza alebo steatohepatitída [20–29]. Možné riziká sú aj v prípade aplikácie biologickú liečbu. U bevacizumabu sú to predovšetkým tromboembolické komplikácie, perforácia čreva, krvácanie alebo sťažené hojenie rán, ktoré by mohli nepriaznivo vplyvať na následnú metastazektómiu a pooperačný priebeh. Bezpečnostný profil bevacizumabu bol hodnotený vo viacerých retrospektívnych štúdiách, pričom však žiadna z nich nepreukázala významné zvýšenie vyššie uvedených komplikácií [30–37]. Dôležité je aplikovať predoperačnú liečbu čo najkratšie, aby sme predišli možným komplikáciám, ktoré môže spôsobiť.

Celkový počet metastáz sa v súčasnosti nepovažuje za najrozhodujúcejší faktor. Dôležitejším je spôsob ich uloženia, veľkosť, možnosť vykonať R0 resekciu a splniť pri tom podmienku ponechania plne funkčnej rezervy pečene parenchýmu. Vďaka pokrokom v chirurgickej aj systémovej liečbe je v súčasnosti možné resekciu realizovať dokonca aj v prípade multifokálnych a bilobárne uložených metastáz.

Ako už bolo uvedené vyššie, či už v prípade solitárnej metastázy alebo pri počte ≤ 4 metastáz môže päťročné prežívanie prekročiť hranicu 50 %, čo podporuje tvrdenie, že rozhodujúcimi pre prognózu sú iné parametre ako len samotný počet metastáz. V našom súbore bol zachytený trend k zlepšeniu PFS a OS u pacientov so solitárnou metastázou v pečeni v porovnaní s pacientmi s ≥ 2 metastázami, avšak štatistická významnosť sa nedosiahla, čo mohlo byť ovplyvnené aj veľkosťou nášho súboru.

CRC predstavuje heterogénne ochorenie, a preto je vyvíjané úsilie čo najviac individualizovať jeho liečbu. S tým súvisí hľadanie prediktívnych a prognostických biomarkerov, ktoré by mohli byť nápomocné pri výbere vhodného terapeutického režimu. V prípade mCRC a liečby EGFR inhibítormi sa za negatívny prediktívny marker považuje mutácia génu *KRAS*, ktorá

vedie ku konštitučnej aktivácii RAS-RAF-ERK signálnej dráhy, a tým k rezistencii na cetuximab a panitumumab [16,19,38–49]. Prítomná býva približne u 40 % pacientov s mCRC, pričom je vysoká konkordancia medzi mutáciou v primárnom tumore a vzdialenými metastázami [50]. Mutácia génu *BRAF* sa vyskytuje približne u 5–10 % pacientov s mCRC a randomizované štúdie potvrdili jej negatívnu prognostickú hodnotu [51–53]. V prípade bevacizumabu je situácia zložitejšia, pretože doteraz nebol stanovený žiadny relevantný biomarker a táto oblasť je naďalej predmetom intenzívneho výskumu.

V našom súbore bola mutácia *KRAS* prítomná u 47,6 % a mutácia *BRAF* u 9,5 % pacientov, teda v podobnej frekvencii ako je uvedené vyššie. Pacienti s mutáciou *BRAF* mali horšiu prognózu v porovnaní s pacientmi *BRAF* wild-type, čo sa prejavilo ako v zhoršenom PFS, tak aj OS, pričom v prípade OS sa dosiahla štatistická významnosť. Naše výsledky teda potvrdzujú negatívny prognostický význam mutácie *BRAF* aj u pacientov, ktorí v rámci komplexnej liečby podstúpili aj chirurgickú resekciu/abláciu metastatických ložísk.

Čo sa týka bezpečnosti chirurgického odstránenia metastáz, mortalita spojená s resekciou je podľa výsledkov viacerých prác < 5 %, čo spolu s možnosťou dosiahnuť po resekcii päťročné prežívanie v rozmedzí 24–58 % jednoznačne favorizuje túto liečebnú metódu [54–69].

Záver

Radikálne odstránenie metastáz u pacientov s mCRC predstavuje jedinú, potenciálne kurabilnú liečebnú metódu. Vyššie uvedené dáta potvrdzujú, že pacientom s mCRC môže metastazektómia priniesť významný benefit, s pozitívnym ovplyvnením ich ďalšej prognózy, a preto by mala byť vždy zvažovaná u vhodne vyselektovanej skupiny pacientov. To zároveň podporuje tvrdenie, že optimálnu liečbu mCRC je možné docieľiť jedine multidisciplinárnym prístupom, založenom na úzkej kooperácii medzi klinickým onkológom, onkochirurgom, rádiológom a rádioterapeutom.

Literatúra

1. Ferlay J, Shin HR, Bray F et al (eds). GLOBOCAN 2008 v2.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC Can-

- cerBase No. 10 [monograph on the Internet]. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2010 [cited 2013 Jun 6]. Available from: <http://globocan.iarc.fr>.
- Safaei Diba Ch, Pleško I, Hlava P (eds). Incidencia zhubných nádorov v Slovenskej republike 2007. Národný onkologický register SR. Bratislava: NCZI 2012: 136.
- Ondrušová M, Mužík J, Hrká R et al. Do we know the cause of the highest colorectal cancer incidence, the changes in the mortality trends and the clinical stages in the Slovak and Czech Republic, the representatives of the Central European region? *Neoplasma* 2011; 58(4): 283–290.
- Van Cutsem E, Nordlinger B, Cervantes A. ESMO Guidelines Working Group. Advanced colorectal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for treatment. *Ann Oncol* 2010; 21 (Suppl 5): v93–v97. doi: 10.1093/annonc/mdq222.
- O'Connell JB, Maggard MA, Ko CY. Colon Cancer Survival Rates With the New American Joint Committee on Cancer Sixth Edition Staging. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96(19): 1420–1425.
- Van Cutsem E, Nordlinger B, Adam R et al. Towards a pan-European consensus on the treatment of patients with colorectal liver metastases. *Eur J Cancer* 2006; 42(14): 2212–2221.
- Choti MA, Sitzmann JV, Tiburi MF et al. Trends in long-term survival following liver resection for hepatic colorectal metastases. *Ann Surg* 2002; 235(6): 759–766.
- Berri RN, Abdalla EK. Curable metastatic colorectal cancer: recommended paradigms. *Curr Oncol Rep* 2009; 11(3): 200–208.
- Adam R, de Haas RJ, Wicherts DA et al. Is hepatic resection justified after chemotherapy in patients with colorectal liver metastases and lymph node involvement? *J Clin Oncol* 2008; 26(22): 3672–3680. doi: 10.1200/JCO.2007.15.7297.
- nccn.org [homepage on the Internet]. National Comprehensive Cancer Network (NCCN) guidelines [cited 2013 Jun 26]. Available from: www.nccn.org.
- Carpizo DR, Are C, Jarnagin W et al. Liver resection for metastatic colorectal cancer in patients with concurrent extrahepatic disease: results in 127 patients treated at a single center. *Ann Surg Oncol* 2009; 16(8): 2138–2146. doi: 10.1245/s10434-009-0521-6.
- Adam R, Delvart V, Pascal G et al. Rescue surgery for unresectable colorectal liver metastases downstaged by chemotherapy: a model to predict long-term survival. *Ann Surg* 2004; 240(4): 644–657.
- Adam R, Avisar E, Ariche A et al. Five-year survival following hepatic resection after neoadjuvant therapy for nonresectable colorectal. *Ann Surg Oncol* 2001; 8(4): 347–353.
- Blazer DG 3rd, Kishi Y, Maru DM et al. Pathologic response to preoperative chemotherapy: a new outcome end point after resection of hepatic colorectal metastases. *J Clin Oncol* 2008; 26(33): 5344–5351. doi: 10.1200/JCO.2008.17.5299.
- Adam R, Aloia T, Lévi F et al. Hepatic resection after rescue cetuximab treatment for colorectal liver metastases previously refractory to conventional systemic therapy. *J Clin Oncol* 2007; 25(29): 4593–4602.
- Van Cutsem E, Köhne CH, Hitre E et al. Cetuximab and chemotherapy as initial treatment for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2009; 360(14): 1408–1417. doi: 10.1056/NEJMoa0805019.
- Saltz LB, Clarke S, Díaz-Rubio E et al. Bevacizumab in combination with oxaliplatin-based chemotherapy as first-line therapy in metastatic colorectal cancer: a randomized phase III study. *J Clin Oncol* 2008; 26(12): 2013–2019. doi: 10.1200/JCO.2007.14.9930.
- Folprecht G, Gruenberger T, Bechstein WO et al. Tumour response and secondary resectability of colorectal liver metastases following neoadjuvant chemotherapy with cetuximab: the CELIM randomised phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2010; 11(1): 38–47. doi: 10.1016/S1470-2045(09)70330-4.

19. Bokemeyer C, Bondarenko I, Makhson A et al. Fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin with and without cetuximab in the first-line treatment of metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2009; 27(5): 663–671. doi: 10.1200/JCO.2008.20.8397.
20. Rubbia-Brandt L, Audard V, Sartoretti P et al. Severe hepatic sinusoidal obstruction associated with oxaliplatin-based chemotherapy in patients with metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol* 2004; 15(3): 460–466.
21. Vauthey JN, Pawlik TM, Ribero D et al. Chemotherapy regimen predicts steatohepatitis and an increase in 90-day mortality after surgery for hepatic colorectal metastases. *J Clin Oncol* 2006; 24(13): 2065–2072.
22. Aloia T, Sebah M, Plasse M et al. Liver histology and surgical outcomes after preoperative chemotherapy with fluorouracil plus oxaliplatin in colorectal cancer liver metastases. *J Clin Oncol* 2006; 24(31): 4983–4990.
23. Ward J, Guthrie JA, Sheridan MB et al. Sinusoidal obstructive syndrome diagnosed with superparamagnetic iron oxide-enhanced magnetic resonance imaging in patients with chemotherapy-treated colorectal liver metastases. *J Clin Oncol* 2008; 26(26): 4304–4310. doi: 10.1200/JCO.2008.16.1893.
24. Pawlik TM, Olino K, Gleisner AL et al. Preoperative chemotherapy for colorectal liver metastases: impact on hepatic histology and postoperative outcome. *J Gastrointest Surg* 2007; 11(7): 860–868.
25. Hubert C, Fervaille C, Sempoux C et al. Prevalence and clinical relevance of pathological hepatic changes occurring after neoadjuvant chemotherapy for colorectal liver metastases. *Surgery* 2010; 147(2): 185–194. doi: 10.1016/j.surg.2009.01.004.
26. Karoui M, Penna C, Amin-Hashem M et al. Influence of preoperative chemotherapy on the risk of major hepatomegaly for colorectal liver metastases. *Ann Surg* 2006; 243(1): 1–7.
27. Soubrane O, Brouquet A, Zalinski S et al. Predicting high grade lesions of sinusoidal obstruction syndrome related to oxaliplatin-based chemotherapy for colorectal liver metastases: correlation with post-hepatectomy outcome. *Ann Surg* 2010; 251(3): 454–460. doi: 10.1097/SLA.0b013e3181c79403.
28. Robinson SM, Wilson CH, Burt AD et al. Chemotherapy-associated liver injury in patients with colorectal liver metastases: a systematic review and meta-analysis. *Ann Surg Oncol* 2012; 19(13): 4287–4299. doi: 10.1245/s10434-012-2438-8.
29. Kooby DA, Fong Y, Suriaawinata A et al. Impact of steatosis on perioperative outcome following hepatic resection. *J Gastrointest Surg* 2003; 7(8): 1034–1044.
30. Gruenberger B, Tamandl D, Schueller J et al. Bevacizumab, capecitabine, and oxaliplatin as neoadjuvant therapy for patients with potentially curable metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2008; 26(11): 1830–1835. doi: 10.1200/JCO.2007.13.7679.
31. Okines A, Puerto OD, Cunningham D et al. Surgery with curative-intent in patients treated with first-line chemotherapy plus bevacizumab for metastatic colorectal cancer First BEAT and the randomised phase-III NO16966 trial. *Br J Cancer* 2009; 101(7): 1033–1038. doi: 10.1038/sj.bjc.6605259.
32. D'Angelica M, Kornprat P, Gonen M et al. Lack of evidence for increased operative morbidity after hepatectomy with perioperative use of bevacizumab: a matched case-control study. *Ann Surg Oncol* 2007; 14(2): 759–765.
33. Reddy SK, Morse MA, Hurwitz HI et al. Addition of bevacizumab to irinotecan- and oxaliplatin-based preoperative chemotherapy regimens does not increase morbidity after resection of colorectal liver metastases. *J Am Coll Surg* 2008; 206(1): 96–106.
34. Kesmodel SB, Ellis LM, Lin E et al. Preoperative bevacizumab does not significantly increase postoperative complication rates in patients undergoing hepatic surgery for colorectal cancer liver metastases. *J Clin Oncol* 2008; 26(32): 5254–5260. doi: 10.1200/JCO.2008.17.7857.
35. Tamandl D, Gruenberger B, Klinger M et al. Liver resection remains a safe procedure after neoadjuvant chemotherapy including bevacizumab: a case-controlled study. *Ann Surg* 2010; 252(1): 124–130. doi: 10.1097/SLA.0b013e3181deb67f.
36. Wicherts DA, de Haas RJ, Sebah M et al. Impact of bevacizumab on functional recovery and histology of the liver after resection of colorectal metastases. *Br J Surg* 2011; 98(3): 399–407. doi: 10.1002/bjs.7368.
37. van der Pool AE, Marsman HA, Verheij J et al. Effect of bevacizumab added preoperatively to oxaliplatin on liver injury and complications after resection of colorectal liver metastases. *J Surg Oncol* 2012; 106(7): 892–897. doi: 10.1002/jso.23142.
38. de Reyniès A, Boige V, Milano G et al. KRAS mutation signature in colorectal tumors significantly overlaps with the cetuximab response signature. *J Clin Oncol* 2008; 26(13): 2228–2230. doi: 10.1200/JCO.2007.15.9186.
39. Karapetis CS, Khambata-Ford S, Jonker DJ et al. K-ras mutations and benefit from cetuximab in advanced colorectal cancer. *N Engl J Med* 2008; 359(17): 1757–1765. doi: 10.1056/NEJMoa0804385.
40. Khambata-Ford S, Garrett CR, Meropol NJ et al. Expression of epiregulin and amphiregulin and K-ras mutation status predict disease control in metastatic colorectal cancer patients treated with cetuximab. *J Clin Oncol* 2007; 25(22): 3230–3237.
41. Lièvre A, Bachet JB, Boige V et al. KRAS mutations as an independent prognostic factor in patients with advanced colorectal cancer treated with cetuximab. *J Clin Oncol* 2008; 26(3): 374–379. doi: 10.1200/JCO.2007.12.5906.
42. Amado RG, Wolf M, Peeters M et al. Wild-type KRAS is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2008; 26(10): 1626–1634. doi: 10.1200/JCO.2007.14.7116.
43. Di Fiore F, Blanchard F, Charbonnier F et al. Clinical relevance of KRAS mutation detection in metastatic colorectal cancer treated by Cetuximab plus chemotherapy. *Br J Cancer* 2007; 96(8): 1166–1169.
44. Loupakis F, Ruzzo A, Cremolini C et al. KRAS codon 61, 146 and BRAF mutations predict resistance to cetuximab plus irinotecan in KRAS codon 12 and 13 wild-type metastatic colorectal cancer. *Br J Cancer* 2009; 101(4): 715–721. doi: 10.1038/sj.bjc.6605177.
45. Richman SD, Seymour MT, Chambers P et al. KRAS and BRAF mutations in advanced colorectal cancer are associated with poor prognosis but do not preclude benefit from oxaliplatin or irinotecan: results from the MRC FOCUS trial. *J Clin Oncol* 2009; 27(35): 5931–5937. doi: 10.1200/JCO.2009.22.4295.
46. Tabernero J, Cervantes A, Rivera F et al. Pharmacogenomic and pharmacoproteomic studies of cetuximab in metastatic colorectal cancer: biomarker analysis of a phase I dose-escalation study. *J Clin Oncol* 2010; 28(7): 1181–1189. doi: 10.1200/JCO.2009.22.6043.
47. Dahabreh IJ, Terasawa T, Castaldi PJ et al. Systematic review: Anti-epidermal growth factor receptor treatment effect modification by KRAS mutations in advanced colorectal cancer. *Ann Intern Med* 2011; 154(1): 37–49. doi: 10.7326/0003-4819-154-1-201101040-00006.
48. Tougeron D, Lecomte T, Pagès JC et al. Effect of low-frequency KRAS mutations on the response to anti-EGFR therapy in metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol* 2013; 24(5): 1267–1273. doi: 10.1093/annonc/mds620.
49. Robešová B, Bajárová M, Vašíková A et al. Molecular biological diagnostics of KRAS and BRAF mutations in patients with colorectal cancer – laboratory experience. *Klin Onkol* 2013; 26(1): 25–30.
50. Han CB, Li F, Ma JT et al. Concordant KRAS mutations in primary and metastatic colorectal cancer tissue specimens: a meta-analysis and systematic review. *Cancer Invest* 2012; 30(10): 741–747. doi: 10.3109/07357907.2012.732159.
51. Bokemeyer C, Kohne C, Rougier P et al. Cetuximab with chemotherapy (CT) as first-line treatment for metastatic colorectal cancer (mCRC): Analysis of the CRYSTAL and OPUS studies according to KRAS and BRAF mutation status. *J Clin Oncol* 2010; 28 (Suppl): 3506.
52. Van Cutsem E, Köhne CH, Láng I et al. Cetuximab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: updated analysis of overall survival according to tumor KRAS and BRAF mutation status. *J Clin Oncol* 2011; 29(15): 2011–2019. doi: 10.1200/JCO.2010.33.5091.
53. Ogino S, Shima K, Meyerhardt JA et al. Predictive and prognostic roles of BRAF mutation in stage III colon cancer: results from intergroup trial CALGB 89803. *Clin Cancer Res* 2012; 18(3): 890–900. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-11-2246.
54. Fernandez FG, Drebin JA, Linehan DC et al. Five-year survival after hepatic resection of hepatic metastases from colorectal cancer in patients screened by positron emission tomography with F-18 fluorodeoxyglucose (FDG-PET). *Ann Surg* 2004; 240(3): 438–447.
55. Scheele J, Stang R, Altendorf-Hofmann A et al. Resection of colorectal liver metastases. *World J Surg* 1995; 19(1): 59–71.
56. Steele G Jr, Bleday R, Mayer RJ et al. A prospective evaluation of hepatic resection for colorectal carcinoma metastases to the liver: Gastrointestinal Tumor Study Group Protocol 6584. *J Clin Oncol* 1991; 9(7): 1105–1112.
57. Nordlinger B, Guiguet M, Vaillant JC et al. Surgical resection of colorectal carcinoma metastases to the liver. A prognostic scoring system to improve case selection, based on 1568 patients. Association Française de Chirurgie. *Cancer* 1996; 77(7): 1254–1262.
58. Yoon SS, Tanabe KK. Multidisciplinary management of metastatic colorectal cancer. *Surg Oncol* 1998; 7(3–4): 197–207.
59. Hughes KS, Simon R, Songhorabodi S et al. Resection of the liver for colorectal carcinoma metastases: a multi-institutional study of patterns of recurrence. *Surgery* 1986; 100(2): 278–284.
60. Jamison RL, Donohue JH, Nagorney DM et al. Hepatic resection for metastatic colorectal cancer results in cure for some patients. *Arch Surg* 1997; 132(5): 505–510.
61. Fong Y, Fortner J, Sun RL et al. Clinical score for predicting recurrence after hepatic resection for metastatic colorectal cancer: analysis of 1001 consecutive cases. *Ann Surg* 1999; 230(3): 309–318.
62. Iwatsuki S, Dvorchik I, Madariaga JR et al. Hepatic resection for metastatic colorectal adenocarcinoma: a proposal of a prognostic scoring system. *J Am Coll Surg* 1999; 189(3): 291–299.
63. Abdalla EK, Vauthey JN, Ellis LM et al. Recurrence and outcomes following hepatic resection, radiofrequency ablation, and combined resection/ablation for colorectal liver metastases. *Ann Surg* 2004; 239(6): 818–825.
64. Wei AC, Greig PD, Grant D et al. Survival after hepatic resection for colorectal metastases: a 10-year experience. *Ann Surg Oncol* 2006; 13(5): 668–676.
65. Simmonds PC, Primrose JN, Colquitt JL et al. Surgical resection of hepatic metastases from colorectal cancer: a systematic review of published studies. *Br J Cancer* 2006; 94(7): 982–999.
66. Cummings LC, Payes JD, Cooper GS. Survival after hepatic resection in metastatic colorectal cancer: a population-based study. *Cancer* 2007; 109(4): 718–726.
67. Rees M, Tekkis PP, Welsh FK et al. Evaluation of long-term survival after hepatic resection for metastatic colorectal cancer: a multifactorial model of 929 patients. *Ann Surg* 2008; 247(1): 125–135.
68. Morris EJ, Forman D, Thomas JD et al. Surgical management and outcomes of colorectal cancer liver metastases. *Br J Surg* 2010; 97(7): 1110–1118. doi: 10.1002/bjs.7032.
69. Ablorsu E, Kothaj P. Current role of surgery in treatment of liver metastases from colorectal cancer. *Klin Onkol* 2006; 19(2): 121–123.

Na MRI založené 3D plánování brachyradioterapie karcinomů děložního hrdla – naše zkušenosti s použitím uterovaginálního aplikátoru Vienna Ring MR-CT

MRI Based 3D Brachytherapy Planning of the Cervical Cancer – Our Experiences with the Use of the Uterovaginal Vienna Ring MR-CT Applicator

Vojtíšek R.¹, Mouryc F.¹, Čechová D.¹, Ciprova R.¹, Ferda J.², Fínek J.¹

¹ Onkologická a radioterapeutická klinika LF UK a FN Plzeň

² Klinika zobrazovacích metod LF UK a FN Plzeň

Souhrn

Východiska: Plánování uterovaginální brachyterapie je konvenčně založeno na použití dvou ortogonálních rentgenových snímků. V současné době dochází k rozvoji 3D plánování brachyterapie založeného na fúzi CT a MRI vyšetření, které bere do úvahy individuální rozsah tumoru a uložení kritických orgánů. V této práci hodnotíme dozimetrické údaje a první klinické výsledky u pacientek s neoperovaným cervikálním karcinomem při použití MRI/CT kompatibilního aplikátoru umožňujícího 3D plánování. **Soubor pacientů a metody:** V období 6/2012–3/2013 jsme provedli 52 uterovaginálních aplikací u 13 pacientek s inoperabilním cervikálním karcinomem pomocí uterovaginálního aplikátoru Vienna Ring MR-CT. Plánování proběhlo podle fúze CT a MRI vyšetření pánve. Konturace cílových objemů a kritických struktur byla prováděna na základě doporučení GEC-ESTRO a ABS, stejně tak jako vykazování dávek. **Výsledky:** Celkové trvání radioterapie bylo 37–52 dnů s mediánem 45 dnů. Medián celkové dávky aplikované do HR CTV byl 88 Gy (70,7–97,9) EQD2. Medián jednotlivé dávky při brachyterapeutických aplikacích byl D90 = 6,45 Gy (3,2–9,82). Medián celkové dávky aplikované do rekta, sigmoidea a močového měchýře, byl D2cc_{rektum} = 64,2 Gy (54,3–74,1), D2cc_{sigmoideum} = 68,6 Gy (57–74,7) a D2cc_{močový měchýř} = 73,9 Gy (58,3–92,6). U 11 pacientek (84,6 %) bylo dosaženo kompletní lokoregionální remise, u zbývajících dvou pacientek (15,4 %) bylo dosaženo parciální lokoregionální remise. U 12 pacientek (92,3 %) došlo ke kompletní regresi tumoru na čípku, u jedné pacientky (7,7 %) došlo k metastatickému rozsevu v játrech, tedy k progresi onemocnění. Zatím pozorujeme maximálně projevy 1. stupně toxicity, a to jak GI, tak GU. Pozdní GI toxicita se projevila u dvou pacientek (15,4 %) a pozdní GU toxicita se projevila u pěti pacientek (38,5 %). **Závěr:** 3D plánování brachyterapie neoperovaných nádorů děložního čípku pomocí fúze MRI a CT vyšetření přináší jednoznačně možnost dávkové eskalace na oblast tumoru a významným způsobem šetří okolní rizikové orgány. Ve svém důsledku vede tento způsob plánování k lepší lokální kontrole onemocnění a k nižší postradiační morbiditě.

Klíčová slova

nádory děložního čípku – brachyterapie – plánování radioterapie – magnetická rezonance – uterovaginální aplikátor

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. Radovan Vojtíšek
Onkologická a radioterapeutická
klinika LF UK a FN Plzeň
alej Svobody 80
340 60 Plzeň
e-mail: vojtitsekr@fnplzen.cz

Obdrženo/Submitted: 4. 8. 2013

Přijato/Accepted: 5. 9. 2013

Summary

Background: Uterovaginal brachytherapy planning is conventionally based on the use of two orthogonal X-ray projections. Currently, there is a large development of 3D brachytherapy planning based on the fusion of CT and MRI, which takes into account the extent of the tumor and the location of organs at risk. In this work, we evaluated the dosimetric data and first clinical results in patients with inoperable cervical cancer using MRI/CT compatible applicator enabling 3D planning. **Patients and Methods:** Between June 2012 and March 2013, we performed 52 uterovaginal applications in 13 patients with inoperable cervical cancer using Vienna Ring MR-CT applicator. Planning was carried out by the fusion of MRI and CT. Target volumes and organs at risk delineation were carried out on the basis of GEC-ESTRO and ABS recommendations as well as doses reporting. **Results:** Overall radiotherapy duration was 37–52 days with median of 45 days. The median total dose delivered to the HR CTV was 88 Gy (70.7–97.9) EQD2. The median single dose in brachytherapeutic applications was $D_{90} = 6.45$ Gy (3.2–9.82). The median total doses delivered to the rectum, sigmoid colon and bladder were $D_{2cc_{rectum}} = 64.2$ Gy (54.3–74.1), $D_{2cc_{sigmoid}} = 68.6$ Gy (57–74.7) a $D_{2cc_{bladder}} = 73.9$ Gy (58.3–92.6). In 11 patients (84.6%), complete locoregional remission was achieved, in the remaining two patients (15.4%), partial locoregional remission was achieved. Twelve patients (92.3%) had complete regression of the tumor in the cervix, one patient (7.7%) developed metastatic spread to the liver. Yet we did not observe manifestations of a higher degree of toxicity than the first grade, both GI and GU. Late GI toxicity was manifested in two patients (15.4%) and late GU toxicity was manifested in five patients (38.5%). **Conclusion:** 3D brachytherapy planning of inoperable cervical cancer using the fusion of MRI and CT conclusively raises the possibility of the dose escalation to the tumor and significantly spares the surrounding organs at risk. Subsequently, this way of planning leads to better local control of the disease and to lower radiation morbidity.

Key words

cancer of the cervix – brachytherapy – radiotherapy planning – magnetic resonance imaging – uterovaginal applicator

Úvod

Karcinom děložního hrdla je v České republice 8. nejčastějším nádorovým onemocněním u žen, jehož incidence v roce 2010 byla 18,53/100 000 a mortalita 7,16/100 000 pacientek. Za posledních 15 let došlo pouze k mírnému snížení těchto epidemiologických ukazatelů (v roce 1995 byla incidence 21,87/100 000 a mortalita 9,73/100 000) [1]. Standardizované terapeutické onkogynologické postupy vycházejí z klasických prognostických faktorů, jako je velikost nádoru, hloubka stromální invaze, histopatologický typ nádoru, metastatické postižení lymfatických uzlin a šíření nádoru do parametrií [2].

Brachyterapie je v léčbě cervikálních karcinomů indikována po zevní radioterapii u všech lokálně a lokoregionálně pokročilých stadií (FIGO stadia IB2–IVA). Samostatná brachyterapie může být použita jako primární léčebná metoda u časných stadií (IA–IB1). Od stadia IB1 by měla být radioterapie kombinována, nejsou-li přítomné kontraindikace, s konkomitantně podávanou chemoterapií [3,4].

Plánování intrakavitární uterovaginální brachyterapie používající uterinní tandem a vaginální ovidy či ring je konvenčně založeno na použití dvou ortogonálních rentgenových snímků, což je koncept vytvořený před cca 40 lety [5]. Od roku 1985 se používají standardi-

zované specifikační dávkové body navržené v ICRU reportu 38 [6]. V dnešní době širokého využívání moderních zobrazovacích metod se již tento postup nejeví jako zcela optimální, neboť předpis dávky do konvenčního virtuálního bodu A a vykazování dávek v referenčních bodech pro kritické orgány (rektum a močový měchýř) nemůže ze své podstaty korespondovat s individuálním rozsahem tumoru a uložením kritických orgánů, což následně vede buď k poddávkování části cílového objemu, anebo k vyššímu zatížení rekta a močového měchýře [5,7]. Proto také dochází k rozvoji 3D plánování brachyterapie založeného na CT vyšetření anebo na fúzi CT a MRI vyšetření. Samotné CT vyšetření je limitované špatným měkkotkáňovým kontrastem a omezenou schopností rozlišit vlastní tumor od normální cervikální, uterinní a parametriální tkáně. V tomto smyslu je vyšetření MRI mnohem senzitivnější [5]. První publikované klinické výsledky demonstrují pozitivní dopad 3D plánování brachyterapie na lokoregionální kontrolu onemocnění a na redukci pozdní postradiační morbidity [8–10]. Lze rovněž očekávat 10–20% prodloužení přežití u pacientek s lokálně pokročilým tumorem, pokud je vhodně a správně použita technika brachyterapie založená na MRI vyšetření [9].

Cílem této práce je seznámit čtenáře s našimi zkušenostmi s 3D plánováním

uterovaginální brachyterapie a s prvními léčebnými výsledky a projevy post-radiační toxicity při použití nového typu MRI kompatibilního aplikátoru pro intrakavitární brachyterapii cervikálních karcinomů – typ Vienna Ring MR-CT.

Soubor pacientů a metody

Soubor pacientek

V období 6/2012–3/2013 jsme na Onkologickém a radioterapeutickém oddělení FN Plzeň provedli celkem 52 uterovaginálních aplikací, a to celkem u 13 pacientek s inoperabilním karcinomem děložního hrdla. Medián věku pacientek byl 55 let (rozpětí 31–73 let), v osmi (61,5 %) případech se jednalo o FIGO (International Federation of Gynaecology and Obstetrics) stadium IIIB, čtyři (30,8 %) pacientky byly diagnostikovány ve stadiu IIB a jedna (7,7 %) pacientka ve stadiu IVB. Ve většině případů se jednalo o dladicobuněčný karcinom (12 pacientek, 92,3 %), v jednom případě (7,7 %) byl diagnostikován adenokarcinom (tab. 1). Všechny pacientky podepsaly informovaný souhlas s léčbou.

Radioterapie

U všech 13 pacientek (100 %) byla brachyterapie kombinována se zevní radioterapií. Všechny pacientky měly rovněž provedené MRI vyšetření pánve v rámci stagingu onemocnění ještě před zahájením zevní radioterapie. Plánování zevní

radioterapie probíhalo podle kontrastního CT vyšetření břicha a pánve, pacientky zaujímaly supinační polohu. Konturaci cílových objemů a rizikových orgánů jsme prováděli podle obecných ICRU doporučení [11,12] a podle specifických doporučení RTOG pro radikální radioterapii cervikálních karcinomů [13]. Použili jsme techniku 3D CRT (3D conformal radiotherapy, 3D konformní radioterapie). Plánovaná dávka ze zevní radioterapie byla 45–50,4 Gy na oblast pánve, event. paraaortálních uzlin, při reziduálním nálezů na parametrických byla dávka do této oblasti zvýšena o 10–16 Gy.

V devíti případech (69 %) byla radioterapie potencionována konkomitantně podávanou chemoterapií (cisplatina 40 mg/m² týdně) (tab. 1).

Aplikace brachyterapie

Všechny pacientky podstoupily buď v celkové anestezii, anebo v analgosedaci nejprve zavedení močového katetru a poté zavedení uterovaginálního aplikátoru Vienna Ring MR-CT (Nucletron, Veenendaal, Nizozemí) (obr. 1) do děložní dutiny a proximální části pochvy, následně absolvovaly nativní CT vyšetření pánve na CT simulátoru (Brilliance CT Big Bore, Philips), tloušťka řezů byla 1 mm. Ihned poté absolvovaly MRI vyšetření pánve na MRI přístroji s magnetickou indukcí 3 T (SKYRA, Siemens Healthcare, Erlangen, Německo) v obvyklých sekvencích (nativně v T2 TSE ax., sag., T2 TIRM cor, T1 TSE FS tra a DWI ax. a po aplikaci extracelulární kontrastní látky i.v. v T1 VIBE dynamicky) (obr. 2), obě vyšetření byla provedena s aplikátory *in situ*. Před CT vyšetřením byl močový měchýř vyprázdněn pomocí močového katetru, poté jsme do něj instilovali 30 ml zředěné kontrastní látky (Iomecon 150 inj. sol.) a močový katetr jsme zaklamovali. Po vyšetření jsme katetr opět uvolnili.

Plánování léčby

Konturace cílových objemů a kritických struktur byla prováděna na základě doporučení, která vydala v roce 2005 gynekologická pracovní skupina GEC-ESTRO (Groupe Européen de Curiethérapie – European Society for Radiotherapy and Oncology) [14,15] a která rovněž pře-

Tab. 1. Charakteristika souboru (n = 13).

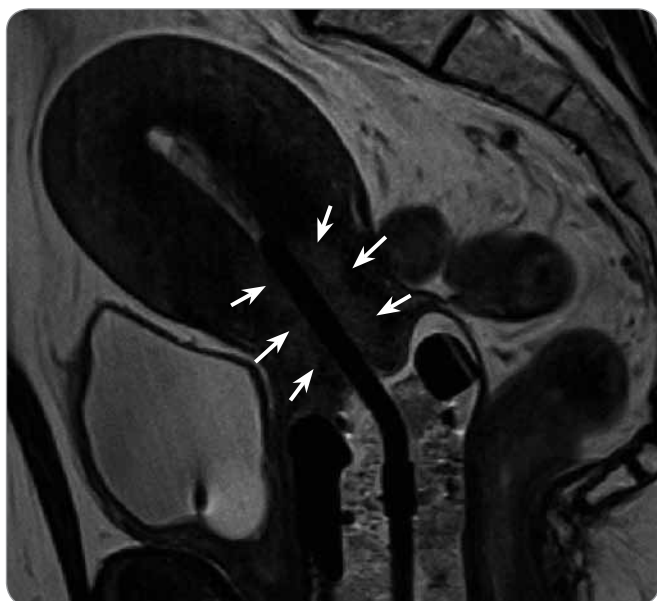
Věk medián (rozmezí)		55	31–73
Histologický typ	dlaždicobuněčný	12/13	92,3 %
	adenokarcinom	1/13	7,7 %
Grade	1	1/13	7,7 %
	2	11/13	84,6 %
	3	1/13	7,7 %
Stadium (FIGO)	IIB	4/13	30,8 %
	IIIB	8/13	61,5 %
	IVB	1/13	7,7 %
Chemoterapie – počet cyklů (cisplatina 40 mg/m ² týdně)	bez chemoterapie	4/13	30,8 %
	1	1/13	7,7 %
	2	1/13	0,0 %
	3	4/13	30,8 %
	4	3/13	23,1 %
	5	1/13	7,7 %
Postižení lymfatických uzlin	negativní	4/13	30,8 %
	pozitivní pánevní	8/13	61,5 %
	pozitivní paraaortální	1/13	7,7 %



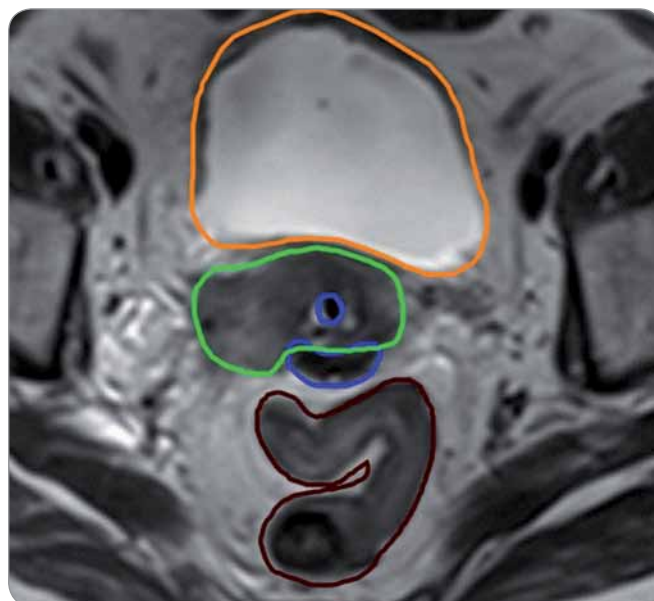
Obr. 1. Uterovaginální aplikátor Vienna Ring MR-CT.

vzala ABS (American Brachytherapy Society) [3,16]. Data z CT vyšetření sloužila ke konturaci rizikových orgánů (rektum, sigmoideum a močový měchýř) a lokalizaci aplikátorů. Zakreslení cílových objemů jsme prováděli v T2 sekvencích MRI vyšetření. HR CTV (high-risk clinical target volume) je definován jako reziduální makroskopická nemoc v době brachyterapie (obr. 3). Zahrnuje v sobě

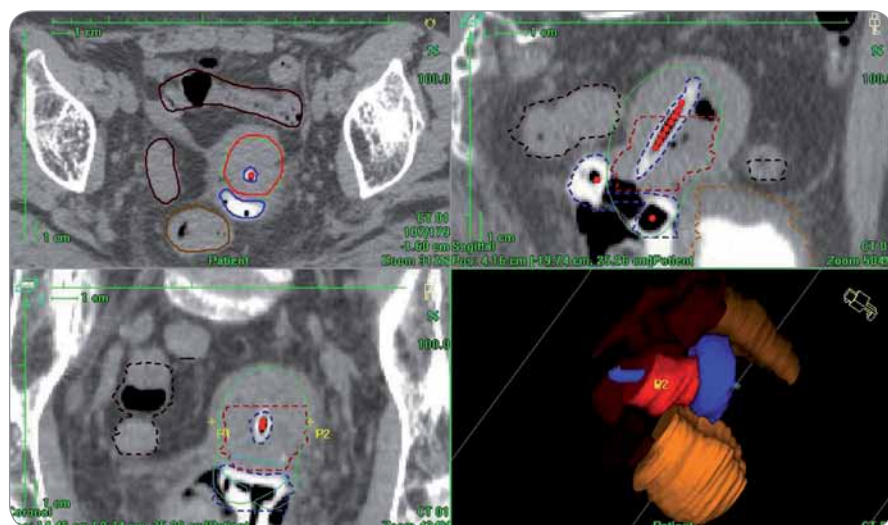
GTV (gross tumor volume), celý cervix a extracervikální porci tumoru v době brachyterapie. Patologická reziduální tkáň, palpovatelná indurace, reziduální „šedé zóny“ [10] (střední intenzita signálu v T2 váženém obraze MRI, která je pokládána za patologickou a topograficky odpovídá rozsahu tumoru v době diagnózy) v parametrických, děložním těle, vagině, rektu nebo měchýři by měly rov-



Obr. 2. T2 sekvence MRI vyšetření s uterovaginálním aplikátorem – sagitální rovina. V děložním čípku patrný hyperintenzivní tumor, pochva vyplněná tamponádou.



Obr. 3. Konturace cílového objemu podle MRI vyšetření. Zelená barva – HR CTV, modrá – aplikátor, oranžová – močový měchýř, hnědá – sigmoideum.



Obr. 4. 3D dávková distribuce vypočtená podle CT matice (plánovací systém Oncentra Masterplan). Červená barva – HR CTV; zelená – předepsaná dávka, 100% izodóza; modrá – aplikátor; světle hnědá – rektum; tmavě hnědá – sigmoideum; oranžová – močový měchýř.

něž být zahrnuty do tohoto objemu. IR (intermediate risk) CTV je definován jako reziduální mikroskopická nemoc a odpovídá původnímu rozsahu tumoru v době diagnózy. Předepsaná dávka byla 6 Gy na 100% izodózu, ale v rámci dávkové optimalizace při každé jednotlivé frakci byla dávka vykazovaná ve formě D90 (dávka, která pokrývá 90 % cílového objemu) vždy taková, abychom ve výsledném součtu dávkového zatížení kritických orgánů pokud možno

nepřekročili toleranční dávky udávané ve formě D2cc (minimální dávka v nejvíce ozářených 2 cm³ tkáně přiléhající k aplikátoru), a to konkrétně pro rektum a sigmoideum 75 Gy a pro močový měchýř 90 Gy [3,14–16]. Žádné dávkové limity nebyly určeny pro pochvu. Všechny dávky jsme vykazovali v takové formě, která odpovídala dávce při konvenční frakcionaci, a to s ohledem na typ hodnocené tkáně, tedy ve formě EQD2 (ekvivalentní forma odpovídající konvenční

frakcionaci à 2 Gy). Pro účely přepočtu dávek jsme používali lineárně kvadratický model s hodnotami $\alpha/\beta = 10$ pro nádor a $\alpha/\beta = 3$ pro kritické orgány [17].

Pro plánování brachyterapie jsme použili plánovací systém Oncentra Masterplan (Nucletron, Veenendaal, Nizozemí) (obr. 4) a brachyterapeutické aplikace byly prováděny pomocí HDR afterloadingového přístroje MicroSelectron (Nucletron, Veenendaal, Nizozemí), kde je zdrojem ¹⁹²Ir (iridium).

Sledované parametry

Sledovali jsme následující parametry – celková doba léčby, celková aplikovaná dávka do HR CTV, D90 při každé aplikaci brachyterapie, D2cc pro rektum, sigmoideum a močový měchýř, léčebná odpověď a projevy pozdní gastrointestinální a genitourinární toxicity podle Fox Chase modifikace skórovacího systému RTOG/LENT [18,19]. Jako pozdní toxicita byly definovány obtíže, které se objevily po více než 90 dnech od ukončení ozáření, nebo obtíže, které se vyvinuly během léčby a přetrvávaly déle než 90 dnů po jejím ukončení. Kompletní remise (complete remission – CR) byla definována jako gynekologický nález bez patologie a bez známek tumoru na CT, PET/CT či MRI vyšetření. Sledování probíhá na našem oddělení formou kom-

plexního gynekologického vyšetření každé tři měsíce a formou MRI vyšetření (u lokálně pokročilého onemocnění) a CT nebo PET/CT vyšetření (u lokoregionálně pokročilého onemocnění) každých šest měsíců (první vyšetření za tři měsíce od ukončení léčby).

Výsledky

Celkové trvání radioterapie bylo 37–52 dnů s mediánem 45 dnů. Všechny pacientky absolvovaly léčbu podle plánu, kromě jedné pacientky, která nepodstoupila poslední plánovanou aplikaci brachyterapie z důvodu interkurentně probíhající těžké akutní bronchitidy.

Dozimetrické výsledky

Medián celkové aplikované dávky (ze zevní radioterapie a brachyterapie) do HR CTV byl 88 Gy (70,7–97,9) EQD2. Medián jednotlivé dávky brachyterapeutických aplikací byl D90 = 6,45 Gy (3,2–9,82).

Medián celkové dávky aplikované do kritických orgánů, tedy rekta, sigmoidea a močového měchýře, opět z kombinace zevní radioterapie a brachyterapie, byl $D2cc_{\text{rektum}} = 64,2$ Gy (54,3–74,1), $D2cc_{\text{sigmoideum}} = 68,6$ Gy (57–74,7) a $D2cc_{\text{močový měchýř}} = 73,9$ Gy (58,3–92,6).

Léčebná odpověď

Medián follow-up byl 32 týdnů (17–56). U všech 13 pacientek (100 %) bylo dosaženo lokoregionální remise onemocnění, přičemž u 11 z nich (84,6 %) byla remise kompletní, zbývající dvě pacientky (15,4 %) dosáhly pouze partiální lokoregionální remise. Co se týká lokální odpovědi, tak kompletní regrese tumoru na děložním hrdle byla dosažena u 12 pacientek (92,3 %). I přes lokoregionální kompletní remisi došlo u jedné pacientky (7,7 %) k metastatickému rozsevu v játrech, tedy k progresi onemocnění.

Toxicita

Co se týká projevů pozdní toxicity, tak zatím pozorujeme maximálně projevy 1. stupně toxicity, a to jak gastrointestinální, tak genitourinární. Pozdní GI toxicita se projevila u 2/13 (15,4 %) pacientek a pozdní GU toxicita se projevila

u 5/13 (38,5 %) pacientek. U 6/13 (46,2 %) pacientek byly pozorovány synechie proximální části poševní sliznice.

Diskuze

Hlavní výhodou 3D plánování brachyterapie pomocí fúze MRI a CT vyšetření je zobrazení rozsahu nádoru v době diagnózy a zejména v době aplikace brachyterapie a možnost definování individuálního klinického cílového objemu ve vztahu k aplikátoru a rizikovým orgánům, který také bere v úvahu odpověď nádoru na zevní radioterapii. Konvenční předpis dávky do virtuálního bodu A podle konceptu ICRU Reportu 38 [5] není konzistentní s individuálním rozsahem tumoru, což vede buď k poddávkování části cílového objemu, anebo k vyššímu zatížení okolních zdravých tkání. Navíc tento koncept neposkytuje dávkově objemové informace o cílovém objemu a rizikových orgánech, mezi které nepočítá sigmoideum, které se však rovněž významným způsobem podílí na pozdní gastrointestinální toxicitě [20]. 3D plánování dovoluje hodnocení individuální dávkové distribuce v cílových objemech a rizikových orgánech [5].

Předpoklad, že zvýšení dávky aplikované do cílového objemu při přísném dodržování dávkově objemových limitů rizikových orgánů (při plánování pomocí fúze MRI a CT) povede k lepší lokální kontrole [21], potvrdili rakouští autoři Dimopoulos et al [10], kteří popisují 3letou lokální kontrolu 96 % u pacientek, které obdržely dávku D90 (EQD2) do HR CTV vyšší než 87 Gy, a to bez ohledu na rozsah nádoru a odpověď na zevní radioterapii. Tato excelentní lokální kontrola se odráží ve zlepšeném celkovém přežití, ovšem pouze u tumorů větších než 5 cm. Pötter et al [9] popisují zlepšení celkového přežití ve třech letech u pacientek s tumorem nad 5 cm léčených 3D brachyterapií oproti těm se stejně velkým tumorem, ovšem léčených konvenční 2D brachyterapií (58 % vs 28 %; $p = 0,003$). Náborově specifické přežití ve třech letech činilo 62 % oproti 40 % ($p = 0,07$) u tumorů větších než 5 cm, opět ve prospěch 3D plánování. Je nutné dodat, že u pacientek, u kterých byla prokázána pokročilá reziduální choroba v době brachyterapie (29 případů), která by tímto nebyla

dostatečně přístupná klasické intrakavitární brachyterapii, byla přidána ještě intersticiální aplikace jehlami.

Jsme si vědomi krátkého follow-up (medián 32 týdnů), přesto si troufáme tvrdit, že časná léčebná odpověď má určitou prediktivní hodnotu týkající se kontroly onemocnění. U 12 pacientek (92,3 %) jsme pozorovali kompletní regresi tumoru na děložním hrdle a u 11 pacientek (84,6 %) bylo dosaženo kompletní remise lokoregionální. U jedné pacientky bylo dosaženo pouze částečné odpovědi na děložním hrdle a v pánevních uzlinách, jednalo se však iniciálně o velmi pokročilý nález – tumor infiltroval oboustranně parametria ke stěně pánevní a rovněž cirkulárně infiltroval pochvu až do její dolní třetiny. U další pacientky bylo dosaženo kompletní remise lokální, ovšem s perzistující lymfadenopatií v pánvi, která byla následně exstirpována s nálezem perzistujícího metastatického postižení. Tato pacientka odmítla konkomitantně podávanou chemoterapii. I přes lokoregionální remisi došlo také u jedné pacientky k metastatickému rozsevu v játrech – jednalo se o pacientku iniciálně ve stadiu IVB, která taktéž odmítla konkomitantní podání chemoterapie.

Co se týká údajů o pozdní gastrointestinální a genitourinární toxicitě, tak existuje pouze málo literárních údajů detailněji hodnotících tuto problematiku. Ve starších studiích hodnotících efekt radiochemoterapie v léčbě cervikálních tumorů je popisován relativně vysoký stupeň postradiační GI toxicity (více než G3 v 10–28 %) [22–24]. Jednalo se o soubory pacientek, jejichž brachyterapeutické aplikace byly plánovány konvenčně, tedy ve 2D. Lze tedy předpokládat, že stávající dávkově objemové limity byly v mnoha případech překročeny. V jiné práci autorů Pöttera et al [8] popisují na souboru 48 pacientek léčených kombinací zevní radioterapie a na MRI založené 3D HDR BRT dva případy s genitourinární toxicitou G4 (CTC), žádný případ G3 toxicity a žádnou pacientku s projevy gastrointestinální toxicity G3–4. Maximum genitourinární toxicity se projevilo na poševní sliznici – 85 % pacientek mělo projevy suchosti a atrofie poševního epitelu, částečné synechie

nebo stenózu horní části pochvy. To vše při mediánu follow-up 40 měsíců. Zmíněné dva případy s GU toxicitou (močový měchýř) G4 měly při zpětném hodnocení daleko překročené toleranční limity (D2cc byl 137 a 182 Gya/b3EQD2) podle aktuálních doporučení GEC ESTRO.

Validnější hodnocení pozdní toxicity našeho souboru zatím není možné z důvodu krátkého follow-up, neboť je zřejmé, že některé projevy pozdní toxicity se mohou projevit s odstupem několika let. Zatím se neobjevily projevy vyššího stupně toxicity než G1, a to jak gastrointestinální, tak i genitourinární. Pouze u jedné pacientky byly překročeny toleranční limity na močový měchýř (92,6 Gy EQD2), ve všech ostatních případech byly limity u všech kritických orgánů dodrženy. Neočekáváme tedy výraznější projevy pozdní toxicity.

Za velmi významný prognostický faktor je považováno celkové trvání léčby [25,26], které by v optimálním případě nemělo být delší než osm týdnů (56 dnů), neboť jakékoliv prodloužení trvání léčby vede k poklesu lokální kontroly a přežití v průměru o 1 % na den [3,27,28]. V našem souboru byl medián celkového trvání léčby 45 dnů a u žádné pacientky nebylo trvání léčby delší než zmíněných 56 dnů (maximum bylo 52 dnů).

Při brachyterapii neoperovaných cervikálních karcinomů je možné použít několik druhů uterovaginálních aplikátorů. Základem každého z nich by měl být uterinní tandem a ten může být kombinovaný s vaginálními ovoidy, ringem nebo vaginálním cylindrem. Každý systém má určité preferenční indikace, výhody a nevýhody. Kupříkladu tandem s vaginálním cylindrem jsou vhodné pouze pro pacientky se stenózou horní části pochvy, způsobující neschopnost umístit ovoidy nebo ring, anebo pro případy s povrchovým postižením dolní části pochvy (mimo dosah ostatních aplikátorů), jehož tloušťka je menší než 5 mm. Tandem a ring zase vedou k poněkud užší dávkové distribuci než ovoidy a mohou také vést k vyšší vaginální dávce. Je to ovšem ideální technika pro pacientky s malými (vyrovnanými) poševními klenbami. Tandem a vaginální ovoidy se dobře hodí pro případy s barrel-shaped děložním čípku [3].

Na našem pracovišti jsme v posledních 10 letech preferenčně používali tandem v kombinaci s ovoidy (MRI/CT nekompatibilní), ale abychom byli schopni plánovat léčbu pomocí MRI vyšetření, pořídili jsme si kombinovaný intrakavitární a intersticiální aplikátor Vienna Ring, tvořený tandemem a ringem, který je MRI/CT kompatibilní. Pro získání prvních zkušeností s 3D plánováním jsme ho zatím využívali pouze pro intrakavitární aplikace.

Tento kombinovaný intrakavitární a intersticiální brachyterapeutický aplikátor Vienna Ring byl vytvořen zejména pro objemné cervikální tumory přesahující 25 mm od osy v cervikálním kanále a 35 mm v rovině ringu [29], neboť tyto vzdálenosti již nemohou být pokryty pomocí samostatného intrakavitárního přístupu, bereme-li do úvahy dávkové limity rizikových orgánů. V těchto situacích (obvykle tedy u pacientek s objemnými tumory v době brachyterapie, s objemnými stadii IIB/IIIB s malou odpovědí v oblasti parametrií anebo v případě nepříznivé topografie) je vhodné využití kombinace intrakavitární brachyterapie s intersticiální aplikací titanových jehel [30]. Při použití jehel lze 100% izodózu posunout až na 35 mm od osy tandemu. Tento přístup dovoluje zvýšení pokrytí cílového objemu, léčeného objemu a celkové dávky bez zvýšení dávky v kritických strukturách. Vienna Ring aplikátor zajišťuje lepší kontrolu zavedení jehel než za pomoci jiných druhů aplikátorů, protože je zde kratší vzdálenost mezi ringem a cílovým objemem, což vede k přesnému a reprodukovatelnému zavedení [31]. Při použití tohoto aplikátoru slouží ring jako „templát“ a poskytuje fixní geometrii mezi tandemem a jehlami. V blízké budoucnosti samozřejmě také plánujeme využívat možnosti intersticiální aplikace jehel ke zlepšení konformity dávkové distribuce u indikovaných případů.

V budoucnu bude zřejmě také možné používat k plánování pomocí MRI vyšetření i jiné roviny než klasickou transversální. Bylo totiž prokázáno, že paratransverzální MRI zobrazení děložního čípku (kolmé na dlouhou osu cervixu) je senzitivnější, specifitější a přesnější v hodnocení patologického stadia než klasické

zobrazení [32], a proto byly také provedeny pokusy o začlenění konturace cílového objemu v paratransverzální rovině. Petric et al [33] ve své práci popisují snazší pochopení prostorových vztahů mezi aplikátory a patologickými a anatomickými strukturami. Dokumentují rovněž výbornou „interobserver“ shodu a snazší konturaci. Nicméně pouze malá část plánovacích systémů v současné době umožňuje konturaci a plánování v jiné než transversální rovině, proto nelze zatím tento přístup pokládat za standardní.

Závěr

Naše první zkušenosti na skromném souboru pacientek potvrzují předpoklad, že 3D plánování brachyterapie neoperovaných nádorů děložního hrdla s pomocí fúze MRI a CT vyšetření přináší jednoznačně možnost dávkové eskalace na oblast tumoru a významným způsobem šetří okolní rizikové orgány. Ve svém důsledku pak vede tento způsob plánování k lepší lokoregionální kontrole onemocnění a k nižší postradiační morbiditě.

Literatura

- Dušek L, Mužík J, Kubásek M et al (eds). Epidemiologie zhoubných nádorů v České republice [online]. Masarykova univerzita, [2005]. Dostupný z: <http://www.svod.cz>. Verze 7.0 [2007].
- Mouková L, Nenutil R, Fabián P et al. Prognostické faktory karcinomu děložního hrdla. *Klin Onkol* 2013; 26(2): 83–90.
- Viswanathan AN, Thomadsen B, American Brachytherapy Society Cervical Cancer Recommendations Committee et al. American Brachytherapy Society consensus guidelines for locally advanced carcinoma of the cervix. Part I: general principles. *Brachytherapy* 2012; 11(1): 33–46. doi: 10.1016/j.brachy.2011.07.003.
- Green JA, Kirwan JM, Tierney JF et al. Survival and recurrence after concomitant chemotherapy and radiotherapy for cancer of the uterine cervix: a systematic review and meta-analysis. *Lancet* 2001; 358(9284): 781–786.
- Shin KH, Kim TH, Cho JK et al. CT-guided intracavitary radiotherapy for cervical cancer: Comparison of conventional point A plan with clinical target volume-based three-dimensional plan using dose-volume parameters. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2006; 64(1): 197–204.
- ICRU. Dose and volume specification for reporting intracavitary therapy in gynaecology. ICRU report 38. Bethesda: International Commission on Units and Measurements: 1985.
- Onal C, Arslan G, Topkan E et al. Comparison of conventional and CT-based planning for intracavitary brachytherapy for cervical cancer: target volume coverage and organs at risk doses. *J Exp Clin Cancer Res* 2009; 28: 95. doi: 10.1186/1756-9966-28-95.
- Pötter R, Dimopoulos J, Bachtari B et al. 3D conformal HDR-brachy- and external beam therapy plus simultaneous cisplatin for high-risk cervical cancer: clinical experience

- rience with 3 year follow-up. *Radiother Oncol* 2006; 79(1): 80–86.
9. Pötter R, Dimopoulos J, Georg P et al. Clinical impact of MRI assisted dose volume adaptation and dose escalation in brachytherapy of locally advanced cervix cancer. *Radiother Oncol* 2007; 83(2): 148–155.
10. Dimopoulos JC, Lang S, Kirisits C et al. Dose-volume histogram parameters and local tumor control in magnetic resonance image-guided cervical cancer brachytherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2009; 75(1): 56–63. doi: 10.1016/j.ijrobp.2008.10.033.
11. ICRU Report 50. Prescribing, recording and reporting photon beam therapy. Bethesda: International Commission for Radiation Units and Measurements, 1993: 71.
12. ICRU Report 62. Prescribing, recording and reporting photon beam therapy (Suppl to ICRU Report 50). Bethesda: International Commission for Radiation Units and Measurements, 1999: 52.
13. Lim K, Small W Jr, Portelance L et al. Consensus guidelines for delineation of clinical target volume for intensity-modulated pelvic radiotherapy for the definitive treatment of cervix cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2011; 79(2): 348–355. doi: 10.1016/j.ijrobp.2009.10.075.
14. Haie-Meder C, Pötter R, Van Limbergen E et al. Gynaecological (GYN) GEC-ESTRO Working Group. Recommendations from Gynaecological (GYN) GEC-ESTRO Working Group (I): concepts and terms in 3D image based 3D treatment planning in cervix cancer brachytherapy with emphasis on MRI assessment of GTV and CTV. *Radiother Oncol* 2005; 74(3): 235–245.
15. Pötter R, Haie-Meder C, Van Limbergen E et al. GEC ESTRO Working Group. Recommendations from gynaecological (GYN) GEC ESTRO working group (II): concepts and terms in 3D image-based treatment planning in cervix cancer brachytherapy-3D dose volume parameters and aspects of 3D image-based anatomy, radiation physics, radiobiology. *Radiother Oncol* 2006; 78(1): 67–77.
16. Viswanathan AN, Beriwal S, De Los Santos JF et al. American Brachytherapy Society consensus guidelines for locally advanced carcinoma of the cervix. Part II: high-dose-rate brachytherapy. *Brachytherapy* 2012; 11(1): 47–52. doi: 10.1016/j.brachy.2011.07.002.
17. Lang S, Kirisits C, Dimopoulos J et al. Treatment planning for MRI assisted brachytherapy of gynecologic malignancies based on total dose constraints. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2007; 69(2): 619–627.
18. Hanlon AL, Schultheiss TE, Hunt MA et al. Chronic rectal bleeding after high-dose conformal treatment of prostate cancer warrants modification of existing morbidity scales. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1997; 38(1): 59–63.
19. Storey MR, Pollack A, Zagars G et al. Complications from radiotherapy dose escalation in prostate cancer: preliminary results of a randomized trial. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2000; 48(3): 635–642.
20. Doležel M, Vaňásek J, Odrážka K et al. The progress in the treatment of cervical cancer-3D brachytherapy CT/MR-based planning. *Ceska Gynekol* 2008; 73(3): 144–149.
21. Wachter-Gerstner N, Wachter S, Reinstadler E et al. The impact of sectional imaging on dose escalation in endocavitary HDR-brachytherapy of cervical cancer: results of a prospective comparative trial. *Radiother Oncol* 2003; 68(1): 51–59.
22. Souhami L, Seymour R, Roman TN et al. Weekly cisplatin plus external beam radiotherapy and high dose rate brachytherapy in patients with locally advanced carcinoma of the cervix. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1993; 27(4): 871–878.
23. Morris M, Eifel PJ, Lu J et al. Pelvic radiation with concurrent chemotherapy compared with pelvic and para-aortic radiation for high-risk cervical cancer. *N Engl J Med* 1999; 340(15): 1137–1143.
24. Pearcey R, Brundage M, Drouin P et al. Phase III trial comparing radical radiotherapy with and without cisplatin chemotherapy in patients with advanced squamous cell cancer of the cervix. *J Clin Oncol* 2002; 20(4): 966–972.
25. Chen SW, Liang JA, Yang SN et al. The adverse effect of treatment prolongation in cervical cancer by high-dose-rate intracavitary brachytherapy. *Radiother Oncol* 2003; 67(1): 69–76.
26. Fyles A, Keane TJ, Barton M et al. The effect of treatment duration in the local control of cervix cancer. *Radiother Oncol* 1992; 25(4): 273–279.
27. Girinsky T, Rey A, Roche B et al. Overall treatment time in advanced cervical carcinomas: a critical parameter in treatment outcome. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1993; 27(5): 1051–1056.
28. Perez CA, Grigsby PW, Castro-Vita H et al. Carcinoma of the uterine cervix. I. Impact of prolongation of overall treatment time and timing of brachytherapy on outcome of radiation therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1995; 32(5): 1275–1288.
29. Kirisits C, Lang S, Dimopoulos J et al. The Vienna applicator for combined intracavitary and interstitial brachytherapy of cervical cancer: design, application, treatment planning, and dosimetric results. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2006; 65(2): 624–630.
30. Popowski Y, Hiltbrand E, Joliat D et al. Open magnetic resonance imaging using titanium-zirconium needles: improved accuracy for interstitial brachytherapy implants? *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2000; 47(3): 759–765.
31. Dimopoulos JC, Kirisits C, Petric P et al. The Vienna applicator for combined intracavitary and interstitial brachytherapy of cervical cancer: clinical feasibility and preliminary results. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2006; 66(1): 83–90.
32. Shiraiwa M, Joja I, Asakawa T et al. Cervical carcinoma: efficacy of thin-section oblique axial T2-weighted images for evaluating parametrial invasion. *Abdom Imaging* 1999; 24(5): 514–519.
33. Petric P, Dimopoulos J, Kirisits C et al. Inter- and intra-observer variation in HR-CTV contouring: intercomparison of transverse and paratransverse image orientation in 3D-MRI assisted cervix cancer brachytherapy. *Radiother Oncol* 2008; 89(2): 164–171.

Significant Anti-tumor Effectiveness of Imatinib in C-kit Negative Gastrointestinal Stromal Tumor – Case Report

Významná protinádorová účinnost imatinibu u c-kit negativního gastrointestinálního stromálního tumoru – kazuistika

Kocáková I.¹, Kocák I.¹, Špelda S.¹, Fabian P.², Jurečková A.¹, Vyzula R.¹

¹ Department of Comprehensive Cancer Care, Masaryk Memorial Cancer Institute, Masaryk University Faculty of Medicine, Brno, Czech Republic

² Department of Oncological Pathology, Masaryk Memorial Cancer Institute, Brno, Czech Republic

Summary

Inoperable c-kit negative gastrointestinal stromal tumor (GIST) is commonly considered to be highly resistant to systemic therapy. We present a case of a woman with an abdominal sarcoma-like tumor diagnosed at the age of 26. The patient underwent several surgical procedures and courses of cytostatic therapy without any substantial effect. Later, the tumor was reclassified as c-kit negative GIST harbouring the mutation in exon 12 of *PDGFRA* gene. Hence, the therapy with imatinib mesylate was initiated, resulting in partial remission of metastatic lesions and further stabilization of the disease for five years to date. We therefore consider imatinib mesylate an appropriate therapy for c-kit negative GIST bearing *PDGFRA* mutations.

Key words

gastrointestinal stromal tumors – c-kit receptor – *PDGF* alpha receptor – imatinib mesylate

Souhrn

Inoperabilní c-kit negativní gastrointestinální stromální tumor (GIST) je považován za onemocnění rezistentní ke konvenční cytostatické systémové léčbě. Prezентujeme případ ženy, u které byl ve věku 26 let diagnostikován v dutině břišní maligní tumor charakteru sarkomu. Pacientka prodělala několik chirurgických zákroků a aplikací chemoterapie, nicméně vše bez efektu. Později byl tumor reklasifikován jako c-kit negativní GIST a byla u něj prokázána mutace v exonu 12 genu pro *PDGFRA*. Na základě tohoto nálezu byla zahájena cílená léčba imatinib mesylátem, která vedla k parciální remisi nádoru, dle CT vyšetření. Uvedenou léčbou bylo do dnešní doby dosaženo již pět let trvající stabilizace nemoci. Imatinib mesylát je použitelný jako cílená léčba i v případě c-kit negativního GIST, nesoucího mutaci v genu *PDGFRA*.

Klíčová slova

gastrointestinální stromální tumory – c-kit receptor – *PDGF* alfa receptor – imatinib mesylát

This study was supported by scientific program of the Czech Ministry of Health – DRO (MMCI, 00209805).

Práce byla podpořena výzkumným záměrem MZ ČR – RVO (MOÚ, 00209805).

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.



MUDr. Ivo Kocák, Ph.D.

Department of Comprehensive Cancer Care
Masaryk Memorial Cancer Institute
Zluty kopec 7
656 53 Brno
Czech Republic
e-mail: kocak@mou.cz

Submitted/Obdrženo: 24. 10. 2013

Accepted/Přijato: 2. 11. 2013

Introduction

Gastrointestinal stromal tumors (GISTs) represent a group of rare mesenchymal tumors characterized by strong expression of tyrosin kinase receptor KIT (CD 117), as the most important immunohistochemical marker of these tumors [1]. Approximately 5–10% of GISTs do not stain for c-kit membrane protein; this often correlates with a mutation of *PDGFRA* gene [2,3], which encodes type III tyrosin kinase receptor. As the name implies, GISTs are most often localized in the stomach (40–70%) and in the small intestine (20–40%). The colon, oesophagus and rectum are less frequently involved. “EGIST” stands for an extra-gastrointestinal stromal tumor found in mesentery, omentum or retroperitoneum. EGISTs are occasionally found in pancreas, gallbladder and vagina. GISTs metastasize predominantly to the liver, soft abdominal tissues (omentum, peritoneum, retroperitoneum) and less frequently to pelvic and abdominal lymph nodes.

The treatment of choice for a locally advanced, inoperable or metastatic disease is imatinib mesylate (Glivec®) [4]. It has been used in the Masaryk Memorial Cancer Institute since September 2003.

According to Summary of Product Characteristics (SmPC) imatinib is indicated for treatment of patients with KIT-positive (CD 117) inoperable and/or metastatic GIST, as well as for adjuvant treatment of adult patients with a significant risk of recurrence after resection of KIT (CD117)-positive GIST. Patients with low or very low-risk of recurrence should not receive this treatment.

Case report

We report a case of a young female, who was referred to the Masaryk Memorial Cancer Institute for consultation in March 2008 with a large tumor infiltration of the liver, involving the retroperitoneum and perigastric area in addition to multiple abnormal infiltrates on intestinal loops in the left hypochondrium. Five surgical revisions for recurrent sarcoma of abdominal cavity and several lines of palliative chemotherapy had preceded the visit in our institute.

The first symptoms occurred when the patient was 26 years old in the year 2001. Due to an acute abdominal pain mimicking with appendicitis, there was a laparotomy performed in October 2001 extramurally, involving a partial stomach resection and extirpation of a pathological infiltrate of the omentum measuring 160 × 130 × 90 mm. Histological evaluation in concordance with the second reading diagnosed a low-grade hemangiosarcoma M 9120/31. Subsequently, three series of adjuvant chemotherapy (combination of doxorubicin, ifosfamide and mesna) followed. The therapy was completed in January 2002.

The first relapse of the disease occurred in October 2003. Multiple focuses up to 40 mm in diameter were extirpated from omentum and peroperative suture of a ruptured right-sided ovarian cyst was performed; histological finding was re-classified as myofibrosarcoma G I, c-kit negative. The surgery was “secured” by intraperitoneal administration of cisplatin.

The second recurrence in the abdominal cavity occurred two years later – in May 2005. Surgical revision with a resection of tumor masses was indicated (without any record about the size of the tumor) and intraperitoneal administration of cisplatin followed. Histologically, recurrence of epitheloid angiosarcoma of abdominal cavity M 9120/31 was described again. The patient received nine cycles of chemotherapy – paclitaxel once every three weeks. The treatment was completed on 24 February 2006.

The third recurrence of disease was detected eight months later in October 2006 by a CT scan, which revealed an abnormal finding in the retroperitoneum. Extirpation of abnormal retroperitoneal lymph nodes was performed on 21 November 2006. Histologically, the tumor was concluded to be an angiosarcoma M 9120/3, G I, KI67 10%, c-kit negative. Temporarily, COX II inhibitor + vitamin D were administered in an attempt to influence the anti-angiogenic spread, however, the therapy was soon withdrawn because of palpitations.

The fourth relapse of disease occurred within a year. In October 2007 a CT scan

showed a massive hepatic mass and further dissemination in the abdominal and pelvic cavities. The fifth operation was performed. The patient underwent right-sided adnexectomy, extirpation of recurrent 100 mm tumor in lower pelvis. The lesion in the liver was classified as inoperable. Histologically, a definitive diagnosis of a low-grade c-kit negative GIST was established. As for the staging, the CT scan showed a large necrotic infiltration of the liver, retroperitoneum and perigastric area. The liver mass was approximately 16 cm in diameter, another lesion involved the greater curvature of the stomach occupying the left subphrenic area along with retroperitoneal lymphadenopathy up to 2 cm. Another suspicious infiltrate of intestinal loops had been shown in the left hypochondrium and pelvis (Fig. 1, 2). A chest radiogram did not prove any lung involvement.

A PET scan did not detect any focuses with higher glucose metabolism that would indicate the presence of viable tumorous tissue.

The second histological opinion and molecular analysis of mutation in *KIT* and *PDGFR* genes were requested.

Microscopic finding

The biopsy specimen of the primary tumor and all recurrences displayed similar morphological pattern of a solid, monomorphic neoplasm comprising predominantly epitheloid cells with eosinophilic vacuolized cytoplasm and distinct cell membranes visible occasionally. Nuclei were uniform; hyperchromasia and visualization of nucleoli have not been detected. There was a rich capillary network with occasional foci of hemorrhage. Necrosis was not present in any of the specimens. Primary tumor invaded muscle tissue of the stomach and fat tissue in omentum, as did the recurrent tumor cells. Serosal invasion could not be clearly assessed. Surgical margins have not been specified. The maximum mitotic activity was 2mit/50HPF. Tumor cells stained for vimentin diffusively. Focally, the reaction for CD34 (20% of cells), SMA and MSA (15% of cells) was positive, whereas the other markers (desmin, S-100, CKAE, EMA, CD99,

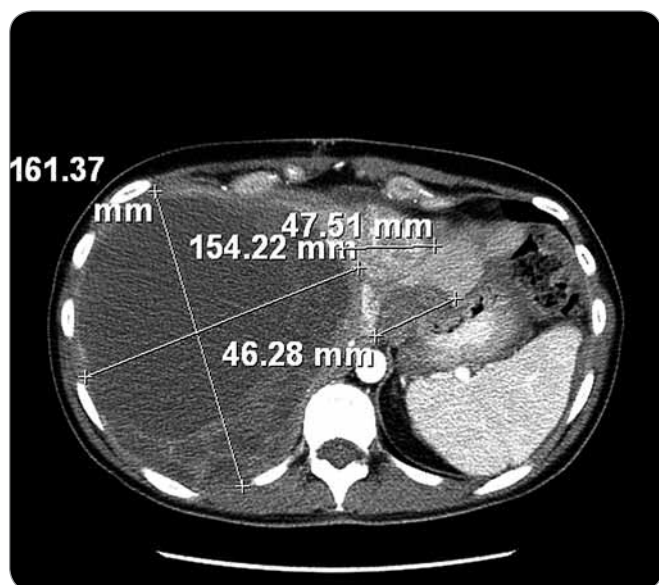


Fig. 1. Large tumor of the liver measuring 161 × 154 mm, retroperitoneum and perigastric area occupied by a necrotic tumor, prior to initiation of treatment; March 2008.



Fig. 2. Large tumor mass in the pelvis prior to initiation of treatment; March 2008.

CK8/18, CD31) were negative. Similarly, immunohistochemistry for C-kit was negative.

Conclusion

The second histological evaluation was consistent with the diagnosis of a recurrent c-kit negative gastrointestinal stromal tumor. With respect to the size of the primary lesion (160 mm), in spite of its low mitotic activity (2mit/50HPF), the tumor was categorized into a group with high-risk of aggressive behavior. Additionally, mutation in exon 12 of a *PDGFRA* gene was detected at a specialized clinic by single-step PCR and subsequent direct sequencing. No further mutations were detected in the other examined exons.

The Karnofsky performance status of the patient with recurrent c-kit negative GIST was 80%. She reported continuous abdominal pain of variable intensity irradiating to the back, and progressively to the right shoulder. The pain worsened at night and recumbency, requiring analgesic therapy. Despite the extensive organ involvement, laboratory parameters were within reference range. Based on the histological nature of the disease and the *PDGFR* mutation, the patient was commenced on imatinib 400 mg/day, despite the c-kit

negative status (see recommendations in SmPC) [5]. During the treatment, no abnormalities in laboratory parameters occurred and abdominal pain resolved within two weeks after the therapy. Actually, imatinib was proven effective and led to significant reduction of tumor in all the documented areas, as shown on the figures below.

Control CT scan

After two months of therapy, a considerable regression of cystoid liver lesion was observed. Moreover, regression of hypodense masses adjacent to the stomach and occupying the left hypochondrium was seen as well. A residual tumor was detected at the lesser curvature of stomach behind the diaphragm. Retroperitoneal lymph nodes remained stable. There were unchanging cystic masses in the left ovary observed.

The patient has been checked every three months during the treatment. Gradually a complete regression of the tumor was seen on CT examinations (the last one in March 2013). The remaining cystoid mass in the liver and ovarian cyst-like lesions are considered necrotic metastases (Fig. 3, 4).

To prove the assumption, ultrasound-guided fine needle biopsy of the

liver mass was performed in January 2010. Cytological examination revealed oligocellular substance comprising of lymphocytes and erythrocytes; tumor cells were not detected. Fine needle biopsy of the left ovarian cystoid was performed in September 2010, yielding predominantly red blood cells without tumor cell on a cytological examination.

Discussion

The prognosis of patients with inoperable and/or metastatic GISTs had been poor prior to launch of imatinib to clinical practice. The patient presented in this case report had undergone several surgeries in a short time as well as several lines of "ineffective" systemic chemotherapy. It is necessary to mention that targeted biological treatment was not available for patients with GIST in the Czech Republic till September of 2003.

In our case, the detection of *PDGFRA* mutation became a significant diagnostic tool and played an important role in therapeutic decision-making process. This illustrates that in case of a mutation in exon 12 of *PDGFRA* gene the treatment with imatinib can be beneficial even to a patient with a c-kit mutation-negative GIST. As health insurance companies generally do not reimburse



Fig. 3. Significant liver tumor regression during the treatment with imatinib; abdominal metastases are not depicted; December 2010.



Fig. 4. Significant regression of finding in the pelvis after imatinib therapy; persisting residual cystoid in the left ovary; December 2010.

imatinib mesylate to patients with c-kit negative GISTs, it is necessary to request reimbursement for each respective case.

The patient was referred to the Masaryk Memorial Cancer Institute in March 2008 with significantly locally advanced disease accompanied with abdominal pain. Multiple organ metastatic involvement had been shown. According to CT scans, treatment with imatinib resulted in significant remission of tumor in the abdomen. Two persisting cystoids

most likely represent necrotic, non-viable metastases. During the treatment, symptoms of disease resolved completely and the clinical status of the patient has significantly improved – at the time she works as a rehabilitation nurse on a full-time basis. The patient has been treated with imatinib since March 2008 which is 60 months without any sign of disease progression. This is a unique therapeutic success in contrast to the prognosis of other metastatic sarcomas.

References

1. Fletcher CD, Berman JJ, Corless C et al. Diagnosis of gastrointestinal stromal tumors: a consensus approach. *Hum Pathol* 2002; 33(5): 459–465.
2. Heinrich MC, Corless CL, Duensing A et al. PDGFRA activating mutations in gastrointestinal stromal tumors. *Science* 2003; 299(5607): 708–710.
3. Hirota S, Ohashi A, Nishida T et al. Gain-of-function mutations of platelet-derived growth factor receptor alpha gene in gastrointestinal stromal tumors. *Gastroenterology* 2003; 125(3): 660–667.
4. Demetri GD, von Mehren M, Blanke CD et al. Efficacy and safety of imatinib mesylate in advanced gastrointestinal stromal tumors. *N Engl J Med* 2002; 347(7): 472–480.
5. Medeiros F, Corless CL, Duensing A et al. KIT-Negative Gastrointestinal Stromal Tumors: Proof of Concept and Therapeutic Implications. *Am J Surg Pathol* 2004; 28(7): 889–894.

Gastric Gastrointestinal Stromal Tumor with Bone Metastases – Case Report and Review of the Literature

Gastrointestinální stromální nádor žaludku s diseminací do kostí – kazuistika a přehled literatury

Şahin E.¹, Yetişyigit T.², Öznur M.³, Elboğa U.⁴

¹ Department of Nuclear Medicine, Namık Kemal University Hospital, Tekirdağ, Turkey

² Department of Medical Oncology, Namık Kemal University Hospital, Tekirdağ, Turkey

³ Department of Pathology, Namık Kemal University Hospital, Tekirdağ, Turkey

⁴ Department of Nuclear Medicine, Gaziantep University Hospital, Gaziantep, Turkey

Summary

Gastrointestinal stromal tumors (GISTs) represent rather rare neoplasms. Most GISTs are benign; malignant tumors account for 20–30% of cases (overall, approximately 10–30% of GISTs exhibit malignant behavior). GISTs most commonly metastasize to the liver and abdominal cavity. Distant metastases to other sites, especially to the bones, are relatively rare. We report a case of a 62-year-old man with metastatic spread of GIST to skull, ribs and both sacroiliac joints manifesting six months after surgical resection of a gastric tumor. Although bone metastases from GISTs are rare and there are only a few reported cases in the literature, this case emphasizes that metastatic disease should always be considered in a patient with gastric GIST and suspicious bone lesions.

Key words

gastrointestinal stromal tumors – bone – metastasis

Souhrn

Gastrointestinální stromální nádory (GISTy) patří mezi vzácné diagnózy. Většina GISTů je považována za benigní, nicméně asi ve 20–30 % případů se můžeme setkat s maligním typem růstu (celkově literatura udává rozmezí 10–30 % případů). GISTy se nejčastěji šíří do jater a břišní dutiny. Jiné vzdálené metastázy, obzvláště do kostí, jsou poměrně vzácné. Tato práce uvádí případ 62letého muže s GISTem, u kterého po šesti měsících od resekce primárního tumoru žaludku došlo k metastatickému rozsevu nádoru do kostí lebečních, několika žeber a obou sakroilických kloubů. Přestože kostní diseminace GISTů je vzácná a literatura uvádí pouze několik podobných případů, autoři této práce zdůrazňují jejich význam v diferenciální diagnostice podezřelých kostních infiltrací.

Klíčová slova

gastrointestinální stromální nádory – kost – metastázy

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.



Ertan Şahin, MD

Department of Nuclear Medicine
Namık Kemal University Hospital
Tekirdağ
Turkey

e-mail: er_ahin@yahoo.com

Submitted/Obdrženo: 9. 7. 2013

Accepted/Přijato: 10. 8. 2013

Introduction

Gastrointestinal stromal tumors (GISTs) are the most common mesenchymal neoplasms of the gastrointestinal tract. Most GISTs are benign; malignant tumors account for 20–30% of cases (**instead of classifying lesions as either benign or malignant, current guidelines categorize GISTs as low-, intermediate-, and high-risk based on size and mitotic index; overall, approximately 10–30% of GISTs exhibit malignant behavior**). Most frequently, GISTs arise from the stomach (60–70%), small intestine (20–25%), colon and rectum (5%), or esophagus (< 5%). GISTs may also develop as primary tumors of the omentum, mesentery or retroperitoneum. Tumor resection is the treatment of choice for localized disease. Selective tyrosine kinase inhibitors (imatinib, sunitinib) are the standard therapy for metastatic or unresectable GISTs. The risk of recurrence is estimated from the mitotic index, size and the initial site of the tumor [1–3].

GISTs most commonly metastasize to the liver and abdominal cavity. Distant metastases to other sites, such as the bones or the lungs, are relatively rare [4–6]. Bone metastases have been reported, but their actual prevalence is unknown [7,8]. We report a case of bone metastases in a patient with **gastric** GIST supplemented by scintigraphic and radiologic findings.

Case Report

A 62-year-old male patient was referred to the hospital with abdominal pain, nausea and vomiting two years ago. A gastric endoscopy detected an ulcerovegetan mass in his antrum (Fig. 1). A pathological examination of the biopsied specimens revealed a GIST. Abdominal computed tomography did not prove any other abnormality except for this gastric lesion. The patient subsequently underwent a partial gastric resection. By further histopathological analysis the tumor size concluded to be 4 cm, the mitotic index was 7/50 High Power Field (HPF), the lesion belonged to moderate-risk group according to the NIH and AFIP criteria, with mixed cell type (epithelioid and spindle) and high cellu-

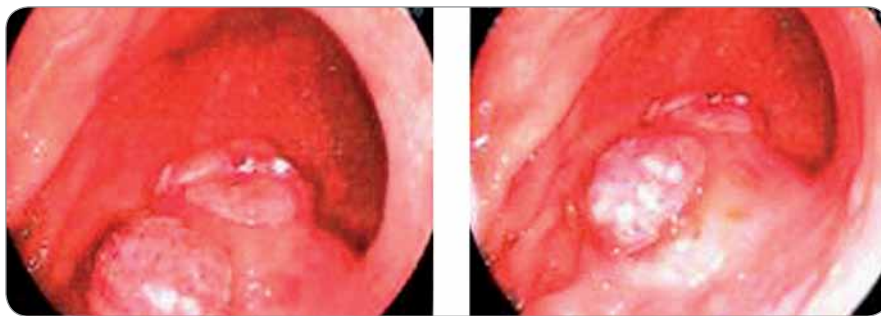


Fig. 1. An endoscopy showing antral gastric ulcerovegetan mass.

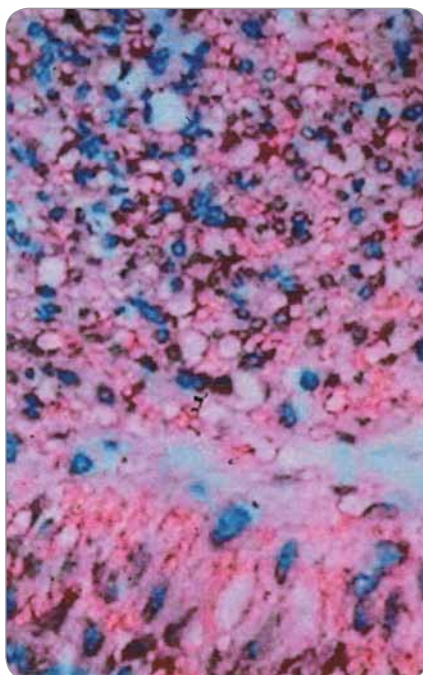


Fig. 2. Histopathological findings showed gastrointestinal stromal tumors (GISTs) (hematoxylin and eosin).



Fig. 3. GISTs metastatic bone lesions in bone scintigraphy.

larity (Fig. 2). **Using an immuno-histochemical staining the tumor was confirmed to overexpress c-kit (CD117) and CD34 protein. It should be noted, that this analysis was performed extramurally due to its unavailability at our institute hence there is no pathology documentation included.** Following the resection, the patient had not received any adjuvant treatment. He was clinically stable and had no record of any untoward mediocal event during the follow-up period.

Six months after the operation he was presented to the hospital with complaints of weakness in the lower limbs. **After physical examination, a lumbar MRI was performed, however, it yielded no specific results. Thus,**

bone scintigraphy was carried out for further clarification. It showed an increased tracer uptake localized in the skull, ribs and both sacroiliac joints (Fig. 3). Bone metastases of primary malignancy were suspected and the examination was supplemented by Fluorodeoxyglucose positron emission tomography-computed tomography (FDG PET/CT) scan for re-staging.

In accordance with bone scintigraphy, FDG PET/CT confirmed the hypermetabolic lesions in patient's ribs and sacroiliac joints (Fig. 4 A, B). **The bone metastases showed increased FDG uptake with mean SUVmax: 4.3 (range 3.6–5.8). The overall character of the bone lesions appeared osteolytic with a small portion of mixed activity de-**

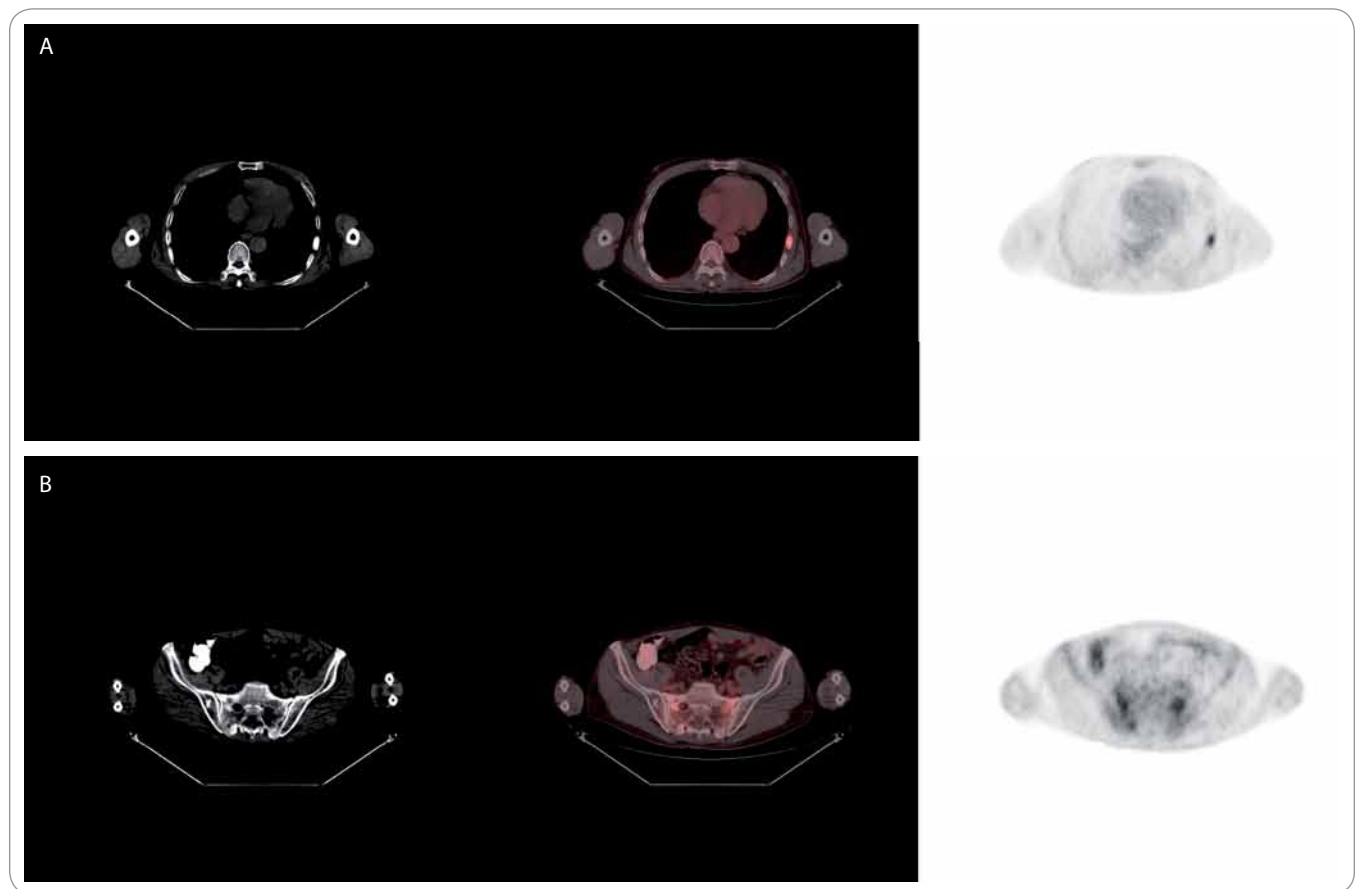


Fig. 4 A, B. GISTs metastatic bone lesions in PET/CT.

ected by CT scans). The patient was commenced on oral imatinib mesylate at a dose of 400mg/day. At the time of this report writing, he has still been receiving the treatment.

Discussion

Gastrointestinal stromal tumors (GISTs) are the most common mesenchymal tumors of the gastrointestinal tract. The term GIST was first coined by Mazur and Clark in 1983 to denote a heterogeneous group of non-epithelial neoplasms of the gastrointestinal tract. GISTs originate from interstitial cells of Cajal – intestinal pacemaker cells that arise from the muscularis propria of the gastrointestinal tract wall [9–11].

Approximately 90% of GISTs stain positively for the receptor tyrosine kinase, KIT (or CD117). Eighty-five percent of tumors harbor mutations in KIT and 5% in platelet-derived growth factor receptor alpha (PDGFRα) domain. In fact, targeting this receptor with a c-kit tyro-

sine kinase inhibitor is of great clinical significance in the treatment of patients with unresectable or metastatic GIST, by reducing the tumor burden and improving survival rate [12–14].

Instead of classifying lesions as either benign or malignant, current guidelines categorize GISTs into low-, intermediate-, or high-risk group, depending on the tumor size and mitotic index. Prediction of the biological behavior of GIST at the time of the initial diagnosis may be difficult, however, large (> 5 cm) tumors, high mitotic activity (> 5 mitoses per highpower field), high cellularity, the presence of necrosis, prominent nuclear pleomorphism, and certain activating c-kit mutations are predictive of malignant behavior [1,14,15].

According to the largest epidemiological analysis to date, which included 1,458 recorded cases [16], or as referred in a study by Miettinen and Lasota [17], GIST have a predilection to adults between 40–50 years of age [16,17].

The clinical presentation of GISTs is primarily dependent on the size. Small tumors (≤ 2 cm) are usually asymptomatic, often detected incidentally via endoscopy or at radiographic examination. The most common symptoms, though not specifically GIST-related, include bleeding, upper abdominal pain, bloating or abdominal pressure and constipation. Occasionally, urgent abdominal complaints, such as massive gastrointestinal bleeding, perforation or bowel obstruction, may occur [18].

Metastatic spread is a hallmark of a malignant behavior of the GIST. Overall, approximately 10–30% of GISTs exhibit malignant behavior. The most frequent site of occurrence is the stomach (60–70%), small intestine (20–25%), colon and rectum (5%), or esophagus (< 5%). GISTs may also develop as primary tumors of the omentum, mesentery or retroperitoneum [2,9].

Bone metastases in GISTs are rare, though nowadays, they are encountered

far more frequently than in the past. This might be due to the advances in imaging techniques and the improvement of patients' overall survival rate following the introduction of tyrosine kinase inhibitors [19].

In the literature, there are only a few reported cases of patients with GIST metastases to the bone [20,21]. Bertulli et al reported 13 out of 278 patients (5%) with GIST who developed bone metastases. In four patients this was the only metastasization site and the other nine cases were associated with another organ invasion [22]. In the study of Jati et al comprising 190 GIST patients, six (3.2%) patients were reported to have bone metastases [23]. As rare as they appear, bone metastases are not an exception in patients with metastatic GIST, and any suspicious bone lesion should therefore be carefully evaluated, in order to prevent a serious bone event or other complications [23].

The detection of bone metastases in patients with GISTs is often based on a clinical presentation by itself (i.e. fractures or bone pain) or is an incidental finding on imaging evaluation. Hereby we emphasize the importance of bone metastases incidence for further clinical practice despite the paradoxical paucity of available data on the sensitivity and specificity of bone scintigraphy and PET [19]. **In this case, the bone metastases showed an increased FDG uptake (mean SUVmax: 4.3; range 3.6–5.8). The overall character of the bone lesions appeared osteolytic with a small portion of mixed activity detected by CT scans). The available literature does not provide consistent data on the treatment of bone metastases in GISTs. In several prospective trials, imatinib mesylate has been reported to have activity against recurrent, metastatic, or unresectable GIST in 50% patients, whereas approximately 75–85% patients achieved a stable**

disease. Imatinib mesylate was proven effective in the treatment of bone metastases of GIST [24]. The patient referred in this work received oral imatinib mesylate at a dose of 400mg/day. At the time of this report writing, he has been receiving this treatment for 19 weeks. In comparison, Bertulli et al reported a 17-month (3–40 m) median survival in 13 patients with GIST metastatic to bones [22].

GISTs are not considered as a radio-sensitive tumor [25], but radiotherapy can be considered as a palliative treatment option. The effect of bisphosphonate administration to a patient with GIST bone lesions is unknown, yet, it is recommended in some of the works[19].

Conclusion

Although bone metastases of GISTs are relatively rare and there are only a few reported cases in the literature, this work gives emphasis on a careful evaluation of any suspicious bone lesions, especially in patients with high-grade (high-risk) GIST.

References

1. Nowain A, Bhakta H, Pais S et al. Gastrointestinal stromal tumors: clinical profile, pathogenesis, treatment strategies and prognosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2005; 20(6): 818–824.
2. Miettinen M, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors: pathology and prognosis at different sites. *Semin Diagn Pathol* 2006; 23(2): 70–83.
3. Demetri GD, van Oosterom AT, Garrett CR et al. Efficacy and safety of sunitinib in patients with advanced gastrointestinal stromal tumour after failure of imatinib: a randomised controlled trial. *Lancet* 2006; 368(9544): 1329–1338.
4. Fletcher CD, Bertmann JJ, Corless C et al. Diagnosis of gastrointestinal stromal tumours: a consensus approach. *Hum Pathol* 2002; 33(5): 459–465.
5. DeMatteo RP, Lewis JJ, Leung D et al. Two hundred gastrointestinal stromal tumors: recurrence patterns and prognostic factors for survival. *Ann Surg* 2000; 231(1): 51–58.
6. Miettinen M, Majidi M, Lasota J. Pathology and diagnostic criteria of gastrointestinal stromal tumors (GISTs): a review. *Eur J Cancer* 2002; 38 (Suppl 5): S39–S51.
7. Burkill GJ, Badran M, Al-Muderis O et al. Malignant gastrointestinal stromal tumor: distribution, imaging features, and pattern of metastatic spread. *Radiology* 2003; 226(2): 527–532.

8. Hersh MR, Choi J, Garrett C et al. Imaging gastrointestinal stromal tumors. *Cancer Control* 2004; 12(2): 111–115.
9. Ozan E, Oztekin O, Alacacioğlu A et al. Esophageal gastrointestinal stromal tumor with pulmonary and bone metastases. *Diagn Interv Radiol* 2010; 16(3): 217–220.
10. Mazur MT, Clark HB. Gastric stromal tumors. Reappraisal of histogenesis. *Am J Surg Pathol* 1983; 7(6): 507–519.
11. Kindblom LG, Remotti HE, Aldenborg F et al. Gastrointestinal pacemaker cell tumor (GIPACT): gastrointestinal stromal tumors show phenotypic characteristics of the interstitial cells of Cajal. *Am J Pathol* 1998; 152(5): 1259–1269.
12. Medeiros F, Corless CL, Duensing A et al. KIT-negative gastrointestinal stromal tumors: proof of concept and therapeutic implications. *Am J Surg Pathol* 2004; 28(7): 889–894.
13. Levy AD, Remotti HE, Thompson WM et al. Gastrointestinal stromal tumors: radiologic features with pathologic correlation. *Radiographics* 2003; 23(2): 283–304.
14. Joensuu H, Fletcher C, Dimitrijevic S et al. Management of malignant gastrointestinal stromal tumors. *Lancet Oncol* 2002; 3(11): 655–664.
15. Rubin BP. Gastrointestinal stromal tumours: an update. *Histopathology* 2006; 48(1): 83–96.
16. Tran T, Davila JA, El-Serag HB. The epidemiology of malignant gastrointestinal stromal tumors: an analysis of 1,458 cases from 1992 to 2000. *Am J Gastroenterol* 2005; 100(1): 162–168.
17. Miettinen M, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors (GISTs): definition, occurrence, pathology, differential diagnosis and molecular genetics. *Pol J Pathol* 2003; 54(1): 3–24.
18. Bucher P, Villiger P, Egger JF et al. Management of gastrointestinal stromal tumors: from diagnosis to treatment. *Swiss Med Wkly* 2004; 134(11–12): 145–153.
19. Di Scioscio V, Greco L, Pallotti MC et al. Three cases of bone metastases in patients with gastrointestinal stromal tumors. *Rare Tumors* 2011; 3(2): e17. doi: 10.4081/rt.2011.e17.
20. Abuzakhm SM, Acre-Lara CE, Zhao W et al. Unusual metastases of gastrointestinal stromal tumor and genotypic correlates: case report and review of the literature. *J Gastrointest Oncol* 2011; 2(1): 45–49. doi: 10.3978/j.issn.2078-6891.2011.006.
21. Miyake M, Takeda Y, Hasuie Y et al. A case of metastatic gastrointestinal stromal tumor developing a resistance to STI571 (imatinib mesylate). *Gan to Kagaku Ryoho* 2004; 31(11): 1791–1794.
22. Bertulli R, Fumagalli E, Coco P et al. Unusual metastatic sites in gastrointestinal stromal tumor (GIST). *J Clin Oncol* 2009; 27 (15 Suppl): 10566.
23. Jati A, Tatli S, Morgan JA et al. Imaging features of bone metastases in patients with gastrointestinal stromal tumors. *Diagn Interv Radiol* 2012; 18(4): 391–396. doi: 10.4261/1305-3825.DIR.5179-11.1.
24. Stamatakis M, Douzinas E, Stefanaki C et al. Gastrointestinal stromal tumor. *World J Surg Oncol* 2009; 7: 61. doi: 10.1186/1477-7819-7-61.
25. Blanke CD, Eisenberg BL, Heinrich MC. Gastrointestinal stromal tumors. *Curr Treat Options Oncol* 2001; 2(6): 485–491.

Knowledge Transfer at the RECAMO Summer School of 2013

Předávání znalostí na letní škole Regionálního centra aplikované molekulární onkologie v roce 2013

Sheard MA¹, Zdrzilova-Dubska L.²

¹ Children's Hospital Los Angeles, Los Angeles CA, U.S.A.

² Department of Laboratory Medicine and Regional Centre for Applied Molecular Oncology, Masaryk Memorial Cancer Institute, Brno, Czech Republic

Summary

Scientists early in their careers do not often get a chance to meet with their peers in a well-structured professional environment to discuss and compare their initial experiences and results. Creating just such an opportunity, a meeting held on August 18–22, 2013 in Litohor, Czech Republic, titled 'Summer School – Methods of Basic and Translational Cancer Research', was organized by the Regional Centre of Applied Molecular Oncology at the Masaryk Memorial Cancer Institute and funded by IntegRECAMO project (EU funds, reg. no. CZ.1.07/2.3.00/20.0097). The participants included senior and junior scientists, as well as PhD students. Educational activities involved various formats: 1. hands-on activities, 2. educational talks, 3. junior and PhD student talks with many presentations in English, 4. science-related excursions, 5. an environment for informal researcher interactions, 6. reports from visits to distant laboratories. Each participant spoke for 20 minutes or more, introducing the methods performed in their laboratory and sharing their recently obtained data. The talks ranged from basic and pre-clinical research to clinical methods. In this report, basic and pre-clinical research is presented first, followed by clinically relevant methods and practices. Here we present overview of selected talks.

Key words

education – molecular biology – methodology – statistics – laboratory research – cancer

Souhrn

Na počátku své profesionální kariéry vědci často nemají příležitost k strukturované interakci se svými kolegy a možnost porovnávat a diskutovat své zkušenosti a dosavadní výsledky. Regionální centrum aplikované molekulární onkologie (RECAMO) Masarykova onkologického ústavu vytvořilo příležitost pro setkání vědců v podobě letní školy zaměřené na metody základního a aplikovaného výzkumu v onkologii. Účastníky letní školy, která se konala 18.–22. srpna 2013 v Litohoři za podpory projektu IntegRECAMO (EU fondy, OP VK, CZ.1.07/2.3.00/20.0097), byli mladí výzkumníci a Ph.D. studenti, ale také výzkumníci senioři. Letní škola se skládala z několika typů edukačních aktivit: 1. praktická výuka, samostatné práce a ukázky (workshopy „biostatistika a analýza dat“ a „celogenomové sekvenování“, 2. edukační přednášky, 3. prezentace výsledků mladých vědců a Ph.D. studentů, zpravidla v anglickém jazyce, 4. exkurze do technologických provozů, 5. neformální interakce, 6. reporty z pracovních cest do zahraničních a tuzemských laboratoří. Vybrané přednášky, které zazněly na letní škole, informující o aktuálních přístupech a výsledcích základního, preklinického i klinického výzkumu jsou shrnuty v tomto příspěvku.

Klíčová slova

vzdělávání – molekulární biologie – metodologie – statistika – laboratorní výzkum – nádorové procesy

The work was supported by the European Regional Development Fund and the State Budget of the Czech Republic (RECAMO, CZ.1.05/2.1.00/03.0101).

Tato práce byla podpořena Evropským fondem pro regionální rozvoj a státním rozpočtem České republiky (RECAMO, CZ.1.05/2.1.00/03.0101).

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.



RNDr. Lenka Zdrzilova Dubska, Ph.D.
Department of Laboratory Medicine
and Regional Centre for Applied
Molecular Oncology
Masaryk Memorial Cancer Institute
Zluty kopec 7
656 53 Brno
Czech Republic
e-mail: dubska@mou.cz

Submitted/Obdrženo: 11. 11. 2013

Accepted/Přijato: 12. 11. 2013

MicroRNAs (miRNAs) are short species of RNA that are 18–22 nucleotides in length. MiRNAs regulate approximately half of all protein-coding genes. In general, any one miRNA can regulate many genes (20–200), and some miRNAs can exert oncogenic while others exert tumor suppressor activity. On this topic, Jaroslav Juracek (Masaryk University) discussed the role of miRNAs in triple negative (ER-PR-Her2-) breast cancers (TNBC), which represent approximately 15% of all breast cancer cases. TNBC cannot be treated with therapies that target estrogen receptor, progesterone receptor, or the Her2 receptor, and therefore identification of new targets for TNBC is needed. Juracek and colleagues used quantitative RT-PCR to detect 7 miRNAs that were identified in the literature as possible targets, namely miR-205, 24-2, 99, 125b, 146, 187, and 505. Eighty-one samples from TNBC patients were evaluated for expression of the 7 selected miRNAs, and an association with improved prognosis was observed for miR-205 and miR-505. Because miR-205 has already been intensely studied by others, Juracek and colleagues decided to select the less studied miR-505 for further analysis, and included miR-187 based on findings reported in the literature. TNBC cell lines MDA-MB231 and BT474 were chosen and transfected with miR-187 and miR-505. Scratch wound assays demonstrated a suppressive effect of miR-187 and miR-505 on the migration of both cell lines. Of these two candidate miRNAs, however, only miR-505 reduced proliferation of the cell lines, and preliminary results suggest this reduction is caused by a G1 cell cycle arrest. Future plans include replication of these experiments in other TNBC cell lines, 3D *in vitro* invasion assays, and identification of target proteins using co-immunoprecipitation.

Jitka Mlcochova (Masaryk University) and colleagues have been working to determine miRNAs expression profiles of metastatic colorectal carcinoma patients with wt-*KRAS* who were treated with cetuximab and to identify those of predictive significance. Using microarrays and qRT-PCR, they compared 21 patients who responded to anti-EGFR

therapy versus 23 who did not. They found that miR-31 and miR-31* were significantly lower in responders compared to non-responders, and a combination of miR-31 plus miR-31* was able not only to stratify responders from non-responders, but their higher level also correlated with shorter time to progression and lower overall survival.

The famous tumor suppressor gene *TP53* has two other family members, *TP63* and *TP73*. Paulina Orzol (Masaryk Memorial Cancer Institute – MMCI) presented a review of this gene family, revealing that all three family members can regulate cell cycle arrest and apoptosis, but to different degrees and in different tissues. The *TP53* gene is the most frequently mutated gene across all cancer types, in slightly more than 50% of all human cancers. Unlike *TP53*, *TP63* is rarely mutated in the small subset of cancers in which it is expressed; e.g., B-cell lymphomas. This is in spite of the fact that p63 can induce apoptosis and inhibit metastasis. In normal development, p63 is involved in epidermal development. In contrast, p73 is involved in neural development and participates in determining neural structures. Like p63, p73 is expressed in only a subset of cancers. There are several isoforms of the p73 protein. Among the isoforms, the TAp73 isoform is overexpressed in several cancers (egg. breast, ovary, melanoma) and can act as a tumor suppressor by inducing cycle arrest and apoptosis. In contrast, the Δ p73 isoform is considered to be an oncogene owing to its ability to interfere with p53 and TAp73 activity. The p73 gene can be methylated and is thereby down-regulated in many hematological malignancies, possibly preventing its tumor suppressor activity. Research into p73-based therapies includes modulation of the TA/ Δ N ratio of p73, and development of miRNAs to inhibit Δ Np73.

Cancer cell lines grown *in vitro* are routinely used as models intended to represent cancer cells *in vivo*. Michael Sheard (Children's Hospital Los Angeles) gave a presentation in favor of establishing all future cell lines in physiologic levels of oxygen (O_2) such as 5% O_2 rather than the common practice of

using room air (~ 20% O_2). Specimens from 12 acute lymphoblastic leukemia (ALL) patients were obtained and three grew successfully as newly established cell lines in both 20% and 5% O_2 . Whole genome analysis indicated that the cell lines established in 20% O_2 had lower expression of glycolysis genes than their sister cell lines in 5% O_2 , which was confirmed by RT-PCR and immunoblotting. Cell lines established in 20% O_2 also consumed less glucose and produced less lactate, indicative of lower glycolysis. These effects could only be partially reversed by moving cell cultures from 20% to 5% O_2 or from 5% to 20% O_2 for eight weeks. Since aerobic glycolysis is a hallmark of cancer, the lower level of glycolysis in cells established in atmospheric O_2 suggests that these cells are less representative of the original cancer. These results argue that ALL cell lines should be established at the onset in physiologic levels of O_2 to preserve aerobic glycolysis. It has been previously described how researchers working with cell types other than ALL identified reasons for preferring physiologic O_2 rather than atmospheric O_2 , such as improved outcomes in cell-type specific functional assays [1].

The high rate of proliferation of many cancer cells identifies proliferation itself as a therapeutic target. Proliferating cells must generate new copies of their DNA, and the targeting of DNA with compounds such as cisplatin has long been an established therapeutic approach. Lucie Koubkova (MMCI) presented an introduction to organometallic compounds. While cisplatin is the most well-known of these compounds, it has substantial side-effects. Carboplatin has fewer side effects than cisplatin and oxaliplatin and has found its way into the therapeutic regimen of some cancer types. Other drugs are still in investigational stages, including satraplatin, lipoplatin and non-platinum organometallic drugs (metallocenes), such as the ruthenium-based drugs NAMI-A, DW12, and its derivative NP309. Koubkova and colleagues are investigating the titanocene family of drugs. Titanocene dichloride was previously tested in phase I and II clinical trials, but was even-

tually found to be too reactive for therapeutic use. Koubkova and colleagues are continuing the search for titanocene derivatives exhibiting an improved therapeutic index.

Determining the dynamic structural changes in proteins can aid our understanding of protein architecture and protein : protein interactions, but such changes are poorly resolved by classical crystallographic methods. Multidisciplinary approaches involving NMR, small angle X-ray scattering, and hydrogen/deuterium (H/D) exchange may offer increased resolution of protein structural and conformational models. Filip Trcka (MMCI) and colleagues are using H/D exchange methodology to elucidate the binding properties of tetratricopeptide repeat (TPR) domains in the TOMM34 protein. TOMM34 appears to have TPR domains with conserved amino acid positions responsible for formation of a dicarboxylate clamp. Dicarboxylate clamps represent electrostatic modules capable of binding to the C-terminal aspartate residues of the chaperone proteins HSP70 and HSP90. H/D exchange experiments showed a decreased level of deuteration of TOMM34 peptides corresponding to the TPR domains after addition of HSP70/90 C-terminal peptides, suggesting that the dicarboxylate clamp in the TOMM34 TPR domains is functional. Characterization of protein structural changes using the H/D exchange method and nano-machinery such as dicarboxylate clamps will expand our ability to understand the dynamic nature of the proteome and will extend our ability to develop targeted applications and therapies.

Electrochemistry allows analysis of proteins and nucleic acids in an inexpensive format. Martin Bartosik (MMCI) reviewed the strengths (low cost, simple instrumentation and short time of analysis) and challenges (sensitivity, reproducibility) of this methodological approach, giving a description of some current trends, including DNA hybridization detection employing ELISA format as well as utilization of nanotechnologies, protein-ligand interactions, and detection of miRNAs. A current trend in

electrochemistry is DNA hybridization assays, construction of microarrays and chips and detection of biomarkers [2]. Recent results with DNA methylation analyses, protein-ligand interactions and detection of miRNAs were also mentioned.

In oncology, proteomics can focus on functional studies, protein : protein interactions, protein structural characterization (glycosylation, acetylation, phosphorylation), search for biomarkers, and verification and quantification of biomarkers. Pavel Bouchal (MMCI, Masaryk University) reviewed the options for protein fractionation, mass spectrometry and software relevant to proteomics. The general workflow is to generate the initial biological or clinical idea, design experiments, extract the protein of interest, cleave the protein into peptides, fractionate, analyze by mass spectrometry, thereby identifying and quantifying the protein, and statistical analysis.

Giving an overview of sample preparation options for mass spectrometry, Lenka Hernychova (MMCI) provided a broad overview of methods for relative and absolute quantification of proteins in complex biological samples. When preparing samples for quantitative mass spectrometry measurement, a researcher can choose between enzymatic, metabolic or chemical labeling of proteins and/or peptides.

Cell surface proteins are easily accessible targets and therefore are of interest therapeutically. Jakub Faktor (Masaryk University, MMCI) and colleagues compared differences in surface proteins of MDA-MB-231 breast carcinoma cells with a variant clone that exhibits increased migratory ability. Surface proteins generally have high hydrophobicity and are therefore somewhat difficult to isolate in solution for mass spectrometry. Faktor labeled the extracellular domains of surface proteins with a reactive ester of biotin and then purified them on streptavidin sepharose, followed by fractionation by gel electrophoresis. Proteins were identified and quantified using an Orbitrap mass spectrometer. One hundred and thirty-nine proteins were found to be up-regulated in the more migrating variant (fold change > 1.5), and

38 of these proteins contained a transmembrane domain. Two hundred and twenty-eight proteins were down-regulated (fold change < 0.7), 91 of which contain a transmembrane domain. Several integrins were found among the down-regulated proteins, which might help explain the increased migratory capacity. Future work will include examination of whether any of these proteins are similarly affected in other cell lines upon selection of variants with increased migratory ability.

Cancer stem cells have been a topic of much interest in recent years. Alena Nunukova and colleagues are investigating putative stem cells in rhabdomyosarcoma. Four rhabdomyosarcoma cell lines expressing the myogenic marker Myo-D1 were examined for stem cell markers and a subpopulation of each cell line was found to express CD133, AC133 and nestin. These cell lines are being used in ongoing studies of rhabdomyosarcoma stem cells, are awaiting examination for expression of ABC drug transporters and might benefit from correlative methods, such as side population analysis that functionally measures drug efflux, a well-studied trait of stem cells. Other future plans include sorting of stem cell marker-expressing cells for functional progenitor cell assays such as the limiting dilution sphere-forming assay and *in vivo* tumorigenicity assay.

Resistance of cancer cells to drugs remains a major obstacle for cancer therapy. Multidrug-resistant cancer cells can be rendered drug-sensitive by inducing release of proteases from lysosomes. Blanka Jancekova (Masaryk University) reviewed how lysosomal membrane permeabilization can induce apoptosis. The lysosomal protease cathepsin D is ubiquitously expressed and can be released from lysosomes following treatment with specific drugs. MDA-MB-231 breast cancer cells were engineered to overexpress cathepsin D; among a group of therapeutic modalities examined, the TRAIL death ligand was the most active in inducing apoptosis in cathepsin D overexpressing cells but not in non-transfected parental cells. For this reason, Jancekova and colleagues decided to study TRAIL fur-

ther. Bafilomycin, an inhibitor of lysosomal activity, was found to suppress both caspase-8 activation and apoptosis downstream of treatment with TRAIL. Interestingly, a low dose (10 ng/ml) of TRAIL was sufficient to induce release of cathepsin D, which is notable given a recent report that natural killer cells obtained from cancer patients and activated *ex vivo* can release soluble TRAIL at concentrations of 22 ng/ml in an NK cell expansion system that is being developed for adoptive cell therapy in phase I clinical trials.

Replication-deficient adenoviruses are expected to become increasingly useful for delivery of vaccines and immunotherapeutics. However, the effects of adenoviruses on inflammation *in vivo* are poorly understood, and attack by natural killer cells could undesirably dampen the effects of therapies that utilize adenovirus delivery systems. To address this issue, Mariana Pjechova (MMCI) and colleagues are using the replication-deficient adenovirus vector AdZ2 produced in HEK-293 embryonic kidney cells or 911 embryonic reti-

noblasts cells. AdZ2 has deletion of regions E1, E3, and E4 (ex. E4ORF6). By comparing AdZ2 with the adenovirus AdEasy that has deletions in only regions E1 and E3, Pjechova and colleagues found that deletion of the E4 region causes a decrease in activation of natural killer cells, measured as decreased expression on 293 and 911 cells of MICA, a ligand for the NK cell-activating receptor NKG2D. Further changes in signaling pathways caused by these vectors were revealed by examination of the phosphoproteome in cells infected by AdEasy and AdZ2 using an Orbitrap Elite mass spectrometer. Future plans include cytotoxicity assays examining the effect of decreased MICA.

The Bank of Biological Material (BBM) which was established at MMCI in 2000 is nowadays the national coordinator of EU Biobanking and Biomolecular Resources Research Infrastructure (BBMRI) in the Czech Republic. As described by Kristina Greplova (MMCI), collection of clinical specimens is currently being performed in collaboration with institutes in Prague, Hradec Kralove and Olomouc. In the

BBM, primary tumors, operable metastases, and (when appropriate) healthy tissues are cryopreserved in liquid nitrogen for future analyses. To provide material for quantification of biomarkers, specimens are stored short-term; for example, serum is stored for up to one year. To enable the potential for follow-up analysis, long-term storage of tumor material from each patient is also done. For assays examining RNA, specimens are first preserved in either liquid nitrogen or in RNeasy lysis solution, and then RNA is purified at a later date. For genetic studies, an aliquot of genomic DNA and whole blood is archived for later examination. These approaches enable long-term studies and correlation with subsequently acquired clinical data, providing an invaluable resource for researchers and clinicians.

References

1. Liu Y, Wu HW, Sheard MA et al. Growth and activation of natural killer cells *ex vivo* from children with neuroblastoma for adoptive cell therapy. *Clin Cancer Res* 2013; 19(8): 2132–2143.
2. Palecek E, Bartosik M. Electrochemistry of nucleic acids. *Chem Rev* 2012; 112(6): 3427–3481.

Erratum

V *Klin Onkol* 2013; 26 (Suppl): S7–S12 byli v článku „Petráková K et al. Prekursori karcinomu prsu“ chybně uvedeni spoluautoři článku. Na žádost autorů uvádíme správnou verzi.

Petráková K.¹, Nenutil R.², Palácová M.¹

¹ Klinika komplexní onkologické péče, Masarykův onkologický ústav, Brno

² RECAMO, Masarykův onkologický ústav, Brno

The incorrect version of the names of co-authors were published in „Petráková K et al. Precursors of Breast Cancer“, *Klin Onkol* 2013; 26 (Suppl): S7–S12. At the request of the authors, we publish the correct version.

Petráková K.¹, Nenutil R.², Palácová M.¹

¹ Klinika komplexní onkologické péče, Masarykův onkologický ústav, Brno

² RECAMO, Masarykův onkologický ústav, Brno

Biosimilars (ne)jen v onkologii – dnešní realita i budoucnost

Demlová R.^{1,2}

¹ Oddělení klinických hodnocení, Masarykův onkologický ústav, Brno

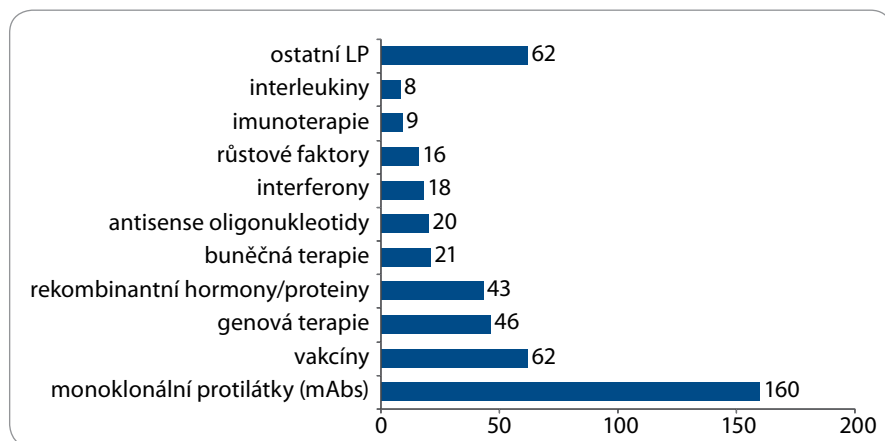
² Farmakologický ústav LF MU, Brno

Výbor pro léčivé humánní přípravky (CHMP) Evropské lékové agentury (EMA) na svém letošním červnovém zasedání doporučil k registraci první dvě monoklonální protilátky z kategorie biosimilars. **Remsima** (Celltrion Healthcare) a **Inflectra** (Hospira UK) jsou obchodní názvy pro biosimilars k infliximabu a jejich doporučené použití je shodné s originálním přípravkem **Remicade**, který je v Evropě registrován od roku 1999 v indikacích revmatoidní artritidy, Crohnovy choroby, ulcerózní kolitidy, ankylozující spondylitidy, psoriatické artritidy a psoriázy. V průběhu roku 2013 vyprší patent další z monoklonálních protilátek, přípravku Rituximab společnosti Roche/Genentech, který patří k nejúspěšnějším biotechnologickým lékům, jehož celkové tržby dosáhly v roce 2012 7,2 miliardy USD. Rituximab je tak logicky v zájmu biotechnologických firem, které se zaměřují na vývoj biosimilars. Již dnes se předpokládá, že po vypršení patentu se chystá vstoupit na trh několik biosimilars originálního rituximabu. Obdobně je tomu u trastuzu-

mabu, jehož patent vyprší v EU v roce 2014, další biotechnologicky připravovaná léčiva budou zřejmě následovat.

Pro upřesnění, v úvodu zmíněného infliximabu se nejedná o první léčivé přípravky z celé kategorie biosimilars, které jsou v Evropě registrovány. V roce 2006 uvedla na trh EU první biosimilar, růstový hormon Omnitrope®. Dalšími biologickými léky, které již v EU ztratily patentovou ochranu, jsou např. erythropoetin, granulocytární kolonie stimulující faktor (G-CSF) nebo růstový hormon. V případě infliximabu jde o první biosimilars z kategorie monoklonálních protilátek, kterých je ve vývoji zastoupeno nejvíce (graf 1).

Je tedy zcela nepochybné, že již nyní, ale zejména v blízké budoucnosti, se budou naši lékaři ve své každodenní praxi s registrovanými biosimilárními přípravky potkávat. Správné pochopení podstaty vývoje a výroby biosimilars, včetně alespoň základní orientace v regulačních opatřeních, nastavených EMA v rámci EU, je tak nepochybně stále aktuálnější [1].



Graf 1. Biosimilars ve vývoji [2].

Práce byla podpořena Evropským fondem pro regionální rozvoj a státním rozpočtem České republiky (OP VaVpI – RECAMO, CZ.1.05/2.1.00/03.0101) a projekty Velkých infrastruktur MŠMT LM2011017.



MUDr. Regina Demlová, Ph.D.
Oddělení klinických hodnocení
Masarykův onkologický ústav
Žlutý kopec 7
656 53 Brno
e-mail: demlova@mou.cz

Obdrženo/Submitted: 12. 12. 2013

Z hlediska základní definice můžeme říci, že pojem biosimilars je používán pro léčivé látky, které jsou vyvíjeny a uváděny na trh po vypršení patentové ochrany originálních biotechnologicky vyráběných léčiv. V zámoří se pro stejnou skupinu používá termín Follow-on-Biologics (FOBs).

Biotechnologická léčiva mají ve srovnání s chemicky definovanými léčivy mnoho odlišností, které znesnadňují nebo takřka znemožňují jejich, byť legální, „kopírování“. Biosimilars tedy nejsou a z podstaty ani nemohou být prostými kopiemi originálních biotechnologických léčiv a regulační úřady k nim ani takto nepřistupují.

Zásadním důvodem je ten fakt, že biotechnologická léčiva jsou vyráběna v živých buňkách a unikátních tkáňových liniích, mají velmi komplexní heterogenní strukturu, kterou často nelze zcela přesně definovat, jsou přirozeně variabilní a také nestabilní. Jako látky bílkovinné povahy vytvářejí složité terciární a kvartérní struktury a ze své povahy jsou kriticky závislé na okolním prostředí.

Tab. 1. Data předkládaná při registraci [3].

Vývoj	Preklinika	Klinické studie
Léčivá látka • charakteristika • výroba • kontrola • standardizace • obal • stabilita	Farmakologie • akutní toxicita • subchronická toxicita • bezpečnostní farmakologie • interakce	Farmakologie
Léčivý přípravek • charakteristika • výzkum • výroba • kontrola • standardizace • obal • stabilní studie	Farmakokinetika • ADME • interakce	Farmakokinetika • jednorázové podání • opakované podání • speciální populace
Srovnávací studie • analytické studie s referenčním přípravkem	Toxikologie • jednorázové podání • opakované podávání • genotoxicita • karcinogenita • reprodukční toxicita • lokální toxicita	Účinnost a bezpečnost • dávka • dávkový interval
		Pivotní studie • Indikace 1 • Indikace 2 • Indikace 3 • Indikace 4
		Farmakovigilační studie • bezpečnost v širší populaci • účinnost v dalších indikacích • imunogenicita

Tato extrémní složitost vede k tomu, že tyto látky, resp. jejich bezpečnostní profil a účinnost jsou velmi snadno ovlivnitelné jakoukoli, i velmi drobnou, odchylkou ve výrobním postupu. Procesy jako glykosylace, případně další substituce proteinového řetězce, procesy purifikace a podobně sehrávají ve výrobním postupu a koncovém produktu zásadní roli. I sebemenší popsané odchylky ve výrobním procesu totiž mohou změnit biologickou funkci nebo imunogenicitu léčivého přípravku [4].

Z výše uvedeného je jasné, že zde nejde o pouhou kopii biotechnologicky vyráběného léku, ale do jisté míry o originál, který je původnímu biologickému léku pouze podobný. Tento fakt reflektuje i označení celé skupiny léčiv – název biosimilar. Vzhledem k nevyhnutelným rozdílům ve výrobních procesech tak nemůže být biosimilární léčivo zcela identické jako původní referenční originální přípravek.

Tyto skutečnosti byly a jsou reflektovány i doporučeními a následnými požadavky regulační autority, Evropské lékové agentury (EMA), která prostřednictvím svého výboru CHMP jako jediná

může vyslovit doporučení k registraci biosimilars. Registrace těchto léčivých přípravků může probíhat pouze centralizovaně, nikoliv národními procedurami.

Regulační rámec v Evropě

První směrnici týkající se schvalování biosimilars publikovala EMA v roce 2003, první podobný biologický přípravek byl registrován v roce 2006. Legislativní normou, která na území EU řídí problematiku biosimilars, je v tuto chvíli směrnice 2004/27/EC. K ní jsou vydávány související guidelines EMA, které konkretizují požadavky kladené na registrační proceduru u jednotlivých typů molekul.

Jaká data je tedy nutno doložit v žádosti o registraci biosimilars? Je nezbytné doložit údaje o toxicitě ze studie na zvířatech, dále farmakokinetickou studii s různým způsobem podání přípravku, provedenou na zdravých dobrovolnících. Dále musejí být doloženy údaje z klinických studií, zaměřené na hodnocení účinnosti a bezpečnosti, se zvláštním zřetelem na výše zmíněnou imunogenicitu. Pravdou ale je, že v tuto chvíli je dostačující, pokud jsou předložena data z klinické studie pouze v jedné

indikaci (tab. 1). Kromě těchto obecných kritérií vytvořila a publikovala EMA i specifické požadavky pro jednotlivé typy biologických přípravků (dostupné na www.ema.europa.eu – special topics – biosimilars) [5].

V návrhu evropské směrnice pro „biosimilární“ monoklonální protilátky je stanoven design studií, ověřujících biologickou podobnost včetně hodnocené populace, farmakodynamických parametrů a cílů těchto klinických hodnocení.

Případná registrace biosimilars je provázána i povinností intenzivního farmakovigilančního sledování po uvedení léčiva na trh, tedy sledování bezpečnosti přípravku včetně vyhodnocení imunogenicity. Tato skutečnost je velmi podstatná vzhledem k limitované délce sledování, jež je požadováno pro registraci, a kvalitní farmakovigilanční sledování je tak naprosto klíčové. Rovněž je dobré připomenout, že bioekvivalenční data, na základě nichž jsou biosimilární léčiva registrována, bývají předkládána pro potřeby registrace jen u vybraných indikací. I z tohoto důvodu by rozhodnutí o použití nového biosimilárního léčiva mělo být v kompetenci ošetřujícího lékaře.

Faktorem, který komplikuje přehlednost trhu, na kterém se vyskytují biosimilární produkty, je nejednoznačnost pojmenovávání INN názvy. Vzniká tak situace, kdy u epoetinu alfa jsou některé biosimilární produkty označeny stejně jako původní přípravek, tedy epoetin alfa, jiné epoetin zeta. To je poněkud zavadějící a navíc, bez znalosti výrobního názvu, nelze u některých přípravků odlišit originální a biosimilární produkt. Tím je mj. znemožněna generická substituce těchto látek.

Závěrem je možné konstatovat, že v rámci evropské legislativy jsou nastavena jasná pravidla, která musí být pro registraci biosimilars dodržena a jejichž cílem je registrovat a uvést na trh pouze takové přípravky, jež jsou prokazatelně kvalitní, účinné a pro pacienty bezpečné. Současně je ale nutno dodat, že se regulační prostředí v tomto segmentu léčivých přípravků vyvíjí a je nutné sledovat vývoj legislativy.

Hlavním přínosem uvádění biosimilars na trh je samozřejmě zejména zvyšování

dostupnosti těchto přípravků díky snižování jejich nákladů. Je nepochybné, že objem nákladné péče zahrnující i nová originální léčiva do budoucna poroste. Příchod nových léků do praxe a rozšiřování indikací stávajících přípravků bude závislý hlavně na finančních možnostech systému. Cílená léčba většího počtu pacientů bude možná za předpokladu významného snížení ceny tzv. biologických léčiv. Zavádění biosimilars tedy představuje jednu z možných cest, jak udržet náklady na léčiva v přijatelné úrovni. Vzhledem k neporovnatelně vyšším nákladům na zavedení biosimilárního léčiva na trh oproti generiku

je dosažitelná poměrná úspora proti originálnímu přípravku rozhodně nižší (náklady na zavedení na trh jsou odhadovány na 70 % oproti originálu). Vždy je však třeba pečlivě hodnotit i případná rizika. V případě těchto přípravků je podstatná znalost chování v reálné praxi, kterou je však obtížné simulovat v registračních studiích. Přístup k zavádění biosimilárních léčiv do praxe se ve státech EU různí. Přestože potřeba ekonomických úspor, jež pravděpodobně nebudou tak velké jak se očekávalo, je nasnadě, přímá substituce těchto léčiv od prvního uvedení na trh se vzhledem k povaze těchto léčiv nejeví jako vhodná

alternativa. Jejich postupné zavádění a získávání zkušeností s jejich používáním se v tuto chvíli jeví jako optimální cesta.

Literatura

1. Kresse GB. Biosimilars – science, status, and strategic perspective. *Eur J Pharm Biopharm* 2009; 72(3): 479–486. doi: 10.1016/j.ejpb.2009.02.014.
2. Egagenerics.com [homepage on the internet]. European Genetic Medicines Association. c2004–2012 EGA. Available from: www.egagenerics.com.
3. Ema.europa.eu [homepage on the internet]. European Medicines Agency. United Kingdom c1995–2014 EMA. Available from: www.ema.europa.eu.
4. Krämer I. Pharmacy and pharmacology of biosimilars. *J Endocrinol Invest* 2008; 31(5): 479–488.
5. Zuñiga L, Calvo B. Biosimilars approval process. *Regul Toxicol Pharmacol* 2010; 56(3): 374–377.

Zajímavé případy z nutriční péče v onkologii

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

¹ Pracovní skupina nutriční péče v onkologii

² Komplexní onkologické centrum, Nemocnice Nový Jičín, a.s.

³ Onkologická klinika 1. LF UK a VFN v Praze

⁴ Ústav radiační onkologie, Nemocnice Na Bulovce, Praha

⁵ Gastroenterologické oddělení, Masarykův onkologický ústav, Brno

⁶ Interní onkologická a hematologická klinika LF MU a FN Brno

⁷ Úsek léčebné výživy, Masarykův onkologický ústav, Brno

⁸ Interní oddělení, Nemocnice Na Homolce, Praha



Kazuistika č. 5

Pětapadesátiletý muž podstoupil v únoru 2012 subtotální gastrektomii a následně pooperační radiochemoterapii pro lokoregionálně výrazně pokročilý karcinom. V září téhož roku byl pro ileus explorativně laparotomován s nálezem plastronu zaujímajícího supramesocolickou část dutiny břišní bez možnosti provedení paliativní spojky. Byla zavedena derivační nasogastrická sonda a pacient byl přeložen k symptomatické terapii na onkologické oddělení. Subjektivně byl bez obtíží, objektivně pokles tělesné hmotnosti na 60 kg z původních 82 kg, BMI 19,4 kg/m², hodnoty krevních bílkovin byly ještě v normě. Pacient byl pravdivě informován, že jeho prognóza je zcela infaustní.

Nutričně-metabolický pohled

Enterální výživa v této situaci možná není.

Bez parenterální intervence zemře pacient během dnů až týdnů na dehydrataci a metabolický rozvrat. S pouhou i.v. hydratací zemře v řádu týdnů za hospitalizace na energetické vyčer-

pání, pravděpodobně s dekubity a/nebo v sepsi.

Pacient splňuje základní podmínky onkologické domácí parenterální výživy (Bozzetti, 2006):

1. Nedostatečná výživa limituje přežití významně více než nádor sám.
2. S ohledem na nepřítomnost metastáz ve viscerálních orgánech lze reálně očekávat alespoň tříměsíční přežití.
3. Performance status je v rozmezí ECOG 0–2.
4. Pacient i rodina jsou plně informováni o rizicích domácí parenterální výživy a tuto variantu volí.

Domácí parenterální výživa je v ČR dobře dostupná ve 20 specializovaných centrech, plně hrazená zdravotními pojišťovnami, její kvalita je na vysoké úrovni.

Návrh řešení

U pacienta byl zajištěn permanentní centrální žilní vstup formou centrálního katetru implantovaného z periferie cestou v. basilica (tzv. PICC). Byla zahájena aplikace preformovaného tříslučko-



MUDr. Viktor Maňásek

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

Obdrženo/Submitted: 11. 1. 2014

vého vaku parenterální výživy. Byla zajištěna home-care asistence k aplikaci výživy a bazálně edukován pacient i rodina. Bydlištěm příslušná nutriční ambulance převzala pacienta plně do péče. Pacient prožil ve velmi dobré kvalitě života tři měsíce v domácím prostředí a až poté podlehl rychlé generalizaci nádoru, v poslední dny již jen na bazální dávce hydratace.

Doporučujeme ke stažení z internetu

Pracovní skupina domácí parenterální výživy SKVIMP:
http://dpv.skvimp.cz/?act=sh_cat&cat=1

Přehled ambulaní domácí parenterální výživy s kontakty: http://dpv.skvimp.cz/?act=sh_cat&cat=14

POMÁHÁ UDRŽET NEBEZPEČÍ mCRPC POD ZÁMKEM*



Prodlužte chvíle pohody zkrocením mCRPC*

XTANDI je cílená léčba metastatického kastrálně rezistentního karcinomu prostaty (mCRPC) pacientů léčených docetaxelem s jednoduchým a pohodlným dávkováním. Přímoou inhibicí signálních drah androgenních receptorů s **XTANDI** umožníte svým pacientům mít hodnotný a delší život. Uchopte léčbu mCRPC zcela novým způsobem.¹⁻⁵



Zkrácená informace o léčivém přípravku XTANDI: **Název:** Xtandi 40 mg měkké tobolky. **Složení léčivého přípravku:** enzalutamidum 40mg. **Indikace:** Léčba dospělých mužů s metastatickým kastrálně rezistentním karcinomem prostaty, u jejichž onemocnění došlo k progresi při nebo po léčbě docetaxelem. **Dávkování a způsob podání:** Doporučená dávka je 160 mg (čtyři 40 mg tobolky) jako jedna perorální dávka. **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na léčivou látku nebo na kteroukoli pomocnou látku. Ženy, které jsou těhotné nebo mohou otěhotnět. **Zvláštní upozornění:** Při zahájení léčby má být stanoven přehled současně podávaných léčivých přípravků, protože enzalutamid je silný induktor enzymů. Je třeba se vyhnout současnému podávání warfarinu a antikoagulancií kumarinového typu nebo provádět monitoraci INR. Opatrnosti je třeba při podávání přípravku Xtandi pacientům s anamnézou epileptických záchvatů nebo jiných predispozičních faktorů nebo

kterí současně užívají léčivé přípravky, jež snižují práh vzniku epileptických záchvatů. Opatrnosti je zapotřebí u pacientů s těžkou poruchou funkce ledvin a Xtandi se nedoporučuje podávat u pacientů se závažnou poruchou jater (Child-Pugh třídy C). Ze studie AFFIRM byli vyloučeni pacienti se závažnými kardiovaskulárními chorobami (infarkt myokardu v posledních 6 měsících, nestabilní angina pectoris, srdeční selhání NYHA III a IV). **Interakce:** Doporučuje se vyhnout nebo podávat s opatrností silné inhibitory nebo induktory CYP2C8 nebo snížit dávku enzalutamidu na 80 mg. Enzalutamid je silný induktor enzymů a při současném užívání přípravků, které jsou substráty CYP3A4, CYP2C9, CYP2C19, CYP1A2, UGT1A1, by měla být hodnocena případná ztráta farmakologických účinků během prvního měsíce léčby a měla by být zvážena úprava dávky. Léčivé přípravky s úzkým terapeutickým rozpětím, které jsou substráty pro P-gp, podávat s opatrností nebo upravit dávku. **Účinky**

na schopnost řídit a obsluhovat stroje: Enzalutamid může mít středně závažný vliv na schopnost řídit nebo obsluhovat stroje. Pacienti, u kterých se vyskytly epileptické záchvaty nebo jiné predisponující faktory, by měli být poučeni o riziku. **Nežádoucí účinky:** Velmi časté: návaly horka a bolest hlavy, časté: neutropenie, zrakové halucinace, úzkost, kognitivní porucha, poruchy paměti, hypertenze, suchá kůže, svědění. K epileptickému záchvatu došlo ve studii AFFIRM u 0,8% pacientů. **Jméno a adresa držitele rozhodnutí o registraci:** Astellas Pharma Europe B.V. Sylviusweg 62, 2333 BE Leiden, Nizozemsko. **Registrační číslo:** EU/1/13/846/001. **Zvláštní opatření pro uchovávání:** Žádné zvláštní podmínky. Doba použitelnosti 2 roky. **Poslední revize textu:** 06/2013. Výdej přípravku je vázán na lékařský předpis. Úhrada z prostředků veřejného zdravotního pojištění nebyla stanovena. Před předepsáním se seznámte s úplnou informací o přípravku dostupné na www.ema.europa.eu

nebo na adrese Astellas Pharma s.r.o., Meteor Centre Office Park, Sokolovská 100/94, 186 00 Praha 8, ČR.

*Xtandi snižuje riziko úmrtí o 37 % oproti placebu a zlepšuje HRQoL.^{1,4,5}

Reference: 1. SPC přípravku XTANDI. 2. Tran C et al. *Science* 2009; 324(5928): 787–790. 3. Hu R et al. *Expert Rev Endocrinol Metab* 2010; 5(5): 753–764. 4. Scher H et al. *N Engl J Med* 2012; 367(13): 1187–1197. 5. Miller K et al. *J Clin Oncol* 31, 2013 (suppl 6; abstr 17).

Enzalutamid (Xtandi®) – nová šance pro pacienty s kastrálně refrakterním karcinomem prostaty

Tomášek J.

Klinika komplexní onkologické péče LF MU a Masarykův onkologický ústav, Brno

Povzniku rezistence na hormonální léčbu se prognóza pacientů s karcinomem prostaty výrazným způsobem zhoršuje. V průběhu hormonálních manipulací se adaptací na nízkou hladinu testosteronu mění fenotyp nádorové buňky. Ta je pak schopna reagovat na minimální koncentrace androgenů, které vznikají v nadledvinách nebo přímo v nádorové tkáni. V průběhu vzniku rezistence k hormonální manipulací dochází k amplifikaci androgenních receptorů (AR) a jejich zvýšené expresi. Mutace genů pro AR umožňují alternativní aktivace AR non-androgenními ligandy a růstovými faktory, což podporuje nádorový růst. Medián přežití (overall survival – OS) pacientů s kastrálně refrakterním karcinomem prostaty (castration-resistant prostate cancer – CRPC) se pohybuje kolem 18 měsíců od vzniku rezistence na hormonální manipulace. Standardní systémovou protinádorovou léčbou je v této situaci chemoterapie na bázi docetaxelu. V poslední době se objevilo několik nových léčivých přípravků, které také mají efekt v léčbě CRPC.

Enzalutamid je nový perorální inhibitor signální dráhy AR, který blokuje tuto signalizaci na několika úrovních. Vysokou afinitou k AR brání vazbě androgenů a dalších aktivujících ligandů na AR, blokuje translokaci AR do jádra a narušuje vazbu AR na DNA (obr. 1). Není znám žádný agonistický účinek enzalutamidu. Doporučená dávka enzalutamidu je 160 mg na den perorálně. V randomizované klinické studii III. fáze AFFIRM bylo oproti placebu prokázáno signifikantní a klinicky velmi významné prodloužení

OS u pacientů s CRPC předléčených docetaxelem (18,4 vs 13,6 měsíce, HR = 0,63; $p < 0,001$), prodloužena byla signifikantně také doba do progresu PSA (8,3 vs 3,0 měsíce, HR = 0,25; $p < 0,001$) a doba do progresu metastáz v měkkých tkáních podle RECIST 1.1 (8,3 vs 2,9 měsíce, HR = 0,40; $p < 0,001$). Ke snížení bolesti došlo u 45 % pacientů v aktivním rameni oproti 7 % v rameni s placebem ($p = 0,008$). Také parametry kvality života byly lepší v aktivním rameni proti léčbě placebem. Pro praxi je důležitý velmi dobrý bezpečnostní profil enzalutamidu. Proti placebu se častěji vyskytovala únava (všechny stupně 33,6 vs 29,1 %), svalové a kostní bolesti, bolesti hlavy, hypertenze, návaly a průjemy. V 0,6 % se vyskytl epileptický záchvat, vzhledem k predispozičním faktorům u některých pacientů není ale vztah k enzalutamidu jednoznačný [1].

V roce 2013 bylo na konferencích ASCO a ESMO prezentováno několik zajímavých analýz studie AFFIRM. Studie byla ukončena po předem plánované interim analýze, kdy bylo prokázáno prodloužení OS. Pacienti v rameni s enzalutamidem mohli v léčbě pokračovat. Fleming se věnoval analýze pacientů, kteří byli léčeni enzalutamidem dlouhodobě – 35 % (276/800) pacientů bylo léčeno ≥ 12 měsíců, 22 % (174/800) bylo léčeno ≥ 18 měsíců. Tito dlouhodobě léčeni měli delší čas do iniciace léčby enzalutamidem od diagnózy karcinomu prostaty oproti celé skupině pacientů léčených enzalutamidem (7,9 vs 5,9 roku). Jejich společným znakem byl také menší rozsah metastáz při vstupu do studie [2].

Tato aktualita byla podpořena firmou Astellas.

This actuality was supported by Astellas.



MUDr. Jiří Tomášek

Klinika komplexní onkologické péče LF MU a Masarykův onkologický ústav

Žlutý kopec 7

656 53 Brno

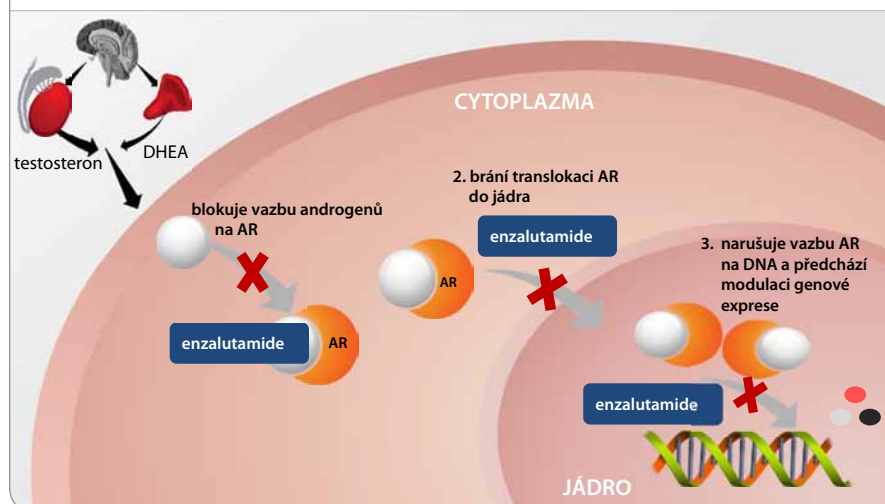
e-mail: tomasek@mou.cz

Obdrženo/Submitted: 19. 1. 2014

De Bono et al se věnovali vztahu efektu léčby enzalutamidem k předchozí terapii karcinomu prostaty. Byla hodnocena účinnost enzalutamidu ve vztahu k celkové době chemoterapie docetaxelem, k celkové době hormonální terapie a době terapie pouze LHRH analogy. Ve všech těchto skupinách byl prokázán prospěch z podání enzalutamidu. Kratší OS byl prokázán u pacientů s rychlejší progresí na LHRH analogiích nebo při jakékoliv hormonální manipulaci. Důležitá informace je, že účinnost nebyla vázána na dobu trvání předchozí terapie docetaxelem, účinnost enzalutamidu tedy není ovlivněna předchozí účinností docetaxelu [3].

Velmi dobrá účinnost enzalutamidu u pacientů předléčených chemoterapií vedla ke snaze posunout přípravek do časnějších linií léčby. Cílem randomizované, placebem kontrolované klinické studie III. fáze PREVAIL bylo zjistit, zda enzalutamid dokáže prodloužit OS a čas do radiologicky dokumentované progresu

Enzalutamid cílí přímo na androgenní receptor, jeho efekt se v signální cestě androgenního receptoru projevuje ve třech krocích:



Obr. 1. Mechanismus účinku enzalutamidu [4,5].

AR – androgenní receptor, DHEA – dehydroepiandrosteron, DHT – dihydrotestosteron

u asymptomatických nebo jen mírně symptomatických pacientů s metastatickým CRPC (metastatic castration-resistant prostate cancer – mCRPC), kteří nebyli předlčeni chemoterapií. Tyto parametry byly primárními cíli studie. Do této dvojité zaslepené studie bylo randomizováno 1 717 pacientů s mCRPC. Pacienti byli léčeni opět dávkou enzalutamidu 160 mg/den. Při interim analýze bylo prokázáno, že podání enzalutamidu vedlo k 30% snížení rizika úmrtí (OS: HR = 0,70; 95% CI 0,59–0,83; $p < 0,0001$) a snížení rizika radiologicky dokumentované pro-

grese (rPFS) nebo úmrtí o 81 % (rPFS: HR = 0,19; 95% CI 0,15–0,23; $p < 0,0001$). Podle dosavadních výsledků byl OS v rameni s enzalutamidem delší oproti placebo (31,5 vs 30,2 měsíce). Nezávislá komise zhodnotila poměr benefitu a rizika jako významný ve prospěch enzalutamidu a doporučila zastavit studii a pacientům v rameni s placebem podat enzalutamid. Výsledky studie budou prezentovány na konferenci ASCO-GU 2014 na konci ledna. Výbor ASCO je ale považuje za natolik zásadní, že předběžně výsledky zveřejnil na svých webo-

vých stránkách výjimečně ještě před konferencí.

V současné době probíhá řada dalších studií s enzalutamidem, velká část právě na poli karcinomu prostaty. Za zmínku ale stojí studie II. fáze zaměřená na pacienty s triple-negativním karcinodem prsu s pozitivními androgenními receptory. Nemoc těchto pacientek bývá agresivnější a léčebné možnosti jsou proti ostatním skupinám pacientů s karcinodem prsu jen omezené.

Pokroky v onkologii se obvykle dějí po malých krůčcích, v případě enzalutamidu je to ale velký krok ke zlepšení prognózy pacientů s mCRPC [6]. Jde o léčbu, která prodlužuje život nemocných, je bezpečná a nezhoršuje kvalitu života.

Literatura

1. Scher HI, Fizazi K, Saad F et al. AFFIRM Investigators. Increased survival with enzalutamide in prostate cancer after chemotherapy. *N Engl J Med* 2012; 367: 1187–1197.
2. Fleming MT. Long-term responders to enzalutamide (ENZA) during the phase III AFFIRM trial: Baseline characteristics and efficacy outcomes. Prezentováno na ASCO-GU 2013.
3. De Bono J, Fizazi K, Shore N et al. Assessing the impact of prior treatments on the efficacy of enzalutamide (ENZ): A subanalysis of the phase 3 AFFIRM trial. Prezentováno na ESMO 2013, poster 2862.
4. Tran C, Ouk S, Clegg NJ et al. Development of a second-generation antiandrogen for treatment of advanced prostate cancer. *Science* 2009; 324(5928): 787–790.
5. Hu R, Denmeade SR, Luo L. Molecular processes leading to aberrant androgen receptor signaling and castration resistance in prostate cancer. *Expert Rev Endocrinol Metab* 2010; 5(5): 753–764.
6. ClinicalTrials.gov [homepage on the internet]. Available from: <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01889238?term=enzalutamide+and+breast&rank=3>

Onkologie v obrazech

Umělecké projevy toxicity protinádorové léčby

Svoboda M.

Muž, narozený v roce 1967, ve 45 letech diagnostikovaný renální karcinom levé ledviny, onemocněl již v době diagnózy diseminovaně do CNS a mediastinálních uzlin. Po extirpaci solitární mozkové metastázy zahájena léčba sunitinibem, která je doprovázena nežádoucími účinky v podobě trombocytopenie G2, tyreopatie G1, únavy G2–3, pro které je následně dávka re-

dukována při zachování účinnosti léčby.

V průběhu léčby, která v únoru 2014 trvá již 10. měsíc, je onemocnění v partiální remisi. Jedním z vedlejších účinků sunitinibu byla depigmentace vlasů a obočí (obr. 1). Tento „umělecký projev“ onkologické léčby pacient přijal s nadšením, neboť, jak se vyjádřil, zajímavě doplnil jeho předchozí tetování kůže.



MUDr. Marek Svoboda, Ph.D.

Klinika komplexní onkologické péče
a Oddělení epidemiologie

a genetiky nádorů

Masarykův onkologický ústav

Žlutý kopec 7

656 53 Brno

e-mail: msvoboda@mou.cz

Obdrženo/Submitted: 3. 2. 2014



Obr. 1. Depigmentace vlasů jako vedlejší účinek onkologické léčby.

V lednu letošního roku zemřel ve vysokém věku doc. MUDr. Václav Bek, DrSc.

Život je dlouhý dost, když víš, jak ho prožít.

Život měříme skutky a ne časem.

Lucius Anneus Seneca

Konopásek B.



Doc. Bek získal klasické vzdělání na královehradeckém gymnáziu v 30. letech minulého století. Patrně od těch dob se datuje jeho láska k řeckým filozofům. Jeho maturita pak byla v době neslavně známé jako heydrichiáda. Studia lékařské fakulty na Karlově univerzitě započal tedy až po válce. Po promoci v roce 1950 byl administrativním rozhodnutím poslán na Radiodiagnostickou kliniku VFN v Praze. Svůj záměr pečovat o pacienty se snažil uskutečnit svým působením na radioterapeutické části pracoviště. A tak započala jeho vlastní kariéra v onkologii, které zůstal věrný. V roce 1973 se podílel na založení 1. onkologické kliniky VFN v Praze na tehdejšího území státu. Po brzkém a nečekaném úmrtí prof. MUDr. Staška, DrSc. (první přednosta kliniky) převzal přednostenské žezlo. Do zaslouženého důchodu odešel v roce 1988. Následující období přineslo výrazné změny v onkologii. Zprvu velmi smutný a depresivní obor se změnil v lékařskou disciplínu, která přináší terapeutické efekty a někdy i trvalé vyléčení. Nesporným úspěchem lékařské vědy je i samotné dlouhé a relativně kvalitní žití s nádorem. O tom, že se doc. Bek významně podílel na tomto pozitivním vývoji, není pochyb. Můžeme ho řadit mezi nejdůležitější

osobnosti naší onkologie. Během svého profesního života dosáhl výrazné úspěchy jak na poli vědeckém, tak i v oblasti praktické medicíny. Vznikla celá řada monografií, skript, učebnic a publikací. Přednesl nepočítaně odborných přednášek u nás, ale i v zahraničí. Stál v čele mnoha výzkumných projektů a grantů. Stal se držitelem několika prestižních cen a uznání. Nikdy nezapomínal na své pacienty. Jeho ambulance byly vždy plné a pacienti přicházeli s přesvědčením, že jsou v těch nejpovolanějších rukou. Některé děti s nádorem ledvin, které ozařoval, jsou dnes samy již rodiči. Chápal, že práce v medicíně spočívá v týmové spolupráci a důsledně ji také prosazoval. Svou činnost zahájila pracovní skupina pro tumory hlavy a krku, maligní melanom, gynekologické nádory, maligní lymfomy a další. Největší zásluhy však tkví v pedagogické činnosti. Zařadit klinickou onkologii do studijního kurikula nebylo jednoduchou záležitostí a doc. Bekovi se to podařilo. Postgraduální výchova se organizovala v rámci Institutu postgraduálního vzdělávání (ILF). Prosadil konstituování samostatné katedry Klinické onkologie. Atestační examinační se podrobila řada lékařů z celé republiky. Vychoval mnoho onkologů, z nichž někteří dnes zastávají vý-

znamná vedoucí místa nejen u nás, ale též za hranicemi našeho státu. Byl příkladem toho, že povolání se může stát skutečným posláním. Co osobně považují za nejdůležitější? Doc. Bek si dokázal najít spolupracovníky, obklopit se jimi, zapálit je pro obor a společně s nimi pokládat základy onkologie tak, jak ji známe nyní. Jedna vzpomínka. V roce 1972 (čtyři roky po promoci a pobytu na teoretickém ústavu) jsem se rozhodl pro klinickou práci. Zvažoval jsem radiodiagnostiku. Na vstupní pohovor jsem přišel k doc. Bekovi, abych se informoval o volném místě. Ten se mě zeptal na hlavní důvod mého záměru. Bez uzardění jsem přiznal, že hledám nechirurgický obor s klidnějšími nočními službami. Pan docent se zděsil: „On chce v noci hodně spát!“ Ale pak dodal: „Na druhou stranu si cením vaší pravdomluvnosti. Nastupte k nám na onkologii, tam jsou služby ještě klidnější.“ Svého rozhodnutí jsem později nikdy nelitoval.

Za všechny jeho kolegy a spolupracovníky, za jeho žáky, mezi které se i sám počítám, ale nakonec i za ty, kteří ho osobně ani neznali, bych chtěl říci: „Pane docente, za vše Vám děkujeme.“

*doc. MUDr. Bohuslav Konopásek, Csc.
Onkologická klinika 1. LF UK a VFN v Praze*

Recenze knihy „Principy systémové protinádorové léčby“

Říhová B.

Kniha autorů prof. MUDr. Pavla Klenera, DrSc, a MUDr. Pavla Klenera jr., Ph.D., „Principy systémové protinádorové léčby“ (GRADA Publishing, a.s., 2013) je logickým pokračováním a rozšířením knihy „Nová protinádorová léčiva a léčebné strategie v onkologii“, která vyšla v GRADA Publishing v roce 2010. Tato nová kniha je naprosto unikátním zdrojem informací ze dvou rozsáhlých a nepochybně obtížných oborů, a to onkologie a imunologie.

Je členěna do následujících 11 kapitol:

- Úvod do problematiky nádorových onemocnění a protinádorové léčby,
- Konvenční protinádorová léčba,
- Epigenetická chemoterapeutika,
- Diferenční terapie,
- Úloha hormonů v systémové protinádorové terapii,
- Monoklonální protilátky,
- Imunoterapie,
- Cílená léčba I: terapie cílená na nádorové buňky – inhibice růstu nádoru,

- Cílená léčba II: terapie cílená na nádorové mikroprostředí – inhibice šíření nádoru,
- Základy genové terapie,
- Rezistence k chemoterapii.

Jednotlivé kapitoly jsou doplněny o mimořádně dobře zpracované, ba vynikající obrázky a schémata. Tyto ilustrace jsou dokonale vybrané a upravené tak, aby čtenář na první pohled pochopil základ diskutované problematiky, často nesmírně složité a často jen zčásti dobře probádané. U každé kapitoly je seznam základní literatury, kterou je možné vyhledat k pochopení dalších detailů, nechybí ani přehled nejčastěji používaných zkratk a samozřejmě rejstřík. Na konci knihy čtenář najde velice srozumitelný souhrn, a to nejen v češtině, ale i v angličtině. V knize se dozvíte třeba i to, co je to individualizovaná medicína neboli terapie šitá na míru (personalized

medicine, tailored medicine). Kniha autorů Klenera a Klenera jr. zcela ojedinělým a vysoce profesionálním způsobem nejenom popisuje v současné době klinicky používaná nebo zatím jen klinicky testovaná terapeutika, ale především objasňuje mechanismy jejich působení a často i důvody, pro které bylo testování ukončeno. Je místy tak informačně „robustní“, že asi nemá konkurenci ani na zahraničním trhu. Je psaná neuvěřitelně „čtivě“. Zcela jistě to není kniha na jedno, dvě, ale asi ani ne na několik málo přečtení. Je to téměř encyklopedie, kde každý najde odpověď na svou otázku. A ty mohou a budou pokládat studenti, přírodovědci, lékaři a samozřejmě i vysoce specializovaní onkologové.

Praha 9. prosince 2013

prof. RNDr. Blanka Říhová, DrSc.
Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i.

INFORMACE Z ČESKÉ ONKOLOGICKÉ SPOLEČNOSTI

Informace z České onkologické společnosti

Zápis ze schůze výboru České onkologické společnosti konané dne 17. 12. 2013 v Praze naleznete na www.linkos.cz.



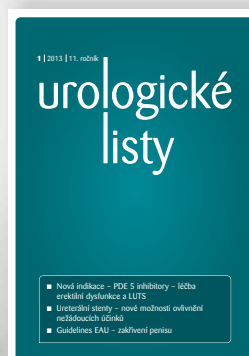
22 × ročně, 590 Kč
www.zdravky.cz



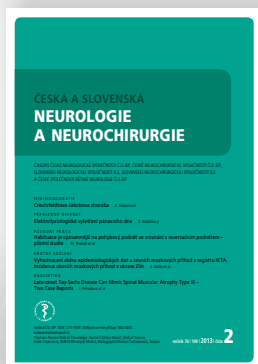
10 × ročně, 570 Kč
www.florence.cz



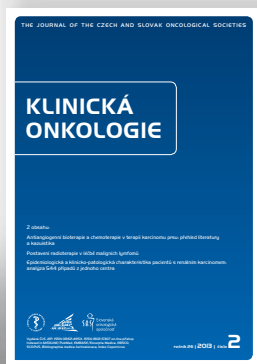
4 × ročně, 600 Kč
www.urologickelisty.cz



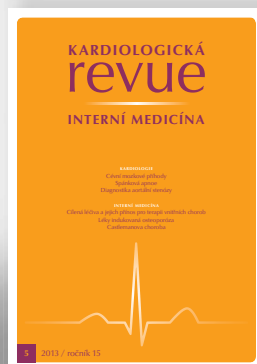
6 × ročně, 750 Kč
www.csnn.eu



6 × ročně, 540 Kč
www.eonkologie.cz



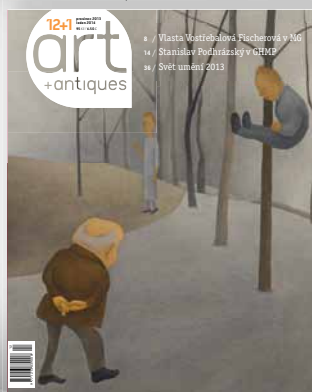
6 × ročně, 690 Kč
www.kardiologickarevue.cz



6 × ročně, 600 Kč
www.csgh.info



10 × ročně, 855 Kč
www.artcasopis.cz



1 × ročně, 139 Kč
www.artplus.cz



1 990 Kč
www.artplus.cz



Vyberte si...

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 publikované v roce 2014.
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 1/2015.

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 můžete zasílat na adresu klinickaonkologie@mou.cz a své příspěvky vkládat do redakčního systému časopisu Klinická onkologie <http://redakce.ambitmedia.cz/ko>.

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:

AstraZeneca 

KLINICKÁ ONKOLOGIE

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

REDAKČNÍ RADA

Výkonná redakční rada (Brno)

vedoucí redaktor

doc. MUDr. Vuk Fait, CSc.

MUDr. Petr Čoupek
doc. MUDr. Lenka Foretová, Ph.D.
prof. MUDr. Roman Hájek, CSc.

výkonný redaktor

MUDr. Marek Svoboda, Ph.D.

MUDr. Ivo Kocák, Ph.D.
MUDr. Jiří Novák
prof. MUDr. Aleš Rejthar, CSc.

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

Širší redakční rada

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

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

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

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

© Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně, Praha 2014

KLINICKÁ ONKOLOGIE

Vydává Česká lékařská společnost J. E. Purkyně.

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

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

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

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

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

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

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

Vychází 6krát ročně. Předplatné na rok 2014 činí 540 Kč (22 eur).

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

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

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

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

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

Toto číslo vychází 14. 2. 2014.

7,5měsíční
prodloužení
celkového
přežití...¹



Merck Serono Oncology | Combination is key[™]

... u pacientů s mCRC a nádory s wt RAS v léčbě 1. linie kombinací Erbitux + FOLFIRI oproti léčbě kombinací bevacizumab + FOLFIRI.*¹

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 geny RAS 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 relabujícího 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 nejméně 1 hodinu před podáním cetuximabu. **Kontraindikace:** U pacientů se známou těžkou hypersenzitivní reakcí na cetuximab. Kombinace s chemoterapií zahrnující oxaliplatinu je u metastazujícího kolorektálního karcinomu kontraindikována u pacientů s mutovanými geny RAS nebo u pacientů, u nichž není mutační stav genů RAS znám. Nutno vzít v úvahu i kontraindikace pro současně užívané chemoterapeutické látky nebo radiační terapii. **Zvláštní upozornění:** Často se mohou objevit těžké reakce spojené s infuzí, včetně anafylaktických reakcí, které mohou ve vzácných případech vést až k úmrtí. Výskyt těžké reakce spojené s infuzí vyžaduje okamžité a trvalé přerušení léčby cetuximabem a může být nutná pohotovostní léčba. Příznaky se mohou objevit v průběhu první infuze a až několik hodin poté. Mezi příznaky patří bronchospasmus, kopřivka, zvýšení nebo snížení krevního tlaku, ztráta

vědomí nebo šok. **Nežádoucí účinky:** Velmi časté ($\geq 1/10$): hypomagnesemie, zvýšení hladin jaterních enzymů, reakce spojené s infuzí. V kombinaci s lokální radiační terapií se objevily nežádoucí účinky jako mukozitida, radiační dermatitida a dysfagie nebo leukopenie, převážně ve formě lymfocytopenie. Mezi kožní reakce patří akneiformní vyrážka, poruchy nehtů (paronychie). **Interakce:** V kombinaci s infuzemi fluoropyrimidinů se zvyšuje četnost výskytu srdeční ischemie, včetně infarktu myokardu a městnavého srdečního selhání, stejně jako četnost výskytu syndromu ruka - noha. **Léková forma a balení:** Infuzní roztok. Balení obsahuje jednu 20 ml lahvičku s obsahem 100 mg cetuximabu. **Uchovávání:** Uchovávejte v chladničce (2 – 8°C). **Držitel rozhodnutí o registraci:** Merck KGaA, Darmstadt, Německo. **Registrační číslo:** EU/1/04/281/003. **Datum poslední revize textu:** 12/2013. Výdej přípravku je vázán na lékařský předpis a je hrazen z prostředků zdravotního pojištění. Před předepsáním se seznámte s úplnou informací o přípravku.

*) mCRC = metastazující kolorektální karcinom, wt RAS = KRAS a NRAS exony 2, 3 a 4 divoká forma (wild-type, wt)

Reference: 1. Heinemann V, et al. Oral presentation at the European Cancer Congress 2013, September 28. Abstract No: LBA17.

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



GIST? Glivec!

Zkrácená informace

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

Složení: Léčivá látka: Imatinib 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 akcelerační fázi onemocnění nebo v blastické krizi. Dospělých a "dětských" 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-PDGFR α . 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 pro operaci. **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 dětí:** Dávkování je pro pacienty v chronické fázi CML 400 mg/den. U pacientů s akcelerační 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 akcelerační 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 dospělých:** Doporučená dávka Glivecu je 600 mg/den. **Dávkování u Ph+ ALL 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 u dospělých pacientů:** 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/opatření:** 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 levotyroxinem. 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) s okultní infiltrací HES buněk do myokardu byly ojedinělé případy kardiogenního šoku či dysfunkce levé komory spojeny s degranulací HES buněk po zahájení léčby. 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 doporučené pečlivé 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 inhibitorů (*inhibitory proteáz jako je indinavir, lopinavir/ritonavir, ritonavir, sachinavir, telaprevir, nelfinavir, boceprevir,* azolová antimykotika zahrnující ketokonazol, itraconazol, *posakonazol, vorikonazol,* některé makrolidy jako je erythromycin, klarithromycin a "telithromycin") je nutná opatrnost. Některé látky mohou snižovat koncentraci imatinibu v plazmě - CYP3A4 induktoři (dexamethason, fenytoin, karbamazepin, rifampicin, fenobarbital, fosfenytoin, primidon, třezalka tečkovaná) a potenciálně zvyšovat riziko selhání léčby. Při podávání Glivecu se substráty CYP3A4 s úzkým terapeutickým oknem (cyklosporin, pimozid, *takrolimus, sirolimus, ergotamin, diergotamin, fentanyl, alfentanil, terfenadin, bortezomib, docetaxel (winfarin) 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 (chinarin) a jiné deriváty kumarinu). Obezťnost by měla být upravena 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, muskuloskeletální 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, rozptýlení 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: 11.11.2003/07.11.2006. Datum poslední revize textu SPC: 24.10.2013. 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 Pankraci 1724/129; 140 00 Praha 4
www.novartis.com; tel.: 225 775 111; fax: 225 775 222;

 glivec®

Molekulární cíl. Přínos pro člověka.