

KLINICKÁ ONKOLOGIE

Z obsahu:

Role mikroRNA v patofyziologii neuroblastomu a možnosti jejich využití pro diagnostiku, odhad prognózy a terapii

Úloha CDK12 v iniciaci a rozvoji nádorů a její klinické konsekvence

Spokojenost onkologických pacientek s okamžitou dvoudobou aloplastickou rekonstrukcí prsu

Vliv předoperační chemoradioterapie na změnu exprese receptoru pro epidermální růstový faktor u pacientů léčených předoperační chemoradioterapií pro lokálně pokročilý karcinom rekta



**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 cytokiny pro pokročilé onemocnění. Votrient je indikován k léčbě dospělých pacientů s vybranými subtypy pokročilého sarkomu měkkých tkání, kteří podstoupili chemoterapii pro metastazující onemocnění nebo u pacientů, u kterých došlo k progresi onemocnění během 12 měsíců po (neo)adjuvantní terapii. **DÁVKOVÁNÍ:** Doporučená dávka pazopanibu u obou indikací je 800 mg jednou denně. Dávka se upravuje postupným přidáváním 200 mg podle individuální snášenlivosti. **SPECIÁLNÍ SKUPINY PACIENTŮ:** U poruchy renálních funkcí u pacientů s clearance kreatininu nad 30 ml/min není nutno dávku upravovat. Pacientům s clearance kreatininu nižší než 30 ml/min (0,5 ml/s) je třeba věnovat zvýšenou pozornost. U pacientů s mírnou až středně závažnou poruchou funkce jater je doporučeno podávat léčbu pazopanibem v dávce 800 mg, event. podle transamináz a hladiny sérového bilirubinu dávku sníženou na 200 mg viz SPC. Přísnější kritérium se vztahuje na pacienty, u kterých dochází k současněmu zvýšení transamináz a bilirubinu během léčby, viz SPC (vyjma Gilbertova sy). Současné užívání pazopanibu a simvastatinu (statinů) zvyšuje riziko zvýšení hladiny 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. týdnů 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 uridin difosfát-glukuronosyltransferázy 1A1 (UGT1A1) (např. irinotekan) nutno postupovat s opatrností. V průběhu léčby pazopanibem se nesmí pít grapefruitový džus. **TĚHOTENSTVÍ A KOJENÍ:** Adekvátní údaje o podávání pazopanibu těhotným ženám nejsou k dispozici. Studie 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 erytrodysestie, hypopigmentace kůže, erytém, pruritus, depigmentace kůže, suchá kůže, hyperhidróza, myalgie, svalové spazmy, proteinurie, asténie, zánět sliznic, otok, bolest na hrudi, snížení hmotnosti, zvýšení hladiny kreatininu v krvi, zvýšení hladiny bilirubinu v krvi, snížení počtu bílých krvinek, zvýšení lipázy, zvýšení krevního tlaku, zvýšení TSH v krvi, zvýšení GMT, nově mikroangiopatická angiopatie a zadní reverzibilní encefalopatie (PRES). Pazopanib není indikován do kombinace s jinou léčivou látkou. **FARMAKOLOGICKÉ VLASTNOSTI:** Inhibitor 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 je hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění (přesné podmínky úhrady jsou uvedeny na adrese www.sukl.cz). Před použitím léku si prosím přečtěte úplný Souhrn údajů o přípravku na www.gskkompodium.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. 10. 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

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



Editorial

Vážení autoři a čtenáři,

časopis Klinická onkologie přichází v tomto roce s dalšími novinkami, kterými chceme zlepšit naše služby. Jedná se o zavedení identifikátoru DOI a QR kódu.

DOI (Digital Object Identifier) je mezinárodní jednoznačný identifikátor elektronického dokumentu, který zajišťuje trvalý odkaz na tento dokument v prostředí internetu. Klinická onkologie získala DOI na základě členství nakladatelství Ambit Media v registrační agentuře CrossRef a právě od tohoto čísla ho bude pravidelně **přidělovat všem přehledovým článkům, původním pracím, kazuistikám a sdělením**. Mimoto, máme v plánu identifikátorem DOI opatřit výše uvedené typy článků zpětně až do roku 2011. Autoři a čtenáři článků Kli-

nické onkologie tak pouhým vložením DOI do jakéhokoliv internetového vyhledávače naleznou umístění plného textu hledaného článku na webu. Od toho si slibujeme nejenom **zrychlení vyhledávání článků** na internetu a v bibliografických databázích, ale i **zvýšení pravděpodobnosti, že budou citovány**. V budoucnosti nám DOI umožní zveřejňovat články na internetových stránkách časopisu dříve, než budou publikovány v tištěné podobě (epub ahead of print), a přitom již budou dohledatelné na webu i v databázi PubMed.

Druhou novinkou je použití QR kódu. **QR kód (Quick Response code)** je obrazový nástroj pro uložení a rychlé získání informací, jakými jsou nejčastěji internetové adresy nebo kontaktní údaje. V Klinické onkologii chceme QR kód používat všude tam, kde čtenář, vybavený

chytrým mobilním telefonem, tabletem nebo jiným podobným zařízením, ocení možnost získat další informace on-line. Jako první se k využití QR kódu nabízí právě nově založená rubrika **„Aktuality z odborného tisku“**, kde po sejmutí QR kódu získá čtenář přístup k původnímu článku na stránkách bibliografické databáze PubMed. Postupně chceme skrze QR kód navigovat čtenáře na další užitečné elektronické zdroje informací a internetové stránky zajímavých odborných akcí a kongresů.

Pevně věříme, že obě novinky úspěšně využijete!

*doc. MUDr. Vuk Fait, CSc.
vedoucí redaktor*

*doc. MUDr. Marek Svoboda, Ph.D.
výkonný redaktor*

Využijte nové možnosti stáhnout pomocí QR kódu

Nové léky v onkologické praxi 2013/2014

informace o stahování QR kódu naleznete
na www.qr-kody.cz/qr-ctecka



U pacientek s HR+ HER2- pokročilým karcinomem prsu

AFINITOR[®] (everolimus) tablety

**... více než zdvojnásobuje přežití
bez progresse onemocnění¹**

Indikován v kombinaci s exemestanem u postmeno-
pauzálních pacientek s HR+ HER2- pokročilým kar-
cinomem prsu bez symptomatického viscerálního
postižení s recidivou nebo progresí onemocnění po
předchozí léčbě NSAI¹



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 inhibitorem 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 nepříjemné 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 doporučena dávka 7,5 mg denně, u pacientů se středním zhoršením funkce jater (Child-Pugh B) je doporučena 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/opatření:** U 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 reaktivace virové hepatitidy B. Některé z těchto infekcí byly závažné a občas fatální. Před zahájením léčby by měly být předcházející infekce zcela vyléčeny. V souvislosti s užíváním everolimu byly hlášené 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 mateřidousky*. Před zahájením léčby a následně během léčby se doporučuje sledovat funkce ledvin. V klinických hodnoceních byly hlášeny hyperglykemie, hyperlipidemie a hypertriglyceridemie. Doporučuje se monitorovat sérové hladiny glukózy nalačno před zahájením léčby a poté pravidelně v jejím průběhu. V klinických studiích bylo hlášeno snížení hladiny hemoglobinu, počtu lymfocytů, neutrofilů a krevních destiček. Afinitor by se neměl podávat souběžně s inhibitory a induktory CYP3A4 a/nebo nespecifické 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, *drmedaron*, 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, anemie, snížená chuť k jídlu, hyperglykemie, hypercholesterolemie, dyzgeuzie, bolesti hlavy, pneumonitida, epistaxe, stomatitida, průjem, nauzea, zvracení, vyrážka, svědění, únava, periferní otoky, astenie, úbytek tělesné hmotnosti. Časté: trombocytopenie, neutropenie, leukopenie, lymfopenie, hypertriglyceridemie, hypofosfatemie, diabetes mellitus, hyperlipidemie, hypokalcemie, 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, 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 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.

¹ Afinitor, souhrn údajů o přípravku, 11/2013

CZ1403191385/03/2014

Obsah | Contents

Editorial	311
PŘEHLEDY REVIEWS	
Pomalidomid v léčbě relabujícího a refraktérního mnohopočetného myelómu Pomalidomide in the Treatment of Relapsed and Refractory Multiple Myeloma Roziaková L., Mistrík M., Bátorová A.	318
Cereblon – nový terapeutický cíl v léčbě mnohopočetného myelómu Cereblon – a New Target of Therapy in the Treatment of Multiple Myeloma Stanková M., Bešše L., Sedlářiková L., Vrábel D., Hájek R., Ševčíková S.	326
Role mikroRNA v patofyziologii neuroblastomu a možnosti jejich využití pro diagnostiku, odhad prognózy a terapii The Role of MicroRNAs in the Pathophysiology of Neuroblastoma and Their Possible Use in Diagnosis, Prognosis and Therapy Vinklársek J., Novák J., Bienertová-Vašků J., Štěrbá J., Slabý O.	331
Úloha CDK12 v iniciaci a rozvoji nádorů a její klinické konsekvence Function of CDK12 in Tumor Initiation and Progression and Its Clinical Consequences Vrábel D., Svoboda M., Navrátil J., Kohoutek J.	340
PŮVODNÍ PRÁCE ORIGINAL ARTICLES	
Prognostické markery pokročilého nemalobunkového karcinomu plic – hodnotenie významu onkomarkerov pomocou data-miningovej metódy RPA Prognostic Markers of Advanced Non-small Cell Lung Carcinoma – Assessing the Significance of Oncomarkers Using Data-mining Techniques RPA Cingelová S., Labudová V., Berkešová D., Dienerová M., Dammak A., Grmanová E., Nádaská O., Vasilenkova I., Najšelová E., Skarbová V., Migašová M., Viktorínová Z., Jurga L.	347
Spokojenost onkologických pacientek s okamžitou dvoudobou aloplastickou rekonstrukcí prsu Breast Cancer Patient Satisfaction with Immediate Two-stage Implant-based Breast Reconstruction Coufal O., Gabrielová L., Justan I., Zapletal O., Selingerová I., Krsička P.	353
Vliv předoperační chemoradioterapie na změnu exprese receptoru pro epidermální růstový faktor u pacientů léčených předoperační chemoradioterapií pro lokálně pokročilý karcinom rekta Influence of Preoperative Chemoradiotherapy on Changes of Epidermal Growth Factor Receptor Expression in Patients Treated by Preoperative Chemoradiotherapy for Local Advanced Rectal Carcinoma Richter I., Dvořák J., Blüml A., Čermáková E., Bartoš J., Urbanec M., Sitorová V., Ryška A., Sirák I., Buka D., Ferko A., Melichar B., Petera J.	361
KAZUISTIKY CASE REPORTS	
A Rare Neoplastic Growth on the Ear Lobe Neobvyklá nádorová infiltrace ušního lalůčku Rovere R. K., Hilgert S. F., da Costa Camara P., de Lima A. S.	367

SDĚLENÍ | SHORT COMMUNICATIONS

- Těm, které by to mohlo zajímat – fotodiagnostika a fotodynamická léčba** 369
To Whom it May Concern – Photodiagnosis and Photodynamic Therapy
Horváth T.

AKTUALITY Z ODBORNÉHO TISKU | REPORTS FROM THE LITERATURE 372

PERSONALIA | PERSONAL NEWS

- Prof. Žaloudík šedesátiletý** 375
Fait V.

RŮZNÉ | VARIOUS

- Onkologie v obrazech** 376
Karcinomová lymfangiopatie při pokročilém karcinomu prsu
Fait V.

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



FASLODEXTM v dávce **500mg**
fulvestrant

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



ZKRÁCENÁ INFORMACE 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 nitrovalově po jedné injekci do každé hýždě (1–2 minuty/injekce). **Kontraindikace:** Faslodex je kontraindikován u pacientek se známou přecitlivělostí na účinnou látku nebo pomocné látky přípravku, v těhotenství, při kojení a při závažném poškození jater. Faslodex se nedoporučuje používat u dětí a dospívajících. **Zvláštní upozornění:** u pacientek s mírným až středním poškozením jater, u pacientek se závažným poškozením ledvin (clearance kreatininu < 30 ml/min) a u pacientek s krvácející diatézou, trombocytopenií či léčených antikoagulancii je třeba užívat Faslodex opatrně. **Interakce:** pacientkám, kterým je podáván fulvestrant současně s inhibitory nebo s induktory CYP3A4, není nutné upravovat dávku. **Těhotenství a kojení:** Faslodex je kontraindikován v těhotenství a v době kojení. **Nežádoucí účinky:** Nejčastěji hlášenými nežádoucími účinky jsou reakce v místě vpichu, slabost, nucení na zvracení a zvýšené jaterní enzymy (ALT, AST, ALP). Dále byly hlášeny infekce močových cest, reakce z přecitlivělosti, anorexie, bolesti hlavy, žilní tromboembolismus, návaly horka, zvracení, průjem, zvýšená hladina bilirubinu, vyrážka a bolest v zádech. **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:** 18. 12. 2013. **Referenční číslo dokumentu:** 18122013API

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 2014

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

AstraZeneca 

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 

LÉČBA, KTERÁ JDE DO HLOUBKY...² ... PRODLUŽUJE PŘEŽITÍ^{1,2,3}



Merck Serono Oncology | *Combination is key™*

Erbitux® – Vaše volba při léčbě 1. linie metastazujícího kolorektálního karcinomu vykazujícího geny RAS divokého typu

Reference

1. SPC přípravku Erbitux
2. Heinemann V, et al. Ann Oncol 2014; 25 (2): ii105–ii117 (abstr. O-0030)
3. Heinemann V, et al. J Clin Oncol 2013; 31 Suppl. (abstr. LBA3506)

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 (≥ 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 (paronychium). **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:** 06/2014. Výdej přípravku je vázán na lékařský předpis a je hrazen z prostředků zdravotního pojištění. Před předepsáním se seznámte s úplnou informací o přípravku.

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

Pomalidomid v liečbe relabujúceho a refraktérneho mnohopočetného myelómu

Pomalidomide in the Treatment of Relapsed and Refractory Multiple Myeloma

Roziaková Ľ.^{1,2}, Mistrík M.¹, Bátorová A.¹

¹ Klinika hematológie a transfuziológie LF UK a UN Bratislava, Slovensko

² Ústav patologickej fyziológie, LF UK v Bratislave, Slovensko

Súhrn

Aj napriek pokrokom v liečbe mnohopočetného myelómu, drvivá väčšina pacientov relabuje. Bohužiaľ, u mnohých pacientov sa vyvinie ochorenie, ktoré je refraktérne na podávanie lenalidomidu a bortezomibu, a títo pacienti majú obmedzené možnosti liečby. Pomalidomid je účinná druhoгенераčná imunomodulačná látka s priamym antiproliferatívnym, proapoptotickým a antiangiogénnym účinkom, ako aj s modulačným účinkom na kostnú resorpciu a imunitný systém. Pomalidomid má v porovnaní s lenalidomidom a talidomidom výraznejší protimyelómový účinok. Optimálna úvodná dávka je 4 mg perorálne po dobu 21 dní v 28-dňových cykloch a kombinácia s dexametazonom má synergický efekt. V rámci klinických štúdií mal pomalidomid v kombinácii s nízкодávkovým dexametazonom lepšie liečebné odpovede, dobu bez progresie a celkové prežívanie v porovnaní s vysokodávkovým dexametazonom alebo monoterapiou pomalidomidom. Pomalidomid má obmedzenú skríženú rezistenciu s lenalidomidom a celkový počet liečebných odpovedí u dvojito refraktérnych pacientov, aj na lenalidomid aj na bortezomib, sa dosahuje u 26–31 % pacientov. Medzi najčastejšie nežiaduce účinky 3. a 4. stupňa patrí hematologická toxicita (neutropénia, trombocytopenia a anémia). Pomalidomid bol schválený americkou (FDA) a európskou inštitúciou (EMA) na liečbu pacientov s mnohopočetným myelómom, ktorí už boli liečení bortezomibom aj lenalidomidom a došlo k progresii ochorenia pri poslednej liečbe. V tomto prehľadovom článku sumarizujeme mechanizmus účinku, prehľad klinických štúdií u pacientov s relabujúcim a refraktérnym mnohopočetným myelómom, ako aj nové kombinačné režimy.

Kľúčové slová

pomalidomid – mnohopočetný myelóm – imunomodulačné látky

Summary

Despite improvements in multiple myeloma therapy, the vast majority of patients continue to suffer relapses. Unfortunately, many patients event. develop disease that is refractory to lenalidomide and bortezomib and have few treatment options. Pomalidomide is a potent second-generation immunomodulatory agent with direct antiproliferative, pro-apoptotic, and antiangiogenic effects, as well as modulatory effects on bone resorption and on the immune system. Pomalidomide exhibited more potent anti-myeloma activity compared with thalidomide and lenalidomide. The optimal starting dose of pomalidomide is 4 mg given orally on days 1–21 of each 28-day cycle and combination with dexamethasone produces synergistic effects. In clinical trials, pomalidomide plus low-dose dexamethasone has shown better responses, progression-free and overall survival than high-dose dexamethasone or pomalidomide alone. Pomalidomide has limited cross-resistance with lenalidomide, and the overall response rates of pomalidomide in lenalidomide/bortezomib dual-refractory patients ranged from 26 to 31%. The most common grade 3 or 4 adverse events are hematologic, consisting of neutropenia, thrombocytopenia and anemia. Pomalidomide was approved by the FDA and the EMA in patients with multiple myeloma who have received at least two prior therapies including lenalidomide and bortezomib and have demonstrated disease progression on their last therapy. We review pomalidomide mechanism of action, clinical trials in relapsed and refractory patients, and novel pomalidomide-based combinations.

Key words

pomalidomide – multiple myeloma – immunomodulatory agents

Táto práca bola podporená grantom VEGA č. 1/0906/14.

This study was supported by grant VEGA No. 1/0906/14.

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. Ľubica Roziaková, Ph.D.

Klinika hematológie

a transfuziológie

LF UK a UN Bratislava

Nemocnica sv. Cyrila a Metoda

Antolská 11

851 07 Bratislava-Petržalka

Slovensko

e-mail: lubica.roziakova@gmail.com

Obdrženo/Submitted: 5. 6. 2014

Přijato/Accepted: 26. 6. 2014

<http://dx.doi.org/10.14735/amko2014318>

Úvod

Mnohopočetný myelóm (multiple myeloma – MM) je druhou najčastejšou hematologickou malignitou, ktorá aj napriek novým liečebným možnostiam zostáva u väčšiny pacientov nevyliciteľným ochorením. Zavedením kombinácie nových liekov a použitím konsolidačnej

a udržiavacej liečby sa podarilo predĺžiť trvanie prvolíniovej odpovede na 4–5 rokov [1–4]. Avšak aj napriek týmto pokrokom veľa pacientov relabuje. Obdobie remisie sa s každou následnou liečbou postupne skracuje a pacienti, ktorí už vyčerpali liečbu bortezomibom a imunomodulačnými liekmi (talidomid

a lenalidomid), majú zlú prognózu s očakávaným mediánom intervalu bez ochorenia 5 mesiacov a mediánom celkového prežitia (overall survival – OS) 9 mesiacov [5]. Preto je neustále potreba zavádzania ďalších nových účinných liečebných modalít.

K pokrokom v liečbe MM prispelo aj zavedenie imunomodulačných látok. Prehľady klinických údajov o talidomide a lenalidomide boli publikované aj v časopise Klinická onkológia [6–8]. V tomto prehľadovom článku sa zameriavame na mechanizmus účinku, klinické dáta a odporúčania pre použitie novej imunomodulačnej látky – pomalidomidu, ktorý je od 5. 8. 2013 registrovaný v EU na liečbu relabujúceho/refraktérneho myelómu u pacientov s aspoň dvomi predchádzajúcimi líniami s lenalidomidom aj bortezomibom, pričom došlo k progresii ochorenia pri poslednej línii.

Mechanizmus účinku pomalidomidu

Pomalidomid je imunomodulačná látka s priamym antitymélomovým a imunomodulačným účinkom a súčasne liekom inhibujúcim podporu stromálnych buniek pre rast nádorových buniek MM (tab. 1). Mechanizmus účinku imunomodulačných látok podrobne spracováva práca autorov Sedlaříková et al [9].

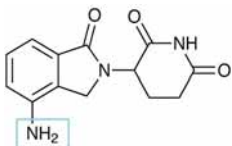
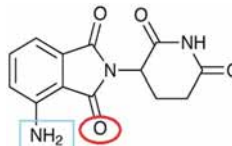
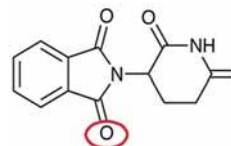
Antitymélomový účinok pomalidomidu sa uskutočňuje cez reguláciu génov, zástavu bunkového cyklu a apoptózu buniek. Upreguláciou expresie tumor supresorového génu *p21WAF-1*, ktorý inhibuje aktivitu cyklín-dependentnej kinázy 2, dochádza k zástave bunkového cyklu v G1/G0 fáze [10]. Imunomodulačné látky indukujú zníženie C/EBP- β proteínu, čo vedie k porušenej transkripcii interferón regulačného faktora 4 (IRF4). Downregulácia expresie IRF4 môže zvýšiť citlivosť myelómových buniek na liečbu a zabezpečuje antiproliferatívny účinok [11]. Pro-apoptotický efekt sa uskutočňuje prostredníctvom väzby ligandov TRAIL na príslušné receptory a cez interakcie FAS receptora a ligandu FAS-L s následnou aktiváciou kaspázy 8 [12]. Na pro-apoptotickom účinku sa podieľa aj supresia nukleárneho faktora NF- κ B s potlačením pro-

Tab. 1. Mechanizmus účinku pomalidomidu.

Účinok	Mechanizmus
priamy antitymélomový	
pro-apoptotický	aktivácia kaspázy 8 supresia nukleárneho faktora NF- κ B
antiproliferatívny	zníženie C/EBP- β proteínu a downregulácia expresie IRF4
zástava bunkového cyklu	upregulácia expresie tumor supresorového génu <i>p21WAF-1</i>
imunomodulačný	
kostimulácia T-Ly	↑ tyrozínová fosforylácia CD28 na Ly a aktivácia PI-3-K signálnej dráhy ↑ transkripčnej aktivity AP-1, kľúčového faktora pre produkciu IL-2
supresia regulačných T-Ly	↓ expresie mRNA transkripčného faktora FOXP3
produkcia Th1-cytokínov	kostimulačný efekt na T-Ly a NKT-bunky vedie k ↑ Th1 cytokínov, IL-2 a IFN- γ
aktivácia NK a NKT buniek	↑ NKT expanzie indukovanej dendritickými bunkami a sekrecie IFN- γ ↑ proliferácie NK buniek v prítomnosti IL-2
ADCC	↑ expresie molekúl granzýmu B a Fas-ligandu v NK bunkách
ovplyvnenie mikroprostredia kostnej drene	
antiangiogénny	↓ migrácie endotelových buniek ↓ expresie adhézných molekúl ↓ VEGF a HIF-1 α
protizápalový	↓ COX-2 a prostaglandínov ↓ prozápalových a ↑ protizápalových cytokínov
antiresorpčný	↓ RANKL a transkripčného faktora PU.1 ↓ rastových faktorov IL-6 a TNF- α

AP-1 – aktivačný proteín 1, ADCC – cytotoxicita závislá od protilátky, C/EBP- β – proteín β viažúci CCAAT enhancer, IRF4 – interferón regulačný faktor, Ly – lymfocyt, PI-3-K – kináza fosforylujúca fosfatidylinozitol, FOXP3 – transkripčný faktor regulačných T lymfocytov, NK – prirodzení zabíjači (natural killer), NKT – T lymfocyty nesúce povrchové markery NK buniek, Th lymfocyty – pomocné T lymfocyty, RANKL – RANK ligand, VEGF – vaskulárny endoteliálny rastový faktor, HIF-1 α – hypoxiou indukovaný faktor, TNF – tumor nekrotizujúci faktor, IL – interleukín, COX – cyklooxygenáza, IFN – interferón

Tab. 2. Rozdiely medzi jednotlivými imunomodulačnými látkami.

	Talidomid	Lenalidomid	Pomalidomid
chemická štruktúra			
indikácie	primoliečba a relaps	relaps	RRMM s aspoň 2 predchádzajúcimi líniami s LEN aj BORT, progresia pri poslednej línii
dávkovanie	100–200 mg/denne	15–25 mg/denne	1–4 mg/denne
imunomodulačný účinok	+	++++	+++++
antimyelómový účinok	+	+++	+++
antiangiogénny účinok	++++	+++	+++
eliminácia	primárne obličkami, < 3 % sa vylučuje v nezmenenej forme	primárne obličkami, ~80 % sa vylučuje v nezmenenej forme	primárne pečeňou, obličkami sa vylučuje < 2 % v nezmenenej forme
nežiaduce účinky	polyneuropatia, obštipácia, HŽT, somnolencia	myelosupresia, HŽT, kožná toxicita	myelosupresia, HŽT, únava

RRMM – relabujúci a refraktérny mnohopočetný myelóm, LEN – lenalidomid, BORT – bortezomib, HŽT – hlboká žilová trombóza

dukcie niektorých cytokínov a rastových faktorov (TNF- α , IL-1 β , IL-6) [13].

Imunomodulačný efekt pomalidomidu spočíva v urýchlčení vyzrievania nediferencovaných T lymfocytov na Th1 lymfocyty s následným uvoľňovaním interleukínu IL-2 a interferónu IFN- γ , ktoré aktivujú NK bunky a dendritické bunky. Pomalidomid zvyšuje cytotoxickú aktivitu NK buniek a bunkami sprostredkovanú cytotoxicitu závislú od protilátky (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity – ADCC) [14,15]. Pomalidomid inhibuje proliferáciu regulačných T lymfocytov, a tým aj ich supresorovú funkciu a súčasne indukuje aktiváciu Rho GTP-ázy so zlepšením formácie T bunkových imunologických synáps [16,17].

Pomalidomid inhibuje väzbu myelómových buniek na stromálne bunky kostnej drene cez downreguláciu sekrécie adhézných molekúl so súčasným znížením produkcie solubilných rastových faktorov (IL-6, TNF- α) a promótorov angiogenézy (vascular endothelial growth factor – VEGF). Pomalidomid inhibuje migráciu endotelových buniek a angiogenézu cez zníženie koncentrácie VEGF a hypoxiou

indukovaného faktora (HIF-1 α) [18–20]. Zistilo sa, že pomalidomid má významný vplyv aj na kostnú chorobu cez inhibíciu RANKL (receptor activator of nuclear factor- κ B ligand) a transkripčného faktora PU.1, čím zabraňuje resorpcii kosti [21,22]. Downregulácia PU.1, kľúčového transkripčného faktora v granulopoéze *in vitro*, môže mať za následok neutropéniu pri liečbe pomalidomidom [23]. Pomalidomid má aj protizápalový účinok cez inhibíciu transkripčnej aktivity COX-2 génu, čím redukuje hladinu COX-2 a prostaglandínov [24].

Expresia génu pre cereblon (CRBN) je dôležitý biomarker pre aktivitu a klinickú účinnosť imunomodulačných látok u MM [25]. CRBN je súčasť E3 ubiquitín ligázy, ktorá reguluje opravy, replikáciu a transkripciu DNA. Pomalidomid a lenalidomid majú vyššiu afinitu väzby na CRBN v porovnaní s talidomidom. Dôležitým zistením je antiproliferatívny účinok pomalidomidu v bunkových líniiach rezistentných na lenalidomid, u ktorých došlo k zníženiu expresie CRBN proteínu. Kombinácia pomalidomidu s dexametazonom má synergický účinok a zvyšuje

citlivosť bunkových línii rezistentných na lenalidomid [26]. *In vitro* štúdie ukázali, že pomalidomid je 10-krát účinnejší ako lenalidomid a viac ako 15 000-krát účinnejší ako talidomid pri inhibícii tumor nekrotizujúceho faktora (TNF- α) [13]. Pri porovnaní imunomodulačných látok, talidomid má výraznejší antiangiogénny efekt s minimálnou imunomodulačnou a pro-apoptotickou aktivitou. Pomalidomid aj lenalidomid majú imunomodulačný aj antiangiogénny účinok [27]. Ukázalo sa, že pomalidomid si ponecháva antimyelómový účinok v bunkových líniiach rezistentných na lenalidomid, ale naopak lenalidomid neúčinkuje v bunkových líniiach rezistentných na pomalidomid [26,28]. Predpokladá sa, že existujú ešte iné proteíny, ktoré modulujú účinok pomalidomidu, a sú potrebné ešte ďalšie prospektívne práce objasňujúce presný mechanizmus účinku pomalidomidu u pacientov refraktérnych na lenalidomid.

Štruktúra a farmakokinetika pomalidomidu

Pomalidomid, podobne ako lenalidomid, je derivát talidomidu, od ktorého sa od-

Tab. 3. Prehľad najdôležitejších klinických štúdií s pomalidomidom.

Klinická štúdia	Počet pacientov (medián veku)	Predchádzajúce línie, medián (rozsah)	Rameno	Refraktérni na Len (%)	Refraktérni na Bort (%)	Refraktérni na Len + Bort (%)	ORR (%)	TTP (mesiace)	PFS (mesiace)	OS
IFM 2009-02, FII [39]	43 (60 rokov)	5 (1–13)	21/28 cyklus	84	79	74	35	5,8	5,4	1-ročné: 58 %
	41 (60 rokov)	5 (2–10)	28/28 cyklus	95	83	78	34	4,8	3,7	1-ročné: 56 %
MM-002, FII [38]	113 (64 rokov)	5 (2–13)	POM + LoDex	78	71	62	33	NA	4,2	16,5 mes.
	108 (61 rokov)	5 (1–12)	POM	80	70	61	18	NA	2,7	13,6 mes.
MM-003, FIII [40]	302 (64 rokov)	5 (2–14)	POM + LoDex	95	79	75	31	4,7	4,0	12,7 mes.
	153 (65 rokov)	5 (2–17)	HiDex	92	79	74	10	2,1	1,9	8,1 mes.

POM – pomalidomid, LoDex – nízкодávkový dexametazon, HiDex – vysokodávkový dexametazon, Len – lenalidomid, Bort – bortezomib, ORR – celkový počet odpovedí, TTP – doba do progresie, PFS – prežívanie bez progresie, OS – celkové prežívanie

lišuje pridaním aminoskupiny na 4. uhlík izoindolínu. Rozdiely medzi jednotlivými imunomodulačnými látkami zobrazuje tab. 2. Pomalidomid sa dobre vstrebáva po perorálnom podaní a biologický polčas v organizme je približne osem hodín. Metabolizuje sa predovšetkým v pečeni, primárne prostredníctvom enzýmu CYP1A2 a CYP3A4, preto je dôležitá obozretnosť pri súčasnom podávaní liekov, ktoré inhibujú alebo indukujú tieto enzýmy. Medzi silné inhibítory aktivity CYP1A2 patria niektoré chinolóny (ciprofloxacín a enoxacín), ktoré môžu zvýšiť hladinu pomalidomidu a jeho toxicitu. Naopak iné chinolóny (norfloxacín, ofloxacín, levofloxacín a moxifloxacín) majú len minimálny alebo žiadny vplyv na aktivitu CYP1A2 [29]. Naopak fajčenie je silným induktorom CYP1A2 a môže znížiť účinnosť pomalidomidu. Len 2 % aktívnej látky sa vylučujú v nezmenenom stave močom, preto nie je potrebné dávku redukovať u pacientov so zhoršenými renálnymi parametrami [30]. Účinnosť a bezpečnosť pomalidomidu však bola zatiaľ sledovaná len u pacientov s miernym obličkovým postihnutím (kreatinín klírens > 45 ml/min), pacienti s horšími renálnymi parametrami boli zo štúdie vylúčení. Ďalšie klinické

údaje o možnosti podávania pomalidomidu u pacientov s ťažkým renálnym postihnutím (kreatinín klírens < 30 ml/min) a u dialyzovaných pacientov by mali priniesť výsledky aktuálne prebiehajúcich štúdií MM-008 a MM-013 [31,32].

Klinické štúdie

Pomalidomid bol skúšaný vo viacerých klinických štúdiách vo fáze I a II u pacientov s relabovaným a/alebo refraktérnym mnohopočetným myelómom (RRMM) a v súčasnosti sú už publikované údaje z III. fázy klinickej štúdie, ktorá bola zároveň aj registračnou štúdiou (tab. 3) [33–42].

Vo fáze I klinickej štúdie MM-002 bola stanovená maximálna tolerovateľná a bezpečná dávka pomalidomidu na 4 mg p.o. po dobu 21 dní v 28-dňových cykloch [35]. Fáza II tejto klinickej štúdie sledovala účinnosť a bezpečnosť pomalidomidu podávaného v monoterapii alebo v kombinácii s nízкодávkovým dexametazonom (LoDex) u pacientov s RRMM. Pri mediáne sledovania 14,2 mesiacov sa zistilo, že pomalidomid v kombinácii s LoDex v porovnaní so samotným pomalidomidom signifikantne predlžil prežívanie bez progresie (progression free survival – PFS: 4,2 vs

2,7 mesiacov; pomer rizika – hazard ratio, HR = 0,68; p = 0,003), OS 16,5 vs 13,6 mesiacov a zvýšil počet celkových odpovedí – overall response rate, ORR (33 vs 18 %; p = 0,013) [38]. Pri porovnaní s novým proteazómovým inhibítorom carfilzomibom, bol v podobnej populácii pacientov s RRMM, zistený celkový počet ORR len 15 % s mediánom OS 11,9 mesiacov [43]. V II. fáze klinickej štúdie IFM 2009-02, podávanie pomalidomidu po dobu 28 dní v 28-dňových cykloch nepreukázalo vyššiu účinnosť v porovnaní s podávaním po dobu 21 dní v 28-dňových cykloch (ORR 34 vs 35 %). Navyše schéma s podávaním pomalidomidu po dobu 28 dní si vyžadovala častejšie podávanie rastových faktorov [39].

Nedávno bola publikovaná multicentrická, otvorená, randomizovaná štúdia fáza III (MM-003) porovnávajúca účinnosť a bezpečnosť pomalidomidu v kombinácii s nízкодávkovým dexametazonom (LoDex) oproti vysokodávkovému dexametazonu (HiDex) u pacientov s refraktérnym alebo relabujúcim a refraktérnym MM, u ktorých zlyhala predchádzajúca liečba bortezomibom a lenalidomidom. Do štúdie bolo randomizovaných 455 pacientov v pomere 2 : 1 (302 pacientov v ramene po-

Tab. 4. Účinnosť pomalidomidu v kombinácii s nízкодávkovým dexametazonom u dvojito refraktérnych pacientov (bortezomib aj lenalidomid).

Autor	Počet pacientov	Dávka POM, cyklus, v kombinácii s LoDex	ORR (%)	Medián DoR (mesiace)	Medián PFS (mesiace)	Medián OS (mesiace)
Lacy et al, 2012 [42]	35	2 mg (28/28)	26	15,6	6,4	16,0
Lacy et al, 2012 [42]	35	4 mg (28/28)	29	3,1	3,3	9,2
Leleu et al, 2013 [39]	64	4 mg (21/28 alebo 28/28)	31	NR	3,8	13,8
Richardson et al, 2014 [38]	69	4 mg (21/28)	31	6,5	3,8	13,4
San Miguel et al, 2013 [40]	225	4 mg (21/28)	28	7,0	3,7	11,1

POM – pomalidomid, LoDex – nízкодávkový dexametazon, ORR – celkový počet odpovedí, DoR – trvanie odpovede, PFS – prežívanie bez progresie, OS – celkové prežívanie, NR – no response

malidomid + LoDex a 153 pacientov v ramene s HiDex). V kombinácii s pomalidomidom pacienti dostávali LoDex v dávke 40 mg p.o. v deň 1, 8, 15, 22; u pacientov nad 75 rokov bola dávka redukovaná na 20 mg. Vysokodávkový dexametazon bol podávaný v dávke 40 mg p.o. v deň 1–4, 9–12 a 17–20. Predbežná analýza sa realizovala po objavení sa 134 úmrtí a po odslepení štúdie prešlo 76 pacientov v ramene s HiDex na liečbu pomalidomidom. Až 95 % pacientov v ramene s pomalidomidom bolo rezistentných na lenalidomid, 79 % na bortezomib a 75 % pacientov bolo rezistentných na obidva lieky. S mediánom sledovania 10 mesiacov sa zaznamenalo v ramene s pomalidomidom a nízкодávkovým dexametazonom zníženie miery progresie o 52 %. Doba prežívania bez progresie bola v ramene s pomalidomidom a nízкодávkovým dexametazonom 4,0 mesiaca a v ramene s HiDex bola 1,9 mesiaca (HR = 0,48; 95% CI 0,39–0,60; $p < 0,001$) a doba do progresie (time to progression – TTP) bola signifikantne dlhšia v ramene s pomalidomidom a LoDex (4,7 vs 2,1 mesiaca; HR = 0,46; 95% CI 0,36–0,59; $p < 0,0001$). U pacientov liečených pomalidomidom a LoDex bolo zistené zlepšené OS (12,7 vs 8,1 mesiaca; HR = 0,74; 95% CI 0,56–0,97; $p = 0,03$). Avšak údaj o OS je podhodnotený, nakoľko v čase analýzy 50 % pacientov zaradených do ramena s HiDex dostávala pomalidomid. Celkový počet odpovedí bol signifikantne vyšší u pacientov s pomalidomidom a LoDex oproti kontrol-

nému ramenu (31 vs 10 %; odds ratio – pomer pravdepodobností, OR = 4,22; 95% CI 2,35–7,58; $p < 0,0001$) [40]. Celkový počet liečebných odpovedí u dvojito refraktérnych pacientov, aj na lenalidomid aj na bortezomib, bol v klinických štúdiách dosiahnutý u 26–31 % pacientov (tab. 4).

Účinnosť pomalidomidu bola potvrdená aj u pacientov s nepriaznivou cytogenetikou. V klinickej štúdií MM-003, pacienti s nepriaznivými cytogenetickými markermi, ktorí boli liečení pomalidomidom a LoDex, dosiahli lepšie PFS a OS ako pacienti s vysokodávkovým dexametazonom [44]. V II. fáze klinickej štúdie IFM 2010-02 bola účinnosť a bezpečnosť pomalidomidu sledovaná u pacientov s RRMM s pozitivitou del(17p) a/alebo t(4,14). Pacienti s del(17p) viacej profitovali z podávania pomalidomidu ako pacienti s t(4,14) (TTP 8 vs 3 mesiace; OS nebol dosiahnutý vs 9 mesiacov) [45].

Účinnosť a bezpečnosť pomalidomidu nebola ovplyvnená vekom. Pacienti starší ako 65 rokov mali podobný PFS ako pacienti mladší ako 65 rokov [40]. Podobne boli zistené lepšie výsledky ohľadom kvality života u pacientov liečených pomalidomidom a LoDex oproti pacientom s HiDex [46].

Bezpečnosť

Nežiaduce účinky pomalidomidu a lenalidomidu sú podobné. Medzi najčastejšie patrí myelosupresia. V klinických štúdiách je incidencia 3. a 4. stupňa neutropénie 41–65 %, trombocytopenie 19–28 %

a anémie v rozmedzí 22–37 % [38–40]. Pneumónia/infekčné komplikácie a únava boli najčastejšie nehematologické nežiaduce účinky 3. a 4. stupňa. V klinickej štúdií MM-003 boli infekčné komplikácie porovnateľné u pacientov s pomalidomidom a LoDex oproti pacientom s HiDex (30 vs 24 %), febrilná neutropénia sa objavila u 10 % pacientov s pomalidomidom. Substitúciu rastovými faktormi dostalo 43 % pacientov, 67 % pacientov si vyžadovalo prerušenie liečby a 27 % redukcii dávky v ramene s pomalidomidom. Neutropénia sa najčastejšie vyskytovala v priebehu prvých cyklov liečby pomalidomidom. Zo závažných nežiaducich účinkov 5. stupňa sa vyskytovali infekčné komplikácie (5 % v ramene s pomalidomidom vs 11 % v ramene s HiDex) [40].

Pri použití tromboprofylaxie sa venóznym tromboembolizmus vyskytol u 2 % pacientov s pomalidomidom a 1 % pacientov s HiDex. Z ostatných nežiaducich účinkov sa u pacientov s pomalidomidom v porovnaní s kontrolným ramenom vyskytovala periférna polyneuropatia akéhokoľvek stupňa (15 vs 11 %, pričom polyneuropatia 3. a 4. stupňa bola v oboch ramenách iba 2 %) [40]. Porovnanie jednotlivých nežiaducich účinkov imunomodulačných liekov sumarizuje tab. 5.

Nové kombinačné režimy s pomalidomidom

V rámci I. a II. fázy klinických štúdií sa pomalidomid skúša u pacientov s RRMM

Tab. 5. Najčastejšie nežiaduce účinky pomalidomidu v klinických štúdiách [38–40].

Nežiaduci účinok 3. alebo 4. stupňa	Frekvencia (%)
neutropénia	41–65
anémia	22–37
trombocytopénia	19–28
pneumónia	7–22
únava	5–14
dyspnoe	5–13
bolesti kostí	7–14
asténia	4–14
hyperkalciémia	4–10
svalová slabosť	1–6
renálne zlyhanie	5–16
febrilná neutropénia a sepsa	5–10

okrem podávania s dexametazonom aj v nových kombináciách.

Pomalidomid sa skúmal spolu s cyklofosfamidom a prednizonom (PCP) u pacientov s RRMM s mediánom 3 prechádzajúcich línii. Celkový počet odpovedí bol 51 % a pri mediáne sledovania 14,8 mesiacov bol dosiahnutý PFS v dĺžke 10,4 mesiacov a 1-ročné OS bolo 69 %. Medzi najčastejšie nežiaduce účinky patrila cytopénia [47].

Už v predchádzajúcich štúdiách bol potvrdený efekt kombinácie imunomodulačných látok a inhibítorov proteazómu [48]. V klinickej štúdii MM-005 sa sledoval pomalidomid a dexametazon v kombinácii s bortezomibom (PVD) bez dosiahnutia toxicity limitujúcej dávku (DLT) a s dosiahnutým ORR 75 %. Maximálna plánovaná dávka pomalidomidu 4 mg D 1–14, bortezomibu 1,3 mg/m² D 1, 4, 8 a 11 a dexametazonu 20 mg D 1–2, 4–5, 8–9 a 11–12 sa inkorporovala do III. fázy klinickej štúdie MM-007 porovnávajúcej účinnosť PVD vs VD [49]. V II. fáze klinickej štúdie pomalidomidu s carfilzomibom a dexametazonom (Car-Pom-d), ktorú tvorili pacienti refraktérni na podávanie lenalidomidu s mediánom 6 prechádzajúcich línii, sa zistil ORR 64 % [50]. Medzi najčastejšie nežia-

duce účinky patrila hematologická toxicita a polyneuropatia 1. a 2. stupňa u 32–43 % pacientov [49,50].

Klaritromycín má imunomodulačný účinok v dôsledku downregulácie IL-6 a aktivácie NK buniek a súčasne má aj pro-apoptotický efekt. Pridanie klaritromycínu k pomalidomidu zvýši jeho antityelomový efekt. V II. fáze klinickej štúdie kombinácia pomalidomidu, klaritromycínu a dexametazonu, u pacientov s mediánom 5 prechádzajúcich línii a refraktérnych na lenalidomid aj bortezomib, dosiahla ORR 56 % s rýchlym nástupom odpovede po 1–2 cykloch [51].

Autori Berenson et al sledovali účinnosť kombinácie pomalidomidu s lipozomálnym doxorubicínom. Celkový počet odpovedí u pacientov s mediánom 5 prechádzajúcich línii bol 34,5 % [52].

V súčasnosti prebiehajú ďalšie klinické štúdie s pomalidomidom aj v iných indikáciách ako MM, napr. u pacientov vo fibrotickom štádiu myeloproliferatívnych neoplázií, Waldenströmovej makroglobulinémie, systémovej amyloidózy, na liečbu graft vs host disease, ako aj u pacientov s nehematologickými ochoreniami ako je sarkóm a systémová skleróza s intersticiálnym pľúcnym procesom.

Záver a odporúčania pre prax

Praktické odporúčania pre liečbu pomalidomidom boli nedávno publikované v časopise Leukemia [53]. Pomalidomid je registrovaný na liečbu relabujúceho/refraktérneho myelómu u pacientov s aspoň dvomi prechádzajúcimi líniami s lenalidomidom aj bortezomibom, pričom došlo k progresii ochorenia pri poslednej línii.

Dávkovanie

Optimálna dávka je 4 mg p.o. po dobu 21 dní v 28-dňových cykloch a synergický efekt sa potvrdil pri podávaní spolu s dexametazonom (u pacientov do 75 rokov v dávke 40 mg 1-krát týždenne a u pacientov nad 75 rokov v dávke 20 mg 1-krát týždenne). Dĺžka podávania pomalidomidu nie je zatiaľ stanovená, v rámci klinických štúdií sa podáva až do objavenia sa progresie ochorenia alebo neakceptovateľnej toxicity. Liečba by sa nemala za-

hájiť u pacienta s absolútnym počtom neutrofilov pod 1 000/μl a pri počte trombocytov pod 75 000/μl pri menej ako 50% infiltrácii kostnej drene (KD) alebo pod 30 000/μl pri viac ako 50% infiltrácii KD plazmatickými bunkami. Krvný obraz by mal byť kontrolovaný každé 1–2 týždne počas prvých 8 týždňov liečby, ďalej v mesačných intervaloch. V prípade cytopénie je potrebná redukcia dávky s možným podaním rastových faktorov G-CSF v dávke 300 μg/kg 3 po sebe nasledujúce dni D 22–24 v rámci 28-dňového cyklu. U pacientov s ľahkou až stredne ťažkou renálnou insuficienciou, ani u pacientov nad 65 rokov nie je potrebná úprava dávky [53].

Profylaktické opatrenia

U vysokorizikových pacientov sa odporúča antibiotická profylaxia, najmä počas prvých troch mesiacov liečby, a u veľmi vysokorizikových pacientov (neutropénia a/alebo predchádzajúce infekcie) by mala byť profylaxia podávaná počas celej liečby pomalidomidom. V rámci profylaxie sú vhodné antibiotiká ako trimetoprim-sulfametoxazol, penicilín, amoxicilín, chinolóny a ďalšie [54,55]. Pri použití chinolónov treba uprednostniť tie, ktoré majú minimálny alebo žiadny vplyv na CYP1A2. V rámci tromboprofylaxie sa u pacientov so štandardným rizikom (žiadny rizikový faktor) odporúča aspirín a u pacientov s vysokým rizikom (aspoň jeden rizikový faktor) sa odporúča tromboprofylaxia nízkomolekulovým heparínom v profylaktickom dávkovaní minimálne po dobu štyroch mesiacov s následným prehodnotením rizika [56,57].

Na základe dostupných výsledkov klinických štúdií je pomalidomid účinný imunomodulačný liek u pacientov s RRMM. Sú však potrebné ešte ďalšie klinické štúdie na určenie optimálneho času zahájenia liečby pomalidomidom, vhodného kombináčného režimu, ako aj dĺžky jeho podávania s cieľom zlepšiť celkové prežívanie pacientov s MM a prispieť k otázke vyliečiteľnosti tohto ochorenia.

Literatúra

1. Attal M, Lauwers-Cances V, Marit G et al. Lenalidomide maintenance after stem-cell transplantation for multiple myeloma. *N Engl J Med* 2012; 366(19): 1782–1791. doi: 10.1056/NEJMoa1114138.

2. McCarthy PL, Owzar K, Hofmeister CC et al. Lenalidomide after stem-cell transplantation for multiple myeloma. *N Engl J Med* 2012; 366(19): 1770–1781. doi: 10.1056/NEJMoa1114083.
3. Palumbo A, Hajek R, Delforge M et al. Continuous lenalidomide treatment for newly diagnosed multiple myeloma. *N Engl J Med* 2012; 366(19): 1759–1769. doi: 10.1056/NEJMoa1112704.
4. Rossi A, Mark T, Jayabalan D et al. BiRD (clarithromycin, lenalidomide, dexamethasone): an update on long term lenalidomide therapy in previously untreated patients with multiple myeloma. *Blood* 2013; 121(11): 1982–1985. doi: 10.1182/blood-2012-08-448563.
5. Kumar SK, Lee JH, Lahuerta JJ et al. Risk of progression and survival in multiple myeloma relapsing after therapy with IMiDs and bortezomib: a multicenter International Myeloma Working Group study. *Leukemia* 2012; 26(1): 149–157. doi: 10.1038/leu.2011.196.
6. Hájek R, Plonková H, Gumulec J. Thalidomide in the treatment of multiple myeloma: focus on combination with bortezomib. *Klin Onkol* 2013; 26(3): 163–169.
7. Holánek M, Hájek R. The use of lenalidomide in the treatment of multiple myeloma. *Klin Onkol* 2010; 23(2): 67–72.
8. Roziaková L, Mistrík M. Lenalidomide maintenance therapy in patients with multiple myeloma. *Klin Onkol* 2013; 26(3): 186–190.
9. Sedlářiková L, Kubiczková L, Sevciková S et al. Mechanism of immunomodulatory drugs in multiple myeloma. *Leuk Res* 2012; 36(10): 1218–1224. doi: 10.1016/j.leukres.2012.05.010.
10. Escoubet-Lozach L, Lin IL, Jensen-Pergakes K et al. Pomalidomide and lenalidomide induce p21 WAF-1 expression in both lymphoma and multiple myeloma through a LSD1-mediated epigenetic mechanism. *Cancer Res* 2009; 69(18): 7347–7356. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-4898.
11. Li S, Pal R, Monaghan SA et al. IMiD immunomodulatory compounds block C/EBP β translation through eIF4E down-regulation resulting in inhibition of MM. *Blood* 2011; 117(19): 5157–5165. doi: 10.1182/blood-2010-10-314278.
12. Mitsiades N, Mitsiades CS, Poulaki V et al. Apoptotic signaling induced by immunomodulatory thalidomide analogs in human multiple myeloma cells: therapeutic implications. *Blood* 2002; 99(12): 4525–4530.
13. Corral LG, Haslett PA, Muller GW et al. Differential cytokine modulation and T cell activation by two distinct classes of thalidomide analogues that are potent inhibitors of TNF- α . *J Immunol* 1999; 163(1): 380–386.
14. Hayashi T, Hideshima T, Akiyama M et al. Molecular mechanisms whereby immunomodulatory drugs activate natural killer cells: clinical application. *Br J Haematol* 2005; 128(2): 192–203.
15. Reddy N, Hernandez-Ilizaliturri FJ, Deeb G et al. Immunomodulatory drugs stimulate natural killer-cell function, alter cytokine production by dendritic cells, and inhibit angiogenesis enhancing the anti-tumour activity of rituximab in vivo. *Br J Haematol* 2008; 140(1): 36–45.
16. Galustian C, Meyer B, Labarthe MC et al. The anti-cancer agents lenalidomide and pomalidomide inhibit the proliferation and function of T regulatory cells. *Cancer Immunol Immunother* 2009; 58(7): 1033–1045. doi: 10.1007/s00262-008-0620-4.
17. Xu Y, Li J, Ferguson GD et al. Immunomodulatory drugs reorganize cytoskeleton by modulating rho GTPases. *Blood* 2009; 114(2): 338–345. doi: 10.1182/blood-2009-02-200543.
18. Lu L, Payvandi F, Wu L et al. The anti-cancer drug lenalidomide inhibits angiogenesis and metastasis via multiple inhibitory effects on endothelial cell function in normoxic and hypoxic conditions. *Microvasc Res* 2009; 77(2): 78–86. doi: 10.1016/j.mvr.2008.08.003.
19. 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.
20. Gupta D, Treon SP, Shima Y et al. Adherence of multiple myeloma cells to bone marrow stromal cells upregulates vascular endothelial growth factor secretion: therapeutic applications. *Leukemia* 2001; 15(12): 1950–1961.
21. Anderson G, Gries M, Kurihara N et al. Thalidomide derivative CC-4047 inhibits osteoclast formation by down-regulation of PU.1. *Blood* 2006; 107(8): 3098–3105.
22. Bolzoni M, Abeltino M, Storti P et al. The immunomodulatory drugs lenalidomide and pomalidomide inhibit multiple myeloma-induced osteoclast formation and RANKL/OPG ratio in myeloma microenvironment targeting the expression of adhesion molecules. *Blood (ASH Annu Meet Abstr)* 2010; 116: abstr. 448.
23. Pal R, Monaghan SA, Hassett AC et al. Immunomodulatory derivatives induce PU.1 down-regulation, myeloid maturation arrest, and neutropenia. *Blood* 2010; 115(3): 605–614. doi: 10.1182/blood-2009-05-221077.
24. Ferguson GD, Jensen-Pergakes K, Wilkey C et al. Immunomodulatory drug CC-4047 is a cell-type and stimulus-selective transcriptional inhibitor of cyclooxygenase 2. *J Clin Immunol* 2007; 27(2): 210–220.
25. Broyl A, Kuiper R, van Duin M et al. High cereblon expression is associated with better survival in patients with newly diagnosed multiple myeloma treated with thalidomide maintenance. *Blood* 2013; 121(4): 624–627. doi: 10.1182/blood-2012-06-438101.
26. Rychak E, Mendy D, Miller K et al. Overcoming resistance: the use of pomalidomide (Pom) and dexamethasone (Dex) in re-sensitizing lenalidomide (Len)-resistant multiple myeloma (MM) cells. *Haematologica* 2011; 96: 126.
27. Quach H, Ritchie D, Stewart AK et al. Mechanism of action of immunomodulatory drugs (IMiDs) in multiple myeloma. *Leukemia* 2010; 24(1): 22–32. doi: 10.1038/leu.2009.236.
28. Lopez-Girona A, Mendy D, Ito T et al. Cereblon is a direct protein target for immunomodulatory and antiproliferative activities of lenalidomide and pomalidomide. *Leukemia* 2012; 26(11): 2326–2335. doi: 10.1038/leu.2012.119.
29. Robson RA. The effects of quinolones on xanthine pharmacokinetics. *Am J Med* 1992; 92 (Suppl 4A): 22S–25S.
30. Hoffmann M, Kasserra C, Reyes J et al. Absorption, metabolism and excretion of [14C]pomalidomide in humans following oral administration. *Cancer Chemother Pharmacol* 2013; 71(2): 489–501. doi: 10.1007/s00280-012-2040-6.
31. Matous J, Siegel DS, Duong HK et al. MM-008: a phase 1 trial evaluating pharmacokinetics and tolerability of pomalidomide + low-dose dexamethasone in patients with relapsed/refractory multiple myeloma and renal impairment. *Blood (ASH Annu Meet Abstr)* 2013; 122: abstr. 5393.
32. Clinicaltrials.gov [homepage on the Internet]. ClinicalTrials.gov. A service of the U.S. National Institutes of Health. [cited 2014 May 31]. Available from: <http://clinicaltrials.gov/>.
33. Schey SA, Fields P, Bartlett JB et al. Phase I study of an immunomodulatory thalidomide analog, CC-4047, in relapsed or refractory multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2004; 22(16): 3269–3276.
34. Streety MJ, Gyertson K, Daniel Y et al. Alternate day pomalidomide retains anti-myeloma effect with reduced adverse events and evidence of in vivo immunomodulation. *Br J Haematol* 2008; 141(1): 41–51. doi: 10.1111/j.1365-2141.2008.07013.x.
35. Richardson PG, Siegel D, Baz R et al. Phase 1 study of pomalidomide MTD, safety, and efficacy in patients with refractory multiple myeloma who have received lenalidomide and bortezomib. *Blood* 2013; 121(11): 1961–1967. doi: 10.1182/blood-2012-08-450742.
36. Lacy MQ, Hayman SR, Gertz MA et al. Pomalidomide (CC4047) plus low-dose dexamethasone as therapy for relapsed multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2009; 27(30): 5008–5014. doi: 10.1200/JCO.2009.23.6802.
37. Lacy MQ, Hayman SR, Gertz MA et al. Pomalidomide (CC4047) plus low dose dexamethasone (pom/dex) is active and well tolerated in lenalidomide refractory multiple myeloma (MM). *Leukemia* 2010; 24(11): 1934–1939. doi: 10.1038/leu.2010.190.
38. Richardson PG, Siegel DS, Vij R et al. Pomalidomide alone or in combination with low-dose dexamethasone in relapsed and refractory multiple myeloma: a randomized phase 2 study. *Blood* 2014; 123(12): 1826–1832. doi: 10.1182/blood-2013-11-538835.
39. Leleu X, Attal M, Arnulf B et al. Pomalidomide plus low dose dexamethasone is active and well tolerated in bortezomib and lenalidomide-refractory multiple myeloma: Intergroupe Francophone du Myelome 2009-02. *Blood* 2013; 121(11): 1968–1975. doi: 10.1182/blood-2012-09-452375.
40. San Miguel J, Weisel K, Moreau P et al. Pomalidomide plus low-dose dexamethasone versus high-dose dexamethasone alone for patients with relapsed and refractory multiple myeloma (MM-003): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2013; 14(11): 1055–1066. doi: 10.1016/S1470-2045(13)70380-2.
41. Lacy MQ, Alred JB, Gertz MA et al. Pomalidomide plus low-dose dexamethasone in myeloma refractory to both bortezomib and lenalidomide: comparison of 2 dosing strategies in dual-refractory disease. *Blood* 2011; 118(11): 2970–2975. doi: 10.1182/blood-2011-04-348896.
42. Lacy MQ, Kumar SK, LaPlant BR et al. Pomalidomide plus low-dose dexamethasone (pom/dex) in relapsed myeloma: long term follow up and factors predicting outcome in 345 patients. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 2012; 120: abstr. 201.
43. Siegel DS, Martin T, Wang M et al. A phase 2 study of single-agent carfilzomib (PX-171-003-A1) in patients with relapsed and refractory multiple myeloma. *Blood* 2012; 120(14): 2817–2825. doi: 10.1182/blood-2012-05-425934.
44. Dimopoulos MA, Weisel KC, Song KW et al. Final analysis, cytogenetics, long-term treatment, and long-term survival in MM-003, a phase 3 study comparing pomalidomide/low-dose dexamethasone (POM+LoDEX) vs high-dose dexamethasone (HiDEX) in relapsed/refractory multiple myeloma (RRMM). *Blood (ASH Annu Meet Abstr)* 2013; 122: abstr. 408.
45. Leleu X, Karlin L, Macro M et al. Pomalidomide plus low-dose dexamethasone in relapsed or refractory multiple myeloma (RRMM) with deletion (del)17p and/or translocation t(4;14). *Blood (ASH Annu Meet Abstr)* 2013; 122: abstr. 689.
46. San Miguel J, Weisel KC, Moreau P et al. Quality of life improvements for pomalidomide+low-dose dexamethasone (POM+LoDEX) in relapsed and refractory MM (RRMM). *Clin Lymphoma Myeloma Leuk (IMW Annu Meet Abstr)* 2013; 13 (Suppl 1): abstr. 430.
47. Larocca A, Montefusco V, Bringhen S et al. Pomalidomide, cyclophosphamide and prednisone for relapsed/refractory multiple myeloma: a multicenter phase 1/2 open label study. *Blood* 2013; 122(16): 2799–2806. doi: 10.1182/blood-2013-03-488676.
48. Kumar S, Flinn I, Richardson PG et al. Randomized, multicenter, phase 2 study (EVOLUTION) of combinations of bortezomib, dexamethasone, cyclophosphamide, and lenalidomide in previously untreated multiple myeloma. *Blood* 2012; 119(19): 4375–4382. doi: 10.1182/blood-2011-11-395749.
49. Richardson PG, Hofmeister CC, Siegel D et al. mm-005: a phase 1 trial of pomalidomide, bortezomib, and low-dose dexamethasone (pvd) in relapsed and/or refractory multiple myeloma (RRMM). *Blood (ASH Annu Meet Abstr)* 2013; 122: abstr. 1969.

50. Shah JJ, Stadtmauer EA, Abonour R et al. Phase I/II dose expansion of a multi-center trial of carfilzomib and pomalidomide with dexamethasone (car-pom-d) in patients with relapsed/refractory multiple myeloma. *Blood (ASH Annu Meet Abstr)* 2013; 122: abstr. 690.
51. Mark TM, Boyer A, Rossi AC et al. Clapd (clarithromycin, pomalidomide, dexamethasone) therapy in relapsed or refractory multiple myeloma. *Blood (ASH Annu Meet Abstr)* 2013; 122: abstr. 1955.
52. Berenson JR, Hilger JD, Klein L et al. Pomalidomide, dexamethasone and pegylated liposomal doxorubicin for patients with relapsed/refractory multiple myeloma: results from a phase 1/2 trial. *Blood (ASH Annu Meet Abstr)* 2013; 122: abstr. 3218.
53. Dimopoulos MA, Leleu X, Palumbo A et al. Expert panel consensus statement on the optimal use of pomalidomide in relapsed and refractory multiple myeloma. *Leukemia*. In press 2014. doi: 10.1038/leu.2014.60.
54. Ludwig H, Miguel JS, Dimopoulos MA et al. International Myeloma Working Group recommendations for global myeloma care. *Leukemia* 2014; 28(5): 981–992. doi: 10.1038/leu.2013.293.
55. Flowers CR, Seidenfeld J, Bow EJ et al. Antimicrobial prophylaxis and outpatient management of fever and neutropenia in adults treated for malignancy: American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline. *J Clin Oncol* 2013; 31(6): 794–810. doi: 10.1200/JCO.2012.45.8661.
56. Palumbo A, Rajkumar SV, Dimopoulos MA et al. Prevention of thalidomide- and lenalidomide-associated thrombosis in myeloma. *Leukemia* 2008; 22(2): 414–423.
57. Leleu X, Rodon P, Hulin C et al. MELISSE, a large multicentric observational study to determine risk factors of venous thromboembolism in patients with multiple myeloma treated with immunomodulatory drugs. *Thromb Haemost* 2013; 110(4): 844–851. doi: 10.1160/TH13-02-0140.

Cereblon – nový terapeutický cieľ v liečbe mnohopočetného myelómu

Cereblon – a New Target of Therapy in the Treatment of Multiple Myeloma

Stanková M.¹, Bešše L.^{1,2}, Sedlaříková L.^{1,2}, Vrábel D.¹, Hájek R.^{1,2}, Ševčíková S.^{1,2}

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

² Oddělení klinické hematologie, FN Brno

Souhrn

Liečba mnohopočetného myelómu (multiple myeloma – MM), v súčasnosti nevyliciteľného ochorenia, sa zameriava na dosiahnutie kompletnej remisie. Jednou skupinou liekov, ktorá je v tomto ohľade pomerne efektívna, sú imunomodulačné lieky (immunomodulatory drugs – IMiDs) ako napr. talidomid. Mechanizmus ich účinku však nie je doposiaľ úplne jasný. Posledné výskumy naznačujú, že dôležitú úlohu v sprostredkovaní protinádorových účinkov IMiDs zohráva proteín cereblon (CRBN), na ktorý sa v tomto prehľadovom článku zameriavame. Tento proteín má funkciu substrátového receptora v Cul4-E3 ubiquitín-proteín ligázovom komplexe, a teda rozpoznáva proteíny určené k degradácii. Väzbou CRBN a IMiDs sa inhibuje funkcia celého ubiquitín-proteazómového komplexu, čo vysvetľuje ich protinádorové účinky. Okrem toho bola potvrdená aj korelácia medzi expresiou génu *CRBN* a efektívnosťou liečby u MM pacientov liečených IMiDs. Tieto poznatky naznačujú, že expresia CRBN by mohla slúžiť ako biomarker pre predikciu odpovedi na liečbu pomocou IMiDs u pacientov s MM.

Klíčové slová

cereblon – mnohopočetný myelóm – imunomodulačné lieky

Summary

Treatment of multiple myeloma (MM), currently an incurable disease, aims to achieve complete remission. Immunomodulatory drugs (IMiDs), represented by thalidomide, are one class of very effective drugs. However, the mechanism of IMiDs action is not yet completely understood. Recent research suggests that cereblon (CRBN) plays an important role in mediating anti-tumor effects of IMiDs; therefore, our review focuses on this protein. CRBN is a substrate receptor of Cul4-E3 ubiquitin ligase complex, and thus recognizes proteins destined for degradation. Binding of CRBN and IMiDs inhibits function of the entire ubiquitin-proteasome complex which partly explains their anti-tumor effects. In addition, a correlation between *CRBN* gene expression and effectiveness of treatment in MM patients treated with IMiDs was confirmed. These findings suggest that CRBN expression could possibly serve as a biomarker to predict response to IMiD in MM patients.

Key words

cereblon – multiple myeloma – immunomodulatory drugs

Práce byla podpořena granty IGA MZ ČR NT14575 a NT12130.

This study was supported by grants IGA MZ ČR NT14575 and NT12130.

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

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

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

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



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: 12. 5. 2014
Přijato/Accepted: 19. 5. 2014

<http://dx.doi.org/10.14735/amko2014326>

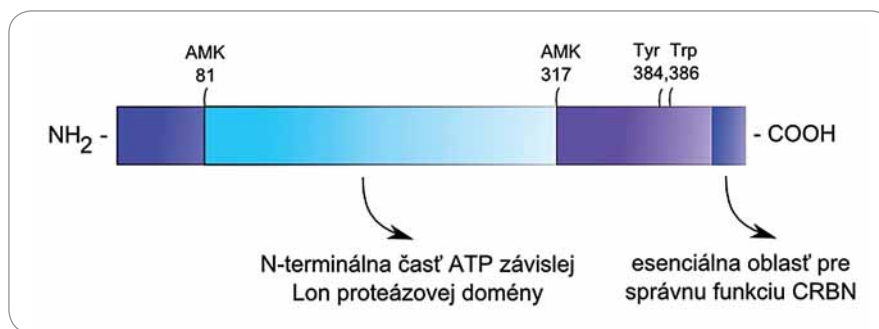
Úvod

Mnohopočetný myelóm (multiple myeloma – MM) je nádorové ochorenie plazmatických buniek (PB), ktoré svetová zdravotnícka organizácia (WHO) radí medzi B lymfoproliferatívne neoplazmy [1]. Vyznačuje sa proliferáciou malígnych PB a produkciou monoklonálneho imunoglobulínu (M-Ig) zapríčínujúceho klinickú manifestáciu ochorenia [2]. Ide o druhé najčastejšie zhubné hematologické ochorenie, ktoré je zatiaľ nevyliciteľné. So zavedením moderných liečebných postupov a zlepšením včasnej diagnostiky sa však výrazne zvýšila doba prežitia pacientov trpiacich týmto ochorením. Cieľom liečby je dosiahnutie kompletnej remisie a eliminácia klinických príznakov. U väčšiny pacientov stále dochádza k relapsu ochorenia [3].

V súčasnosti sú jednou z možností efektívnej liečby imunomodulačné lieky (immunomodulatory drugs – IMiDs), kde patrí talidomid a jeho deriváty – lenalidomid a pomalidomid. Tieto lieky dokázali svoj účinok nielen priamo proti nádorovým bunkám indukciou apoptózy, ale aj nepriamo, kedy ovplyvňujú interakcie myelómových buniek s mikroprostredím kostnej drene, účinkujú proti novotvorbe ciev, proti zápalu a podporujú účinnosť imunitného systému (zhrnuté v [4]).

Pre možnosť vytvorenia čo najefektívnejších a cielených liekov je nutné pochopiť presný mechanizmus ich účinku v bunke. Prielomom bolo identifikovanie cereblonu (CRBN) ako primárneho cieľa IMiDs v myelómových bunkách [5]. Po tomto objave sa CRBN stal záujmom mnohých štúdií kvôli objasneniu proti-myelómovej aktivity IMiDs.

CRBN sa okrem iného vyskytuje v bunke ako súčasť ubikvitinizačného komplexu, ktorý má za úlohu označovať proteíny určené k degradácii polyubikvitínovým reťazcom [6,7]. Pri bližších štúdiách CRBN bola zistená výrazná korelácia medzi hladinou expzie génu *CRBN* a odpoveďou nádorových pacientov na liečbu IMiDs [8–10]. Pre sprostredkovanie protimyelómovej aktivity IMiDs je nutná väzba na CRBN. Toto zistenie posunulo CRBN na pozíciu možného farmakodynamického biomarkeru, ktorý by v budúcnosti mohol slúžiť ako predikčný marker pre úspešnosť liečby MM.



Obr. 1. Štruktúra proteínu CRBN.

Proteín CRBN tvorí 442 aminokyselín, pričom pre väzbu talidomidu na CRBN sú nevyhnuté tyrozín na pozícii 384 a tryptofán na pozícii 386. CRBN navyše obsahuje N-terminálnu časť ATP-dependentnej Lon proteázovej domény.

Cereblon

CRBN je proteín o veľkosti 55 kDa, ktorý je kódovaný génom *CRBN* [11]. U človeka je gén *CRBN* lokalizovaný na chromozóme 3 (3p26.2) [12], obsahuje 11 predikovaných exónov a kóduje 442 aminokyselín (AMK), pričom pre väzbu talidomidu na CRBN sú nevyhnuté aminokyselinové zvyšky – tyrozín na pozícii 384 a tryptofán na pozícii 386 (obr. 1) [5]. CRBN obsahuje N-terminálnu časť (237 AMK 81–317) ATP-dependentnej Lon proteázovej domény, ktorá hrá úlohu v proteín-proteínových interakciách, ale nemá proteázovú ani ATPázovú aktivitu [13].

Fyziologicky je CRBN vysoko exprimovaný v semenníkoch, slezine, prostate, pečeni, podžalúdkovej žľaze, placentе, obličkách, pľúcach, kostrových svaloch, vaječníkoch, tenkom čreve, periférnych leukocytoch, hrubom čreve, mozgu a sietnici [11,14–17]. V bunke je lokalizovaný v cytoplazme, jadre a bunkovej membráne [5,11,15–18]. Po prvýkrát bol CRBN opísaný v roku 2004 v súvislosti s mentálnou retardáciou [13]. Neskoršie experimenty ukázali, že CRBN má v organizme viacero funkcií. Viaz sa na cytosolický C-terminálny koniec napäťovo-vrátkovaných chloridových kanálov – CIC-1 a CIC-2 a na α -podjednotku C-terminálneho konca draslíkového kanálu, ktorý je aktivovaný vápenatými iónmi (BK_{Ca}) [11,16]. Ďalej interaguje s α 1 podjednotkou AMP-aktivovanej proteín kinázy a zabraňuje tak sfornovaniu funkčného holoenzýmu [19]. Jednou z najvýznamnejších funkcií, z terapeutického hľadiska, je schopnosť CRBN

viazať IMiDs a sprostredkovať ich protinádorový efekt [5].

Súčasná data naznačujú, že CRBN spoločne s DDB1 (DNA-damage binding protein 1) sú podjednotkami Cul4-E3 ubikvitín-ligázového komplexu. Tento proteínový komplex je zložený z DDB1, Cul4 (Cul4a a Cul4b), Roc1 a substrátového receptora [6,7]. E3 ubikvitín-ligázový komplex slúži k degradácii proteínov, ktoré sú označené polyubikvitínovým reťazcom a sú určené k odstráneniu. Samotná ubikvitinizácia prebieha v troch krokoch, ktoré sú katalyzované aktivačným enzýmom E1, konjugáčnym enzýmom E2 a ligázou E3 [20]. Roc1 a Cul4 tvoria katalytické jadro a interagujú s E2 konjugáčnym enzýmom. DDB1 umožňuje spojenie medzi Cul4 a substrátovým receptorom.

Štúdia Ito et al (2010) potvrdzuje, že CRBN je podjednotkou Cul4-E3 ubikvitín-ligázového komplexu a súťaží s DDB2 (DNA-damage binding protein 2) o väzbu na DDB1. Okrem toho sa zistilo, že komplex vykazuje autoubikvitinizačnú aktivitu. Predpokladá sa, že CRBN funguje ako substrátový receptor, a teda práve CRBN rozpoznáva proteíny, ktoré majú byť v bunke degradované. Súčasťou štúdie bolo aj zistenie, že autoubikvitinizačná aktivita bola inhibovaná po pridaní talidomidu *in vitro*, čo naznačuje, že talidomid pôsobí ako inhibítor na E3 ubikvitín-ligázový komplex (obr. 2) [5].

Cereblon a mnohopočetný myelóm

Pôsobenie talidomidu bolo skúmané viac ako pol storočia, pričom bolo vy-

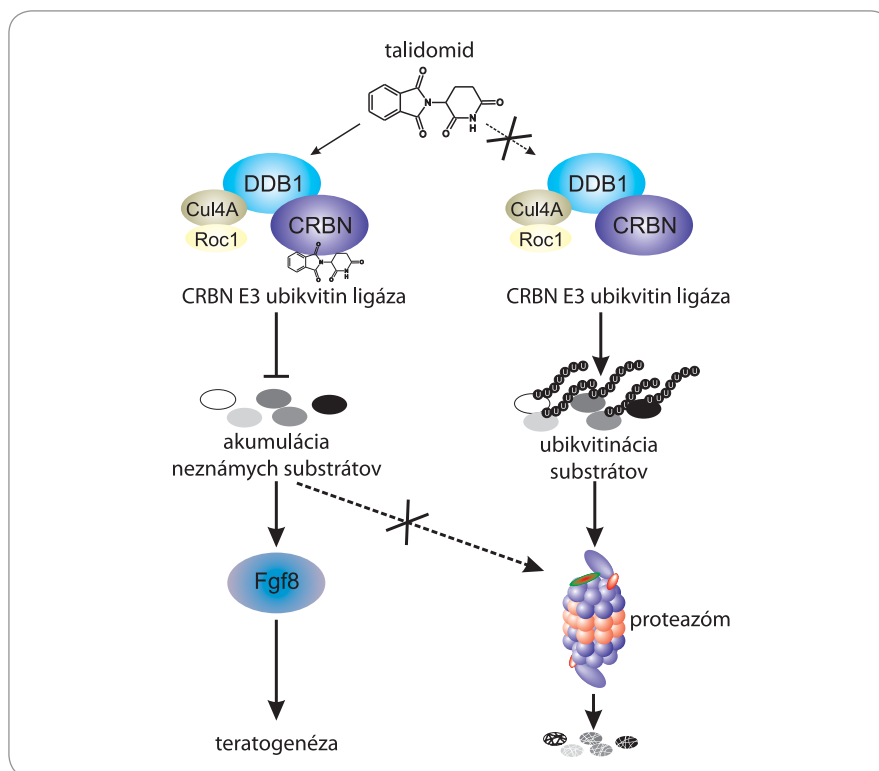
slovených viac ako 30 možných hypotéz. Úplný mechanizmus pôsobenia nie je popísaný dodnes, avšak prielomom bolo identifikovanie molekuly viažucej talidomid.

Ito et al (2010) pomocou magnetickej separácie a afinitnej purifikácie izolovali proteíny viažuce sa na talidomid z rôznych bunkových extraktov. Naviazané proteíny boli uvoľnené voľným talidomidom a analyzované elektroforézou. Výsledkom bola identifikácia dvoch proteínov. Jeden bol CRBN a druhý DDB1. Následné pokusy *in vitro* ukázali, že CRBN sa na talidomid viaže priamo, zatiaľ čo DDB1 sa viaže na CRBN a interaguje s talidomidom nepriamo. V tejto práci sa tiež potvrdilo, že CRBN je proteín, ktorý je cieľovou molekulou talidomidu a sprostredkováva jeho aktivitu *in vivo* [5].

Odhalenie priamej väzby talidomidu na CRBN upriamila pozornosť práve na tento proteín, nakoľko sa zdá, že práve CRBN hrá kľúčovú úlohu v efektívnosti protinádorových účinkov talidomidu a jeho derivátov pri liečbe MM.

Schuster et al (2014) analyzovali hladiny exprese CRBN v kohorte MM pacientov s rovnakou liečbou s cieľom zistiť vzťah medzi expresiou CRBN a klinickými výsledkami liečby MM IMiDs. Zistili, že expresia CRBN je vyššia u bunkových línii pochádzajúcich z hematologických malignít (zahŕňajúc MM) v porovnaní so solídnymi nádormi. Navyše zistili, že normálne B lymfocyty a indolentné B lymfoidné nádory majú podobnú hladinu CRBN ako bunky MM. Pri porovnávaní hladiny exprese CRBN medzi normálnymi plazmatickými bunkami, MGUS, SMM a MM neboli detegované rozdiely [10].

Pri analýze genetických podtypov MM bola u hyperdiploidnej skupiny zistená vyššia hladina exprese CRBN ako u non-hyperdiploidnej. Tento výsledok okrem iného naznačuje, že hladina exprese CRBN je úmerná počtu kópií chromozómu 3, na ktorom je tento gén lokalizovaný. Rozdiel v expresii CRBN medzi hyperdiploidnou a non-hyperdiploidnou skupinou bol zistený aj pri nezahrnutí pacientov s trizómiou chromozómu 3. Súčasne pri translokácii t(4;14) bola zistená nižšia hladina exprese [10].



Obr. 2. Talidomid inhibuje aktivitu CRBN E3 ubikvitínového komplexu, to môže spôsobiť až teratogenézu.

Pri štúdií závislosti hladiny exprese CRBN na klinickej odpovedi na liečbu pomalidomidom a dexametazónom bolo 53 pacientov rozdelených do troch skupín podľa mediánu exprese CRBN. Zo získaných dát vyplýva trend lepšej odpovedi na liečbu u pacientov zo skupiny s vyššou hladinou exprese CRBN [10].

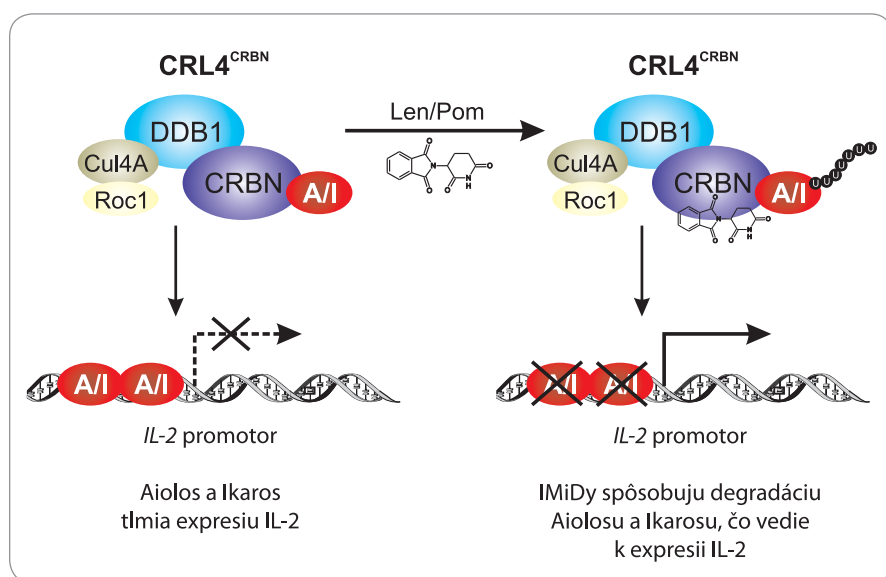
Bedewy a EL-Maghraby (2014) si dali za cieľ svojej štúdie na 46 novodiagnostikovaných MM pacientoch posúdiť hladiny exprese CRBN a génu pre receptor interleukínu-6 (*IL-6R*) a ich dopad na účinnosť liečby MM dexametazónom a talidomidom. Zistili, že medián exprese CRBN a *IL-6R* bol u onkologických pacientov vyšší ako u kontroly. Lepšia odpoveď na liečbu bola u pacientov spojená súhrnne s nižšou hladinou $\beta 2$ mikroglobulínu a nižšou expresiou *IL-6R* a vyššou hladinou sérového albumínu a vyššou expresiou CRBN [21].

K rovnakým záverom dospela aj štúdia Heintel et al (2013), ktorá ukazovala na výraznú koreláciu medzi hladinou exprese CRBN a odpoveďou na liečbu pomalidomidom [8]. Broyl et al (2013) pozorovali jasnú spojitosť medzi vyššou

hladinou exprese CRBN a dlhšou dobou prežitia bez progresie ochorenia počas liečby talidomidom [9].

Zhu et al (2011) zistili, že pre MM bunky je zníženie exprese CRBN toxické. Pri vnesení CRBN shRNA do MM buniek došlo k výraznej redukcii exprese CRBN a taktiež k zníženiu životaschopnosti MM buniek (o 65–78 %) v porovnaní s kontrolnými MM bunkami. Bunky, ktoré zníženie exprese CRBN prežijú, sa stávajú vysoko rezistentné voči lenalidomidu aj pomalidomidu, ale voči liekom ako bortezomib, dexametazón a melfalan ostávajú senzitívne. Získaná delécia CRBN bola identifikovaná ako primárna genetická zmena odlišujúca senzitívnu bunkovú líniu MM1.S na liečbu lenalidomidom a pomalidomidom od rezistentnej [22].

Z uvedených štúdií vyplýva, že vyššia hladina exprese CRBN je spojená s lepšou odpoveďou na liečbu pomocou IMiDs. Nakoľko pri nízkej expresii CRBN dochádza u pacientov ku vzniku rezistencie na liečbu, expresia CRBN sa javí ako nutná súčasť efektívnej liečby IMiDs. Na základe hladiny exprese CRBN by sa



Obr. 3. Model účinku kostimulácie T buniek lenalidomidom a pomalidomidom.

Väzba pomalidomidu a lenalidomidu na CRBN umožní degradáciu Ikarosu a Aiolosu v proteazóme. To má za následok zvýšenie expresie IL-2 a stimuláciu T buniek imunitného systému.

dalo určiť, ktorí pacienti budú a ktorí nebudú z liečby profitovať [22].

Budúce využitie CRBN v klinickej praxi však závisí od technických metód používaných k detekcii a zváženiu všetkých faktorov a dejov (napr. rôzne varianty zostrihu mRNA *CRBN*), ktoré sa v bunke odohrávajú a môžu ovplyvňovať efektivitu odpovede na liečbu MM [23].

V dostupnej literatúre zatiaľ nie je veľké množstvo výsledkov, ktoré by poukazovali na spojitosť medzi mutáciami v *CRBN* a efektivitou liečby [24]. Egan et al (2013) po prvýkrát popísali získanú mutáciu skracujúcu proteín (Q99*) a bodovú mutáciu (R283K) v *CRBN* ako príčinu rezistencie MM buniek k liečbe u 37-ročného IgG-κ pacienta [25]. V ďalšej štúdii bola detegovaná mutácia v bunkovej línii ANBL-6, ktorá vykazovala rezistenciu k lenalidomidu. Na druhej strane, v štúdii Thakurta et al (2014) pri analýzach troch odlišných bunkových línii rezistentných na liečbu, neboli zistené žiadne mutácie *CRBN*. Výskyt mutácií v *CRBN* a *DDB1* sa tu javil ako vzácny a ako by mal iba obmedzený dopad na vznik rezistencie MM buniek voči liečbe IMiDs. Tieto zistenia naznačujú, že príčina rezistencie MM buniek nemusí byť závislá na mutáciách v *CRBN*. Je však pravdepodobné, že epigenetické, transkripčné a posttranskripčné mechanizmy hrajú dôležitejšiu

úlohu ako samotné mutácie v *CRBN* pri vzniku rezistencie MM buniek [24].

Ako bolo spomínané vyššie, jedny z prvých objavených účinkov IMiDs u MM bola ich imunomodulačná aktivita, ktorá zahŕňala kostimuláciu T buniek a ovplyvňovanie produkcie cytokínov (zhrnuté v [4]). Následné skúmanie aktivity IMiDs odhalilo ich vysoko pleiotropný efekt pri modulácii imunitného systému, ktorý je využívaný pri liečbe MM.

Po identifikácii CRBN ako cieľovej molekuly IMiDs, sa CRBN javil ako sprostredkovateľ ich teratogénnych a antiproliferačných účinkov. Zaujímavým zistením bolo, že väzba pomalidomidu a lenalidomidu na CRBN má za následok aj moduláciu imunitného systému a to konkrétne kostimuláciu T buniek. Mechanizmus spočíva vo väzbe lenalidomidu a pomalidomidu na CRBN, po ktorej dochádza k degradácii transkripčných faktorov Ikaros a Aiolos [26]. Ikaros a Aiolos slúžia v T bunkách ako negatívne regulátory, resp. represory expresie *IL-2* [27].

Gandhi et al (2013) zistili, že väzba pomalidomidu a lenalidomidu na CRBN umožní naviazanie Ikarosu a Aiolosu na ubiquitín-ligázový komplex CRL4^{CRBN}, čo vedie k ich ubiquitinizácii a následnej degradácii v proteazóme (obr. 3). Degradácia represorov Ikarosu a Aiolosu má za následok zvýšenie expresie *IL-2*, čo

v závere znamená stimuláciu T buniek imunitného systému. Schopnosť IMiDs zvyšovať hladinu *IL-2* v T bunkách prostredníctvom degradácie Aiolosu a Ikarosu sú teda závislé na prítomnosti *CRBN* [26].

Pre úplné pochopenie mechanizmu účinku IMiDs, prípadne pre možnosť identifikácie čo najefektívnejších liečiv, je nutné objasnenie celého princípu aktivity IMiDs viažucich CRBN, kde s určitou patrí identifikácia cieľových molekúl CRBN a následných signálnych dráh prebiehajúcich v MM bunkách.

V štúdiu Zhu et al (2011) bola porovnaná expresia génov bunkovej línie liečenej lenalidomidom s rovnakou bunkovou líniou so zníženou expresiou *CRBN* za použitia *CRBN* shRNA. Celkovo bolo identifikovaných 123 génov, u ktorých došlo k zmenám v expresii medzi porovnávanými bunkovými líniami. Medzi tieto gény patrili napr. *MYC*, *SP1* a *TP53*, avšak najvýraznejšou pozorovanou zmenou v expresii bolo zníženie expresie *IRF4*. Zaujímavým zistením bolo, že u MM buniek, ktoré prežili zníženie expresie *CRBN*, postupne dochádzalo k opätovnému navýšeniu hladiny proteínu *IRF4* do normálu [22]. *IRF4* bol identifikovaný ako kritický faktor pre prežitie MM buniek [28] a zároveň ako jedna z cieľových molekúl *CRBN* po väzbe IMiDs [22]. Záverom jednej z ďalších štúdií bolo, že k indukcie expresie *P21^{waf1}* a inhibícii expresie *IRF4* po liečbe IMiDs nedochádza pri absencii expresie *CRBN* [29]. *P21^{waf1}* a *IRF4* sú zapojené do signálnej dráhy NF-κB, čo naznačuje, že inaktivácia tejto dráhy po pôsobení IMiDs sa môže ďalej odraziť na ich regulácii.

Všetky tieto poznatky, pomáhajú v pochopení procesov odohrávajúcich sa na úrovni MM buniek, no v budúcnosti bude potrebné vykonať ďalšie výskumy, ktoré by dokázali popísať presný mechanizmus signálnych dráh prebiehajúcich v MM bunkách po naviazaní IMiDs na CRBN.

Záver

CRBN je podjednotka Cul4-E3 ubiquitín-proteín ligázového komplexu. Tento proteínový komplex je okrem CRBN, predstavujúceho substrátový receptor, ďalej zložený z DDB1, Cul4 (Cul4a

a Cul4b) a Roc1. Jeho funkciou je pripájať na proteíny určené k degradácii polyubikvitínový reťazec [6,7]. Takto označené proteíny sú následne degradované v proteazóme. Po naviazaní talidomidu však dochádza k inhibícii aktivity Cul4-E3 ubikvitín-proteín ligázového komplexu, čo má za následok hromadenie proteínov v bunke. Tento mechanizmus vysvetľuje teratogénne účinky talidomidu, avšak aj účinky protinádorové [5].

Pri bližších štúdiách CRBN bola zistená korelácia medzi hladinami exprese CRBN a efektivitou liečby MM IMiDs. Vysoké hladiny exprese CRBN sú spájané s lepšou odpoveďou na liečbu a naopak nízka expresia je spájaná so slabou odpoveďou na liečbu, až rezistenciou myelómových buniek voči IMiDs [8–10]. Cielené zníženie exprese CRBN pomocou molekulárnych metód je pre myelómové bunky cytotoxické, avšak bunky, ktoré toto vyradenie CRBN prežijú sa stávajú vysoko rezistentnými na liečbu [22].

Doterajšie závery rôznych štúdií stavajú CRBN do pozornosti ďalších výskumov, nakoľko predstavuje zaujímavý farmakodynamický cieľ. Na základe dostupnej literatúry by CRBN v budúcnosti mohol slúžiť ako prediktívny biomarker pre určenie efektivity liečby MM, prípadne iných hematologických ochorení prostredníctvom IMiDs. Zavedenie do klinickej praxe si však vyžaduje ďalšie skúmanie celkového mechanizmu pôsobenia a komplexných signálnych dráh prebiehajúcich v MM bunkách.

Literatúra

- Harris NL, Jaffe ES, Diebold J et al. The World Health Organization classification of neoplastic diseases of the hematopoietic and lymphoid tissues. Report of the Clinical Advisory Committee meeting, Airlie House, Virginia, November, 1997. *Ann Oncol* 1999; 10(12): 1419–1432.
- International Myeloma Working Group. Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma Working Group. *Br J Haematol* 2003; 121(5): 749–757.
- Hájek R, Adam Z, Ščudla V et al. Diagnostika a liečba mnohočetného myelomu. *Tranfuze a hematologie dnes* 2012; 18 (Suppl 1): 1–89.
- Sedlářiková L, Kubiczková L, Ševčíková S et al. Mechanism of immunomodulatory drugs in multiple myeloma. *Leuk Res* 2012; 36(10): 1218–1224. doi: 10.1016/j.leukres.2012.05.010.
- Ito T, Ando H, Suzuki T et al. Identification of a primary target of thalidomide teratogenicity. *Science* 2010; 327(5971): 1345–1350. doi: 10.1126/science.1177319.
- Ohta T, Michel JJ, Schottelius AJ et al. ROC1, a homolog of APC11, represents a family of cullin partners with an associated ubiquitin ligase activity. *Mol Cell* 1999; 3(4): 535–541.
- Shiyanov P, Nag A, Raychaudhuri P. Cullin 4A associates with the UV-damaged DNA-binding Protein DDB. *J Biol Chem* 1999; 274(50): 35309–35312.
- Heintzel D, Rocci A, Ludwig H et al. High expression of cereblon (CRBN) is associated with improved clinical response in patients with multiple myeloma treated with lenalidomide and dexamethasone. *Br J Haematol* 2013; 161(5): 695–700. doi: 10.1111/bjh.12338.
- Broyl A, Kuiper R, van Duin M et al. High cereblon expression is associated with better survival in patients with newly diagnosed multiple myeloma treated with thalidomide maintenance. *Blood* 2013; 121(4): 624–627. doi: 10.1182/blood-2012-06-438101.
- Schuster SR, Kortuem KM, Zhu YX et al. The clinical significance of cereblon expression in multiple myeloma. *Leuk Res* 2014; 38(1): 23–28. doi: 10.1016/j.leukres.2013.08.015.
- Jo S, Lee KH, Song S et al. Identification and functional characterization of cereblon as a binding protein for large-conductance calcium-activated potassium channel in rat brain. *J Neurochem* 2005; 94(5): 1212–1224.
- Higgins JJ, Rosen DR, Loveless JM et al. A gene for nonsyndromic mental retardation maps to chromosome 3p25-pter. *Neurology* 2000; 55(3): 335–340.
- Higgins JJ, Pucilowska J, Lombardi RQ et al. A mutation in a novel ATP-dependent Lon protease gene in a kindred with mild mental retardation. *Neurology* 2004; 63(10): 1927–1931.
- Aizawa M, Abe Y, Ito T et al. mRNA distribution of the thalidomide binding protein cereblon in adult mouse brain. *Neurosci Res* 2011; 69(4): 343–347. doi: 10.1016/j.neures.2010.12.019.
- Higgins JJ, Tal AL, Sun X et al. Temporal and spatial mouse brain expression of cereblon, an ionic channel regulator involved in human intelligence. *J Neurogenet* 2010; 24(1): 18–26. doi: 10.3109/01677060903567849.
- Hohberger B, Enz R. Cereblon is expressed in the retina and binds to voltage-gated chloride channels. *FEBS Lett* 2009; 583(4): 633–637. doi: 10.1016/j.febslet.2009.01.018.
- Xin W, Xiaohua N, Peilin C et al. Primary function analysis of human mental retardation related gene CRBN. *Mol Biol Rep* 2008; 35(2): 251–256.
- Lee KM, Jo S, Kim H et al. Functional modulation of AMP-activated protein kinase by cereblon. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1813(3): 448–455. doi: 10.1016/j.bbamcr.2011.01.005.
- Lee KM, Lee J, Park CS. Cereblon inhibits proteasome activity by binding to the 20S core proteasome subunit beta type 4. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 427(3): 618–622. doi: 10.1016/j.bbrc.2012.09.108.
- Hershko A, Heller H, Elias S et al. Components of ubiquitin-protein ligase system. Resolution, affinity purification, and role in protein breakdown. *J Biol Chem* 1983; 258(13): 8206–8214.
- Bedewy AM, EL-Maghraby SM. Do baseline Cereblon gene expression and IL-6 receptor expression determine the response to thalidomide-dexamethasone treatment in multiple myeloma patients? *Eur J Haematol* 2014; 92(1): 13–18. doi: 10.1111/ejh.12207.
- Zhu YX, Braggio E, Shi CX et al. Cereblon expression is required for the antimyeloma activity of lenalidomide and pomalidomide. *Blood* 2011; 118(18): 4771–4779. doi: 10.1182/blood-2011-05-356063.
- Gandhi AK, Mendy D, Waldman M et al. Measuring cereblon as a biomarker of response or resistance to lenalidomide and pomalidomide requires use of standardized reagents and understanding of gene complexity. *Br J Haematol* 2014; 164(2): 233–244. doi: 10.1111/bjh.12622.
- Thakurta A, Gandhi AK, Waldman MF et al. Absence of mutations in cereblon (CRBN) and DNA damage-binding protein 1 (DDB1) genes and significance for IMiD therapy. *Leukemia* 2014; 28(5): 1129–1131. doi: 10.1038/leu.2013.315.
- Egan JB, Kortuem KM, Kurdoglu A et al. Extramedullary myeloma whole genome sequencing reveals novel mutations in Cereblon, proteasome subunit G2 and the glucocorticoid receptor in multi drug resistant disease. *Br J Haematol* 2013; 161(5): 748–751. doi: 10.1111/bjh.12291.
- Gandhi AK, Kang J, Havens CG et al. Immunomodulatory agents lenalidomide and pomalidomide co-stimulate T cells by inducing degradation of T cell repressors Ikaros and Aiolos via modulation of the E3 ubiquitin ligase complex CRL4 (CRBN). *Br J Haematol* 2014; 164(6): 811–821. doi: 10.1111/bjh.12708.
- Bandyopadhyay S, Duré M, Paroder M et al. Interleukin 2 gene transcription is regulated by Ikaros-induced changes in histone acetylation in anergic T cells. *Blood* 2007; 109(7): 2878–2886.
- Shaffer AL, Emre NC, Lamy L et al. IRF4 addiction in multiple myeloma. *Nature* 2008; 454(7201): 226–231. doi: 10.1038/nature07064.
- Lopez-Girona A, Mendy D, Ito T et al. Cereblon is a direct protein target for immunomodulatory and anti-proliferative activities of lenalidomide and pomalidomide. *Leukemia* 2012; 26(11): 2326–2335. doi: 10.1038/leu.2012.119.

Role mikroRNA v patofyziologii neuroblastomu a možnosti jejich využití pro diagnostiku, odhad prognózy a terapii

The Role of MicroRNAs in the Pathophysiology of Neuroblastoma and Their Possible Use in Diagnosis, Prognosis and Therapy

Vinklárek J.¹, Novák J.^{1,2}, Bienertová-Vašků J.^{1,3,4}, Štěrbá J.³, Slabý O.⁴

¹ Ústav patologické fyziologie, LF MU, Brno

² Fyziologický ústav, LF MU, Brno

³ Klinika dětské onkologie LF MU a FN Brno

⁴ Molekulární onkologie II, CEITEC – Středoevropský technologický institut, MU, Brno

Souhrn

Neuroblastom (NB) je typický solidní nádor dětského věku vznikající z prekursorových buněk sympatické nervové tkáně, který u dětských pacientů představuje přibližně 7 % z celkového množství maligních onemocnění a který zodpovídá za přibližně 15 % dětských úmrtí v souvislosti s malignitou. MikroRNA (miRNA) jsou malé jednovláknové molekuly RNA, které se podílejí na posttranskripční regulaci genové exprese, přičemž v patogenezi neuroblastomu se uplatňuje jak nadměrná exprese protoonkogenních miRNA, tak downregulace molekul miRNA s tumor-supresorickými účinky. Zdá se, že srovnání expresních profilů miRNA u jednotlivých podtypů neuroblastomu může být užitečným nástrojem při klasifikaci subtypů onemocnění a že stanovení hladin konkrétních miRNA může mít svůj význam pro odhad citlivosti vůči léčbě či pro odhad prognózy onemocnění. Tato práce poskytuje přehled základních studií týkajících se úlohy miRNA v patogenezi neuroblastomu a zároveň poskytuje přehled o současném/možném zapojení do diagnostiky, terapie či pro odhad prognózy pacienta trpícího tímto onemocněním.

Klíčová slova

neuroblastom – mikroRNA – diagnostika – terapie – prognóza

Summary

Neuroblastoma (NBL) is a typical childhood tumor developing from the precursor cells of the sympathetic nervous tissue and accounting for approximately 7% of total malignancies in pediatrics and 15% of deaths associated with this malignancy. MicroRNAs (miRNAs) are small single-stranded RNA molecules that are involved in posttranscriptional regulation of gene expression, whereas the pathophysiology of neuroblastoma tumor growth involves both upregulation of the protooncogenic miRNAs as well as downregulation of the tumor-suppressor ones. Comparison of the expression profiles of miRNAs in specific subtypes of neuroblastoma seems to be a useful tool adding to the classification of the diseases, and the assessment of the levels of specific miRNAs may be useful for estimation of the individual treatment response as well as prognosis of the patient. This paper provides the basic review of the studies focused on the role of miRNAs in pathogenesis of neuroblastoma and provides a survey of current/possible use of these miRNAs in diagnostics, therapy or prognosis estimation in the neuroblastoma patients.

Key words

neuroblastoma – microRNA – diagnosis – therapy – prognosis

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.



Jan Vinklárek

Ústav patologické fyziologie
LF MU

Kamenice 5

625 00 Brno

e-mail: jfcvinklarek@gmail.com

Obdrženo/Submitted: 15. 10. 2013

Přijato/Accepted: 1. 9. 2014

<http://dx.doi.org/10.14735/amko2014331>

Úvod

Neuroblastom (NB) je typický solidní nádor dětského věku vznikající z prekursorových buněk sympatické nervové tkáně [1]. U dětských pacientů představuje přibližně 7 % z celkového množství maligních onemocnění a zodpovídá přibližně za 15 % dětských úmrtí v souvislosti s malignitou. Neuroblastom má velmi rozmanité klinické chování [2], v některých případech může spontánně regresovat, v jiných dochází k rychlé progresi či k rychlému rozvoji rezistence k užívané terapii [3]. Rozdílné klinické chování souvisí s řadou proměnných, mezi něž patří např. věk, přítomnost genetických abnormalit v nádoru a s nimi související narušení regulačních pochodů.

MikroRNA (miRNA) jsou malé jednovláknové molekuly RNA, které se podílejí na posttranskripční regulaci genové exprese. Jejich regulační vliv byl prokázán u více než poloviny lidských genů a nebylo nikde dosud uvedeno, že by samotná molekula miRNA kódovala protein. Cílem miRNA je 3'UTR (untranslated region – nepřekládaná oblast na 3' konci) cílové mRNA, přičemž vazbou miRNA do 3'UTR dojde k inhibici translace mRNA do proteinu nebo přímo k degradaci cílové mRNA. Druhá uvedená možnost je dle Guoa přednostně využívána u savců [1,3].

Biogeneze miRNA je velice sofistikovaný a precizně regulovaný proces, během kterého dochází k řadě postupných úprav nezralých forem pri-miRNA a pre-miRNA do formy konečné, tj. plně funkční, zralé miRNA. U nádorem nepostižených buněk je tento systém velice efektivní a v buňce se nachází více molekul zralé miRNA než molekul prekursorových (pri- a pre-miRNA) [4]. U nádorových tkání, kde jsou geny pro miRNA transkribovány, avšak transkripty nejsou nadále upravovány, vzrůstá poměr nezralých forem miRNA ke zralým formám [5], což má za následek odlišné biologické chování buněk postižených nádorem.

Jednotlivé miRNA jsou kódovány v genech, které jsou za účasti RNA polymerázy II transkribovány do nezralé formy pri-miRNA (primární miRNA) [6–8]. Molekula pri-miRNA může být zdrojem pro více různých miRNA a je na-

dále upravována pomocí enzymů Pasha a Drosha na pre-miRNA s typickou vlásenkovou strukturou. Pre-miRNA je následně exportována do cytoplazmy pomocí exportinu 5 [9], kde je zpracována RNAsou III (Dicerem) na zralou miRNA [10]. Zralá miRNA je v posledním kroku zabudována do tzv. RISC komplexu (RNA-induced silencing complex, tj. RNA indukovaný inhibiční komplex) spolu s Argonautovými (Ago) proteiny. RISC se na podkladě komplementarity bází mezi miRNA a cílovou mRNA páruje, což vede k již výše uvedeným procesům destabilizace mRNA nebo inhibici translace. V dnešní době je známo více než 1 000 různých zástupců miRNA a je zcela jisté, že se jejich počet s prohlubujícím se poznáním bude nadále zvyšovat, což nám do budoucna umožní lépe porozumět nádorové biologii a potenciálně povede i k vytvoření účinnější a na míru šité terapie.

MikroRNA v molekulární patologii neuroblastomu

MikroRNA jako onkogeny a nádorové supresory

Molekuly miRNA se u nádorových onemocnění včetně neuroblastomu chovají jako molekuly onkogenní nebo tumor-supresorické. Zdá se, že u neuroblastomu je významnější skupina onkogenních klastrů. Příkladem může být zvýšená exprese miRNA z klastru miR-17-92, která je potencována *N-myc*, onkogenem amplifikovaným u velké části neuroblastomů [11,12]. Uvedený klastr obsahuje šest koexprimovaných miRNA: miR-17, miR-18a, miR-19a, miR-19b, miR-20a a miR-92. Obecně může tento klastr usnadňovat rozvoj neuroblastomu a řady dalších nádorových onemocnění působením na 3'UTR mRNA různých známých tumor-supresorických genů, což vede ke snížení hladin těchto proteinů. Mezi známé cíle miRNA z klastru miR-17-92 patří inhibitory angiogeneze, trombospodin 1 (Tsp1), connective tissue growth factor (CTGF) [13], E2F transkripční faktor 2 [14] či Dickkopf-3 (DKK3) [3]. Specifické chování vykazuje miR-18a, rovněž člen klastru miR-17-92, jejíž nadměrná exprese vede překvapivě k nárůstu hladiny DKK3.

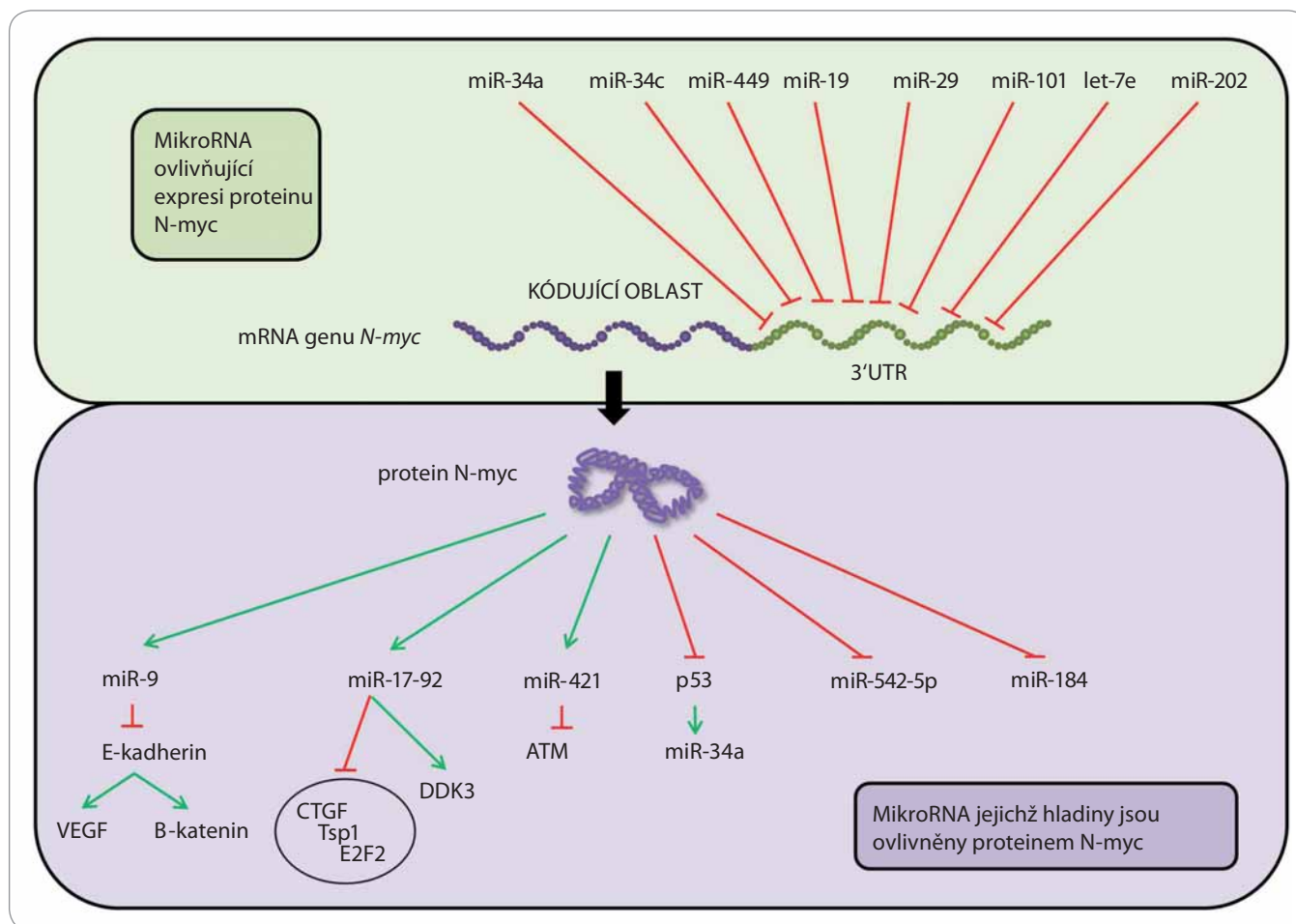
Další významnou miRNA u neuroblastomu je miR-34a, která má tumor-supresorický efekt a jejíž hladiny jsou u neuroblastomu sníženy. V genu pro miR-34a nebyly zjištěny žádné mutace, které by mohly být za její snížení zodpovědné [15], usuzuje se tak na vliv epigenetických faktorů. Možným vysvětlením pro snížení hladin miR-34a je potlačení vlivu transkripčního faktoru p53 u neuroblastomových buněk, přičemž p53 je za normální situace zodpovědný za upregulaci miR-34a [16–19]. Je zajímavé, že p53 je mutován přibližně v 50 % všech lidských nádorových onemocnění, avšak u primárních neuroblastomů je mutován zřídka [20]. Pro vysvětlení vztahu mezi p53 a miR-34a je tedy nutno zapojit onkogen *N-myc*, který nejspíše nepřímým vlivem na gen *MDM2* působí antagonisticky na p53, což vede k snížení exprese miR-34a (regulační okruh: ↑ *N-myc* → ↓ p53 → ↓ miR-34a).

MikroRNA a amplifikace N-myc

Výše zmíněný protoonkogen *N-myc* je v patogenezi neuroblastomu velmi vděčným tématem k diskuzi a vědeckému bádání (obr. 1). Na jeho amplifikaci narazíme u cca 20 % neuroblastomů [21], přičemž za normálních okolností je hojně exprimován v nervovém systému a mezenchymální tkáni v průběhu embryogeneze [22]. Gen pro *N-myc* leží na chromozomu 2p24 a kóduje protein *N-myc* sloužící jako transkripční faktor a ovlivňující geny zapojené do buněčného cyklu, diferenciace a apoptózy [23,24]. Dnes je znám i jeho modulační vliv na miRNA [24].

První studie potvrzující souvislosti mezi *N-myc* a miRNA u neuroblastomu publikovali Chen a Stallings [1] a Schulte et al [11]. Z výsledků těchto studií byla zřejmá rozdílná exprese miRNA u neuroblastomů s amplifikací *N-myc* (MNA) a bez *N-myc* amplifikace. Jak již bylo uvedeno, protoonkogen *N-myc* má potenciální vliv na expresi onkomiRNA z klastru miR-17-92. Další souvislosti mezi miRNA a *N-myc* byly nalezeny u miR-9, tkáňově specifické miRNA pro mozek a nervovou tkáň, která moduluje proliferaci a migraci progenitorových buněk [25].

MiR-184 ve studii Chena a Stallingse byla snížena exprimována u neuroblas-



Obr. 1. Vztah mezi N-MYC proteinem a miRNA u neuroblastomu.

tomu s amplifikací N-myc a knockdown N-myc proonkogenu způsobil naopak její upregulaci. Zvýšená hladina miR-184 snižuje u buněk neuroblastomu viabilitu zastavením buněčného cyklu a inicializací apoptózy [1]. V dalších studiích byl prokázán vliv N-myc na downregulaci tumor-supresorické miR-542-5p [27–30]. Zajímavou hypotézu představili Lin et al [31] ve své práci, kde uvedli, že za snížení exprese miRNA u high-risk tumorů, často typu MNA, je zodpovědná deregulace miRNA-zpracovávajících enzymů Dicer and Drosha. Hladiny těchto enzymů byly nejvíce sníženy u tumorů stage 4.

Proonkogen *N-myc* nemusí mít pouze vliv na expresi miRNA, ale je i sám těmito molekulami hojně ovlivňován. 3'UTR oblast *N-myc* genu je dostatečně dlouhá, což ještě více poukazuje na možné zapojení miRNA do regulace jeho exprese. *N-myc* byl popsán jako jeden z cílů

miR-34a, lokalizované na chromozomu 1p36, často ztrátového u neuroblastomu s amplifikací N-myc [2,15,32]. Zvýšená míra exprese miR-34a vede u neuroblastomu k indukci apoptózy a inhibici proliferace. U neuroblastomů s amplifikací N-myc vede nadměrná exprese dalších miRNA, let-7e a miR-101, taktéž k útlumu proliferace, který koreluje se sníženými hladinami N-myc proteinu, přičemž tumor-supresorická funkce let-7 byla pozorována i při diferenciaci buněk neuroblastomu [33–36]. Množství jednotlivých validovaných miRNA cílících 3'UTR oblast *N-myc* dnes stále narůstá, validovány jsou např. již miR-34c, miR-449, miR-19, miR-29, miR-202 [37] a mnohé další miRNA jistě čeká validace v brzké budoucnosti.

MikroRNA a ztráta 11q

V patogenezi neuroblastomu se může významně uplatnit ztráta dlouhého ra-

ménka 11. chromozomu (11q-). Neuroblastomy s delecí 11q lze rozdělit na dvě podskupiny s rozdílným klinickým chováním a s rozdílnými expresními profily miRNA [26]. Například u miR-572, která je upregulována u nádorů s delecí 11q, se předpokládá cílení na geny, které jsou u tohoto nádoru dle studie od Vermeulena et al [38] downregulovány (např. DCC, PTPRF, PIK3R1, PRKCZ) [26]. Downregulace těchto genů může být jedním z faktorů přispívajících k nepříznivé prognóze postižených pacientů (obr. 2).

MikroRNA a neurotrofní receptory

Nesporně významnou pozici v patogenezi neuroblastomu zaujímá rodina neurotrofních receptorů TRK. Celkem existují tři tyto receptory – TrkA, TrkB a TrkC, z nichž každý hraje v patogenezi neuroblastomu odlišnou roli.

Tab. 1. Vliv ATRA na vybrané mikroRNA.

Down regulované mikroRNA	Validovaný cíl	Funkce/proces	Reference
miR-7	???	diferenciace neuroblastů	Chen et al [84]
miR-18a	ESR1	diferenciace neuroblastů	Lovén et al [85]
miR-19a	ESR1	diferenciace neuroblastů	Lovén et al [85]
Up regulované mikroRNA	Validovaný cíl	Funkce/proces	Reference
miR-9	NTRK3, REST	diferenciace neuroblastů, snížení buněčné proliferace	Laneve et al [57]
miR-10a	NCOR2, SFRS1	diferenciace neuroblastů	Meseguer et al [52], Foley et al [35]
miR-10b	NCOR2, SFRS1	diferenciace neuroblastů	Meseguer et al [52], Foley et al [35]
miR-124a	PTBP2	diferenciace neuroblastů	Makeyev et al [86]
miR-128	RELN, DCX	pokles invazivity	Evangelisti et al [87]
miR-125a	NTRK3	diferenciace neuroblastů	Laneve et al [57]
miR-125b	NTRK3	diferenciace neuroblastů	Laneve et al [58], Le et al [88]
miR-152	DNMT1	demethylace	Das et al [34]
miR-184	AKT2	apoptóza	Foley et al [89]

Zdá se, že významnou roli hraje exprese TrkA, typická pro biologicky příznivé neuroblastomy, které jsou dobře diferencované a často spontánně regredují. Zvýšená exprese TrkA slouží jako silný prognostický marker značící dobrou prognózu onemocnění [39–42]. Úroveň exprese TrkA navíc dle studie od Nakagawary et al [39] inverzně koreluje s hladinou N-myc u neuroblastomů s amplifikací N-myc. Ve studii, kterou publikoval Schulte et al [30], byly nalezeny tři miRNA (miR-9, miR-9* a miR-92), jejichž hladiny negativně korelovaly s expresí TrkA. Naopak exprese miR-542-5p byla významně zvýšena u TrkA exprimujících neuroblastomů a snížena u pacientů s relapsem onemocnění nebo neuroblastomů s amplifikací N-myc. Podobně popisuje zvýšenou expresi miR-542-5p Bray et al [27] u pacientů s příznivou prognózou.

Opačnou molekulárně biologickou roli vůči TrkA hraje TrkB, jehož zvýšené hladiny jsou typické pro velmi agresivní nádory, často s amplifikací N-myc [43]. Tyto nádory také exprimují ligand Trb, brain derived neurotrophic factor (BDNF), a přes PI3K/AKT signální dráhu se u nich snadno rozvíjí léková rezistence [43–46]. Studie od Ryana et al [44] uvádí působení miR-204 na 3'UTR oblast TrkB s následným utlumením jeho exprese

a zvýšením citlivosti na cytostatickou léčbu.

Neurotrofní receptor TrkC je v patogenezi neuroblastomu spojen s biologicky příznivějším chováním, přičemž studie od Yamashira et al poukázala na jeho expresi u 25 % primárních neuroblastomů [47], tvořících tak v podstatě podskupinu nádorů exprimujících TrkC charakteristicky spojených s nižším stagingem a věkem, u nichž navíc chybí amplifikace N-myc [47,48]. V roce 2010 byla publikována studie od Guidiho et al [49] popisující novou možnou roli nervově specifické miR-128, která potlačuje expresi zkrácené izoformy TrkC.

MikroRNA a regulace diferenciace neuroblastových buněk

Vzhledem k lepší prognóze pacientů s diferencovaným typem neuroblastomu oproti méně diferencovanému nebo nediferencovanému typu [50] se pozornost rovněž zaměřuje na 13-cis-retinovou kyselinu (ATRA) a její možný vliv na expresní profily miRNA [1,51,52]. ATRA je derivát vitamínu A, retinolu, pod jehož vlivem dochází k diferenciaci nervových buněk a jehož hladiny jsou přísně regulovány v embryogenezi nervové tkáně [53,54]. Bylo popsáno několik miRNA, jejichž hladiny souvisejí s ATRA (tab. 1). Příkla-

dem přímého působení ATRA na expresi miRNA je miR-10a [35], nepřímo pak působí ATRA na expresi miRNA přes snížení onkogenu *N-myc* [55] – v tomto případě jsou ovlivněny hladiny *N-myc*-regulovaných miRNA [11,27,56]. Skupina Laneva et al popsala miRNA (miR-9, miR-125a, miR-125b), jejichž exprese byla u neuroblastomových buněk (SK-N-BE) zvýšena po léčbě ATRA [57] a transfekce SK-N-BE buněk těmito miRNA způsobila pokles jejich proliferace. Navíc, nejspíše nepřímým efektem, došlo i ke snížení hladiny *N-myc*, který korespondoval s ATRA terapií [55,58].

MikroRNA v kontextu současných prognostických systémů a jako nezávislé prognostické biomarkery u neuroblastomu

Dle standardní klasifikace Children's Oncology Group je neuroblastom klasifikován do tří skupin: low-risk, intermediate-risk a high-risk. Konkrétní zařazení pacienta do této klasifikace závisí na jeho věku v době diagnózy, na stagingu nemoci dle International Neuroblastoma Staging System (INSS), histopatologii nádoru, statutu *N-myc*, DNA indexu a posouzení stavu chromozomů [20,59].

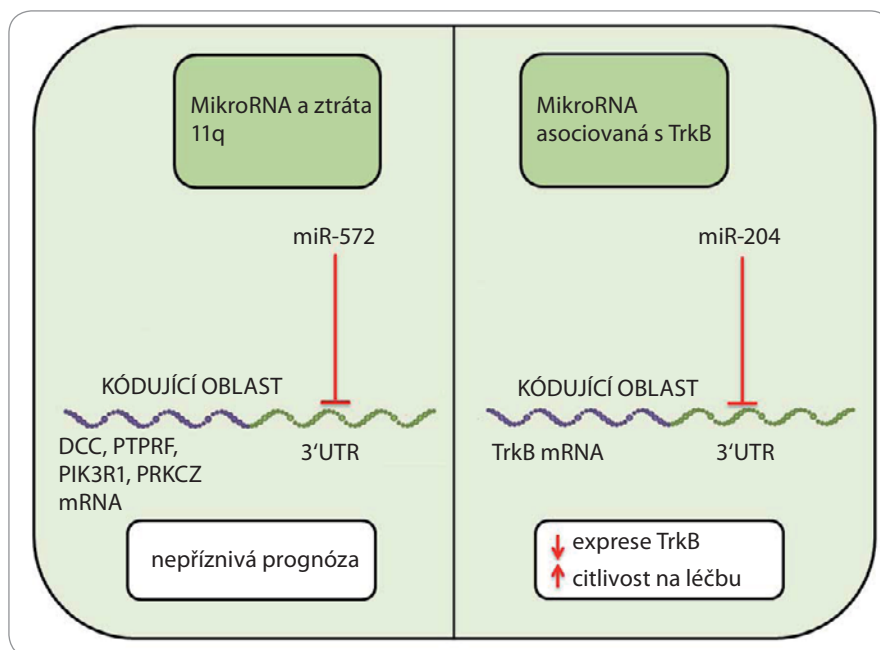
Udává se, že u pacientů s nízkým rizikem (low-risk), je 95% pravděpodobnost

přežití; je pro ně typický stage 1 nebo 2A/2B, nepřítomnost N-myc amplifikace a úspěšnost resekce nádorové masy nad 50 %. Do této skupiny jsou dále zahrnováni i pacienti se stage 4(S), příznivou histopatologií, bez N-myc amplifikace a s DNA indexem vyšším než 1.

Pro pacienty středního rizika (intermediate-risk) je charakteristické celkové přežití až 90 %, věk 0–12 let, stage 2A/2B, nepřítomnost N-myc amplifikace a úspěšnost resekce tumorové masy pod 50 %. Do skupiny dále patří pacienti ve věku 0–1,5 roku se stage 3, bez N-myc amplifikace; pacienti ve věku 1,5–12 let se stage 3, bez N-myc amplifikace, s příznivou histologií a dále pak pacienti ve věku 1–1,5 roku se stage 4, bez N-myc amplifikace, s příznivou histologií a DNA indexem větším než 1. Děti se stage 4(S), jejichž histologie je nepříznivá nebo DNA index roven 1, pro své relativně dobré výsledky rovněž spadají do skupiny se středním rizikem.

Skupinu s vysokým rizikem (high-risk), pro kterou je charakteristické celkové přežití pouze ve 40 % případů, charakterizuje věk více než 1,5 roku a stage 4 nebo se jedná o pacienty jakéhokoli věku se stage 1 a N-myc amplifikací, pacienty starší 1,5 roku se stage 3 a nepříznivou histopatologií anebo o pacienty ve věku 1–1,5 roku se stage 4 a DNA indexem rovným 1 či nepříznivou histopatologií [59,60].

Neuroblastom představuje onemocnění s extrémně variabilním klinickým průběhem se třemi hlavními genetickými subtypy: hyperdiploidní/blízce triploidní nádory (HYP), nádory s amplifikací N-myc (MNA nádory) a hemizigotní tumory se ztrátou materiálu na 11. chromozomu. Z hlediska klinických výsledků se jednotlivé subtypy liší svým vývojem a prognózou, přičemž neuroblastomy s delecí 11q a amplifikací N-myc mají obvykle špatnou prognózu [61,62]. Zajímavé a logické je i nalezení odlišných expresních profilů miRNA u různých subtypů tohoto onemocnění [1]. Například míra exprese onkogenního kladru miR-17-92 a rodiny miR-181 byla ve studii od Schulte et al [28] zvýšena u prognosticky nepříznivých neuroblastomů, naopak předpokládané tumor-supresorické miRNA (miR-542-5p a miR-628)



Obr. 2. MiRNA v patofyziologii neuroblastomu.

byly hojně exprimovány u prognosticky příznivějších tumorů. V jiné studii [30] bylo popsáno 37 mikroRNA, které korelovaly s expresí TrkA, již výše zmíněného markeru dobré prognózy. Expresi nejvýznamnější miRNA spojené s TrkA, miR-542-5p, pak i negativně korelovala s expresí N-myc onkogenu. Další diagnosticky a prognosticky cenné informace popisují převážně opačné expresní charakteristiky miRNA u MNA tumorů oproti jiným typům [1]. MiRNA jsou zde výrazně downregulovány (tab. 2).

Bylo také popsáno, že některé miRNA charakterizují různé subtypy neuroblastomu (miR-92, miR-107, miR-181a, miR-181b) a hrají též roli v rozvoji jiných nádorových onemocnění [63,64]. U nádorů s delecí 11q byla popsána zvýšená exprese miR-216 a miR-150 oproti neuroblastomu s amplifikací N-myc. Oba dva tyto neuroblastomové subtypy se nepříliš liší svými nepříznivými klinickými výsledky, avšak tato „nepříznivost“ je podložena různými expresními profily miRNA [62]. Právě do těchto specifických rozdílů charakteristických pro jednotlivé subtypy neuroblastomů je vkládána velká důvěra vzhledem k potenciálnímu využití v diagnostice, pro stanovení prognózy a vytvoření terapie šité na míru.

MikroRNA jako terapeutické cíle u neuroblastomu

Zapojení miRNA do různých buněčných procesů je dnes již považováno za potvrzenou skutečnost a čím jsou naše znalosti o jejich roli v různých regulačních okruzích hlubší a detailnější, tím více nadějí se vkládá do možnosti rozvoje nových terapeutických postupů u celé škály onemocnění, nevymínaje problematiku onkologickou. Snaha o nápravu deregulovaných hladin miRNA u neuroblastomu může výrazně posunout efektivitu léčby a potenciál miRNA ovlivnit řadu genů hrajících roli v jedné molekulární dráze je předurčuje k tomu, aby se staly vhodnými kandidáty pro cílenou protinádorovou terapii [65]. V onkologické terapii (obr. 3) lze užít tzv. antagonisty miRNA (inhibiční strategie; anti-miR/antago-miR), a to v případě, že chceme snížit hladiny proonkogenní miRNA [66,67]. Příkladem mohou být miRNA, které jsou ve vyšší míře exprimovány u neuroblastomů s amplifikací N-myc, např. miR-380-5p ovlivňující expresi tumor-supresorického p53, a tak proliferaci buněk neuroblastomu. Její zvýšená exprese vede u myši k rozvoji neuroblastomu; pokud je však inhibována, rozbíhá se apoptóza nádorových buněk právě cestou dříve potlačovaného p53. Vpravení antagonisty miR-380-5p

Tab. 2. Rozdíly v expresi vybraných miRNA u neuroblastomu s amplifikací N-myc oproti hyperdiploidnímu (HYP) a 11q-.

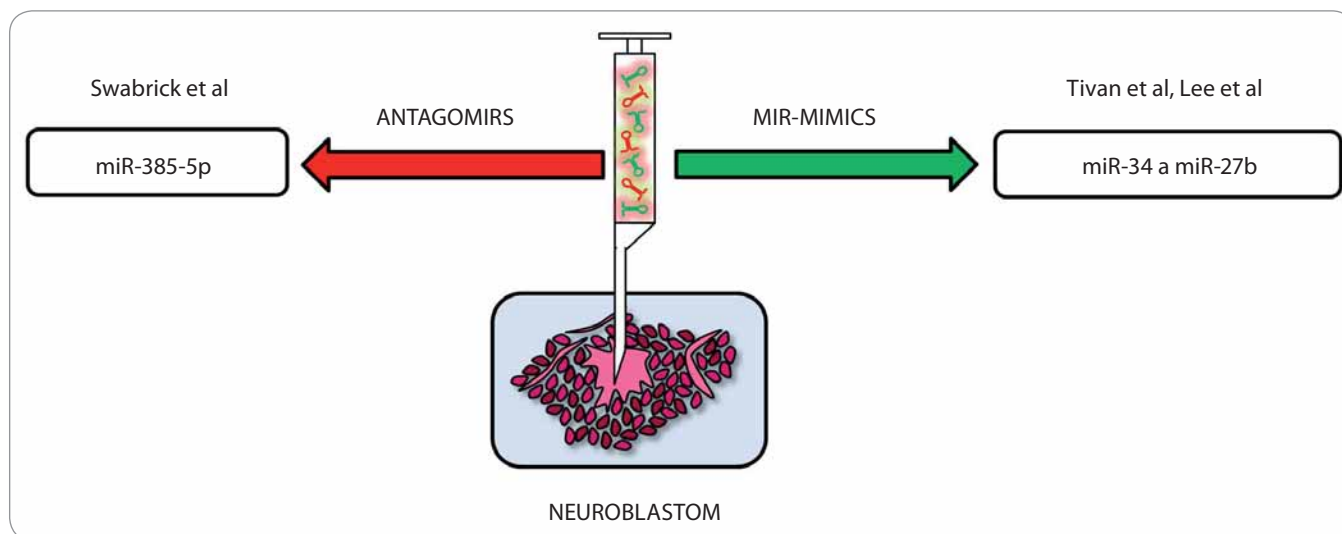
miRNA sniženě exprimované u MNA		miRNA zvýšeně exprimované u MNA	
HYP	11q-	HYP	11q-
miR-27b	miR-141	miR-92	let-7a
miR-30b	miR-150	miR-181a	let-7b
miR-30c	miR-184	miR-181b	miR-181a
miR-30e	miR-200c		miR-181b
miR-107	miR-216		
miR-129	miR-301		
miR-137	miR-323		
miR-146a	miR-331		
miR-149			
miR-186			
miR-189			
miR-190			
miR-200a			
miR-302a			
miR-302a			
miR-324-5p			
miR-326			
miR-330			
miR-331			
miR-335			

v studii od Swarbricka et al vedlo *in vivo* k redukci velikosti tumoru [68]. Další možný způsob terapie pomocí miRNA

je využití tzv. miRNA mimics (substituční strategie) [69,70]. Tento způsob léčby je s ohledem na skutečnost, že u vět-

šiny nádorů dochází ke globálnímu snížení hladin miRNA, velmi zajímavý [65]. Potenciální využití různých miRNA v cílené léčbě neuroblastomu shrnuje tab. 3.

Vzhledem k tomu, že miRNA, které jsou identické s miRNA downregulovanými u neuroblastomu, jejichž hladiny bychom si přáli terapeuticky ovlivnit, se hojně vyskytují i v různých zdravých tkáních, kde plní své rozmanité fyziologické role, je samotné vpravení miRNA antagonistů/mimik do lidského organismu za terapeutickým účelem značně problematické. Zdá se, že možným východiskem by mohlo být využití tumor-specifických membránových receptorů, jež by umožnily specifickou vazbu podaného léčiva. U neuroblastomu a několika dalších tumorů je na povrchu nádorových buněk hojně vystavován disialogangliosidový antigen GD2 [71,72], na který je cíleno v nádorově specifické terapii [73–76]. S využitím vhodné miRNA, nosiče a protilátky cílené proti GD2 by mohlo být možné tohoto antigenu využít k terapii, jak již bylo potvrzeno studií od Tivnana et al. V této studii byla použita tumor-supresorická a proapoptotická miR-34a, která byla zabalena v nanočástici a konjugována s GD2 protilátkou, přičemž výsledný terapeutický efekt byl velmi příznivý. Tento způsob podání miRNA je vysoce specifický a cílí výhradně na samotné nádorové buňky, neboť nepostížené orgány nebyly dle dosažených vý-


Obr. 3. Terapeutické možnosti u neuroblastomu pomocí miRNA.

Tab. 3. MiRNA jako možné cíle terapie neuroblastomu (převzato z Verissimo CS et al 2011).

MiRNA	Validovaný cíl	Funkce/proces	Typ	Reference
miR-9	E-kadherin, kináza spojená s tropomyosinem C	angiogeneze, tvorba metastáz	onkogen	Laneve et al [57], Khew-Goodall a Goodall et al [90]
miR-34a	NMYC, BCL-2, E2F3	progrese buněčného cyklu, apoptóza, DNA opravy a angiogeneze	tumor supresor	Welch et al [91], Cole et al [15], Wei et al [32]
miR-17-5p-92 cluster	TGFβ signalizace, CDKN1A (p21); BCL2L11 (Bim)	buněčná proliferace, adhezivita	onkogen	Fontana et al [12], Mestdagh et al [92]
miR-125a	Bmf, kináza spojená s tropomyosinem C	buněčná proliferace, apoptóza	onkogen	Laneve et al [57]
miR-125b	Bmf, kináza spojená s tropomyosinem C	buněčná proliferace, apoptóza	onkogen	Laneve et al [57]
miR-152	CHUK, CUL5 and GADD45A	diferenciace neuroblastů, migrace/invaze a apoptóza	onkogen	Ragusa et al [93]
miR-184	AKT2	nervová diferenciace a/nebo apoptóza	tumor supresor	Foley et al [89], Tivnan et al [94]
miR-200B	ZEB1	diferenciace neuroblastů, migrace/invaze a apoptóza	tumor supresor	Ragusa et al [93]
miR-338	PTPRT	diferenciace neuroblastů a apoptóza	onkogen	Ragusa et al [93]
miR-380-5p	p53	apoptóza	onkogen	Swarbrick et al [68]

sledků s terapeutickými částicemi vůbec konfrontovány [77]. Zajímavé bylo i zjištění, že chyběly typické symptomy spojené s využitím anti-GD2 imunoterapie, např. neuropatické bolesti [78], přičemž tento rozdíl by se dal vysvětlit rozdílnou (menší) dávkou anti-GD2 oproti dávce používané při klasické imunoterapii [77]. Příkladem dalšího terapeutického uplatnění miRNA u pacientů s neuroblastomem je studie od Leea et al [79]. Jejich tým popsal účinky miR-27b, člena miR-27 rodiny (miR-27a, miR-27b), cílícího přímo na PPARγ (peroxisome proliferators-activated receptor). U neuroblastomových buněk je tato miRNA vysoce specifická a její nadměrná exprese působí tumor-supresoricky inhibicí buněčného růstu neuroblastomu *in vitro* i *in vivo* právě vlivem na PPARγ. Navíc zastavení buněčného růstu přes PPARγ je spojeno se sníženou expresí pH regulátoru NHE1 a NF-κB, který je spjován se zánětlivou odezvou u nádorových onemocnění [79–83].

Závěr

V poslední době došlo k zásadnímu pokroku na poli chápání vývojové i pato-

genetické úlohy miRNA u nádorových onemocnění včetně neuroblastomu – dokladem toho je i klinická studie využívající miR-34a v terapii nádorů jater, která v roce 2013 vstoupila do své první fáze (NCT01829971). I přes tento pokrok však zůstává stále velké množství nezodpovězených otázek týkajících se účinnosti i bezpečnosti využití miRNA v terapii. Kvůli velké propojenosti a návaznosti miRNA na nespočet signálních drah však cílená terapie neuroblastomu na bázi miRNA ani nemůže být nekomplikovaná. Problematika miRNA každopádně dává naději do budoucna a tyto malé molekuly nám snad již v brzké době pomohou v diagnostice a stanovení prognózy u pacientů s neuroblastomem, a jednoho dne se možná stanou součástí terapie šité na míru konkrétnímu pacientovi.

Literatura

- Chen Y, Stallings RL. Differential patterns of microRNA expression in neuroblastoma are correlated with prognosis, differentiation, and apoptosis. *Cancer Res* 2007; 67(3): 976–983.
- Maris JM, Hogarty MD, Bagatell R et al. Neuroblastoma. *Lancet* 2007; 369(9579): 2106–2120.
- Haug BH, Henriksen JR, Buechner J et al. MYCN-regulated miRNA-92 inhibits secretion of the tumor sup-

pressor DICKKOPF-3 (DKK3) in neuroblastoma. *Carcinogenesis* 2011; 32(7): 1005–1012. doi: 10.1093/carcin/bgr073.

- Hulf T, Sibbritt T, Wiklund ED et al. Discovery pipeline for epigenetically deregulated miRNAs in cancer: integration of primary miRNA transcription. *BMC Genomics* 2011; 12: 54. doi: 10.1186/1471-2164-12-54.
- Lee EJ, Baek M, Gusev Y et al. Systematic evaluation of microRNA processing patterns in tissues, cell lines, and tumors. *RNA* 2008; 14(1): 35–42.
- Lee Y, Kim M, Han J et al. MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II. *EMBO J* 2004; 23(20): 4051–4060.
- Zhou X, Ruan J, Wang G et al. Characterization and identification of microRNA core promoters in four model species. *PLoS Comput Biol* 2007; 3(3): e37.
- Siomi H, Siomi MC. Posttranscriptional regulation of microRNA biogenesis in animals. *Mol Cell* 2010; 38(3): 323–332. doi: 10.1016/j.molcel.2010.03.013.
- Murchison EP, Hannon GJ. MiRNAs on the move: miRNA biogenesis and the RNAi machinery. *Curr Opin Cell Biol* 2004; 16(3): 223–229.
- Lund E, Dahlberg JE. Substrate selectivity of exportin 5 and Dicer in the biogenesis of microRNAs. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 2006; 71: 59–66.
- Schulte JH, Horn S, Otto T et al. MYCN regulates oncogenic MicroRNAs in neuroblastoma. *Int J Cancer* 2008; 122(3): 699–704.
- Fontana L, Fiori ME, Albini S et al. Antagomir-17-5p abolishes the growth of therapy-resistant neuroblastoma through p21 and BIM. *PLoS One* 2008; 3(5): e2236. doi: 10.1371/journal.pone.0002236.
- Dews M, Homayouni A, Yu D et al. Augmentation of tumor angiogenesis by a Myc-activated microRNA cluster. *Nat Genet* 2006; 38(9): 1060–1065.
- O'Donnell KA, Wentzel EA, Zeller KI et al. c-Myc-regulated microRNAs modulate E2F1 expression. *Nature* 2005; 435(7043): 839–843.

15. Cole KA, Attiyeh EF, Mosse YP et al. A functional screen identifies miR-34a as a candidate neuroblastoma tumor suppressor gene. *Mol Cancer Res* 2008; 6(5): 735–742. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-07-2102.
16. Chang TC, Wentzel EA, Kent OA et al. Transactivation of miR-34a by p53 broadly influences gene expression and promotes apoptosis. *Mol Cell* 2007; 26(5): 745–752.
17. He L, He X, Lim LP et al. A microRNA component of the p53 tumour suppressor network. *Nature* 2007; 447(7148): 1130–1134.
18. Raver-Shapira N, Marciano E, Meiri E et al. Transcriptional activation of miR-34a contributes to p53-mediated apoptosis. *Mol Cell* 2007; 26(5): 731–743.
19. Tarasov V, Jung P, Verdoodt B et al. Differential regulation of microRNAs by p53 revealed by massively parallel sequencing: miR-34a is a p53 target that induces apoptosis and G1-arrest. *Cell Cycle* 2007; 6(13): 1586–1593.
20. Hosoi G, Hara J, Okamura T et al. Low frequency of the p53 gene mutations in neuroblastoma. *Cancer* 1994; 73(12): 3087–3093.
21. Deyell RJ, Attiyeh EF. Advances in the understanding of constitutional and somatic genomic alterations in neuroblastoma. *Cancer Genet* 2011; 204(3): 113–121. doi: 10.1016/j.cancergen.2011.03.001.
22. Stanton BR, Perkins AS, Tessarollo L et al. Loss of N-myc function results in embryonic lethality and failure of the epithelial component of the embryo to develop. *Genes Dev* 1992; 6(12A): 2235–2247.
23. Meyer N, Penn LZ. Reflecting on 25 years with MYC. *Nat Rev Cancer* 2008; 8(12): 976–990. doi: 10.1038/nrc2231.
24. Buechner J, Einvik C. N-myc and noncoding RNAs in neuroblastoma. *Mol Cancer Res* 2012; 10(10): 1243–1253. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-12-0244.
25. Delalay C, Liu L, Lee JA et al. MicroRNA-9 coordinates proliferation and migration of human embryonic stem cell-derived neural progenitors. *Cell Stem Cell* 2010; 6(4): 323–335. doi: 10.1016/j.stem.2010.02.015.
26. Buckley PG, Alcock L, Bryan K et al. Chromosomal and microRNA expression patterns reveal biologically distinct subgroups of 11q- neuroblastoma. *Clin Cancer Res* 2010; 16(11): 2971–2978. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-09-3215.
27. Bray I, Bryan K, Prenter S et al. Widespread dysregulation of MiRNAs by MYCN amplification and chromosomal imbalances in neuroblastoma: association of miRNA expression with survival. *PLoS One* 2009; 4(11): e7850. doi: 10.1371/journal.pone.0007850.
28. Schulte JH, Marschall T, Martin M et al. Deep sequencing reveals differential expression of microRNAs in favorable versus unfavorable neuroblastoma. *Nucleic Acids Res* 2010; 38(17): 5919–5928. doi: 10.1093/nar/gkq342.
29. Bray I, Tivnan A, Bryan K et al. MicroRNA-542-5p as a novel tumor suppressor in neuroblastoma. *Cancer Lett* 2011; 303(1): 56–64. doi: 10.1016/j.canlet.2011.01.016.
30. Schulte JH, Schowe B, Mestdagh P et al. Accurate prediction of neuroblastoma outcome based on miRNA expression profiles. *Int J Cancer* 2010; 127(10): 2374–2385. doi: 10.1002/ijc.25436.
31. Lin RJ, Lin YC, Chen J et al. microRNA signature and expression of Dicer and Drosha can predict prognosis and delineate risk groups in neuroblastoma. *Cancer Res* 2010; 70(20): 7841–7850. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-0970.
32. Wei JS, Song YK, Durinck S et al. The MYCN oncogene is a direct target of miR-34a. *Oncogene* 2008; 27(39): 5204–5213. doi: 10.1038/onc.2008.154.
33. Buechner J, Henriksen JR, Haug BH et al. Inhibition of miR-21, which is up-regulated during MYCN knock-down-mediated differentiation, does not prevent differentiation of neuroblastoma cells. *Differentiation* 2011; 81(1): 25–34. doi: 10.1016/j.diff.2010.09.184.
34. Das S, Foley N, Bryan K et al. MicroRNA mediates DNA demethylation events triggered by retinoic acid during neuroblastoma cell differentiation. *Cancer Res* 2010; 70(20): 7874–7881. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-1534.
35. Foley NH, Bray I, Watters KM et al. MicroRNAs 10a and 10b are potent inducers of neuroblastoma cell differentiation through targeting of nuclear receptor corepressor 2. *Cell Death Differ* 2011; 18(7): 1089–1098. doi: 10.1038/cdd.2010.172.
36. Fukuda Y, Kawasaki H, Taira K. Exploration of human miRNA target genes in neuronal differentiation. *Nucleic Acids Symp Ser (Oxf)* 2005; 49: 341–342.
37. Buechner J, Tomte E, Haug BH et al. Tumour-suppressor microRNAs let-7 and miR-101 target the proto-oncogene MYCN and inhibit cell proliferation in MYCN-amplified neuroblastoma. *Br J Cancer* 2011; 105(2): 296–303. doi: 10.1038/bjc.2011.220.
38. Vermeulen J, De Preter K, Naranjo A et al. Predicting outcomes for children with neuroblastoma using a multigene-expression signature: a retrospective SIOPEN/COG/GPOH study. *Lancet Oncol* 2009; 10(7): 663–671. doi: 10.1016/S1470-2045(09)70154-8.
39. Nakagawara A, Arima M, Azar CG et al. Inverse relationship between trk expression and N-myc amplification in human neuroblastomas. *Cancer Res* 1992; 52(5): 1364–1368.
40. Nakagawara A, Arima-Nakagawara M, Scavarda NJ et al. Association between high levels of expression of the TRK gene and favorable outcome in human neuroblastoma. *N Engl J Med* 1993; 328(12): 847–854.
41. Kogner P, Barbany G, Dominici C et al. Coexpression of messenger RNA for TRK protooncogene and low affinity nerve growth factor receptor in neuroblastoma with favorable prognosis. *Cancer Res* 1993; 53(9): 2044–2050.
42. Suzuki T, Bogenmann E, Shimada H et al. Lack of high-affinity nerve growth factor receptors in aggressive neuroblastomas. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85(5): 377–384.
43. Nakagawara A, Azar CG, Scavarda NJ et al. Expression and function of TRK-B and BDNF in human neuroblastomas. *Mol Cell Biol* 1994; 14(1): 759–767.
44. Ryan J, Tivnan A, Fay J et al. MicroRNA-204 increases sensitivity of neuroblastoma cells to cisplatin and is associated with a favourable clinical outcome. *Br J Cancer* 2012; 107(6): 967–976. doi: 10.1038/bjc.2012.356.
45. Ho R, Eggert A, Hishiki T et al. Resistance to chemotherapy mediated by TrkB in neuroblastomas. *Cancer Res* 2002; 62(22): 6462–6466.
46. Jaboin J, Hong A, Kim CJ et al. Cisplatin-induced cytotoxicity is blocked by brain-derived neurotrophic factor activation of TrkB signal transduction path in neuroblastoma. *Cancer Lett* 2003; 193(1): 109–114.
47. Yamashiro DJ, Nakagawara A, Ikegaki N et al. Expression of TrkC in favorable human neuroblastomas. *Oncogene* 1996; 12(1): 37–41.
48. Ryden M, Sehgal R, Dominici C et al. Expression of mRNA for the neurotrophin receptor trkC in neuroblastomas with favourable tumour stage and good prognosis. *Br J Cancer* 1996; 74(5): 773–779.
49. Guidi M, Muinos-Gimeno M, Kagerbauer B et al. Overexpression of miR-128 specifically inhibits the truncated isoform of NTRK3 and upregulates BCL2 in SH-SY5Y neuroblastoma cells. *BMC Mol Biol* 2010; 11: 95. doi: 10.1186/1471-2199-11-95.
50. Shimada H, Umehara S, Monobe Y et al. International neuroblastoma pathology classification for prognostic evaluation of patients with peripheral neuroblastic tumors: a report from the Children's Cancer Group. *Cancer* 2001; 92(9): 2451–2461.
51. Beveridge NJ, Tooney PA, Carroll AP et al. Down-regulation of miR-17 family expression in response to retinoic acid induced neuronal differentiation. *Cell Signal* 2009; 21(12): 1837–1845. doi: 10.1016/j.cellsig.2009.07.019.
52. Meseguer S, Mudduluru G, Escamilla JM et al. MicroRNAs-10a and -10b contribute to retinoic acid-induced differentiation of neuroblastoma cells and target the alternative splicing regulatory factor SFRS1 (SF2/ASF). *J Biol Chem* 2011; 286(6): 4150–4164. doi: 10.1074/jbc.M110.167817.
53. Noy N. Between death and survival: retinoic acid in regulation of apoptosis. *Annu Rev Nutr* 2010; 30: 201–217. doi: 10.1146/annurev.nutr.28.061807.155509.
54. Abemayor E, Sidell N. Human neuroblastoma cell lines as models for the in vitro study of neoplastic and neuronal cell differentiation. *Environ Health Perspect* 1989; 80: 3–15.
55. Thiele CJ, Reynolds CP, Israel MA. Decreased expression of N-myc precedes retinoic acid-induced morphological differentiation of human neuroblastoma. *Nature* 1985; 313(6001): 404–406.
56. Mestdagh P, Fredlund E, Pattyn F et al. MYCN/c-MYC-induced microRNAs repress coding gene networks associated with poor outcome in MYCN/c-MYC-activated tumors. *Oncogene* 2010; 29(9): 1394–1404. doi: 10.1038/onc.2009.429.
57. Laneve P, Di Marcotullio L, Gioia U et al. The interplay between microRNAs and the neurotrophin receptor tropomyosin-related kinase C controls proliferation of human neuroblastoma cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104(19): 7957–7962.
58. Thiele CJ, Israel MA. Regulation of N-myc expression is a critical event controlling the ability of human neuroblasts to differentiate. *Exp Cell Biol* 1988; 56(6): 321–333.
59. Childrens oncology group.org [homepage on the Internet]. Children's Oncology Group. Available from: <http://www.childrensoncologygroup.org/index.php/neuroblastoma/197>.
60. Davidoff AM. Neuroblastoma. *Semin Pediatr Surg* 2012; 21(1): 2–14. doi: 10.1053/j.sempedsurg.2011.10.009.
61. Brodeur GM, Seeger RC, Schwab M et al. Amplification of N-myc in untreated human neuroblastomas correlates with advanced disease stage. *Science* 1984; 224(4653): 1121–1124.
62. Attiyeh EF, London WB, Mosse YP et al. Chromosome 1p and 11q deletions and outcome in neuroblastoma. *N Engl J Med* 2005; 353(21): 2243–2253.
63. Volinia S, Calin GA, Liu CG et al. A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103(7): 2257–2261.
64. Ciafre SA, Galardi S, Mangiola A et al. Extensive modulation of a set of microRNAs in primary glioblastoma. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 334(4): 1351–1358.
65. Slaby O, Svoboda M (eds). *MikroRNA v onkologii*. 1. vyd. Praha: Galén 2012.
66. Calin GA, Croce CM. Chromosomal rearrangements and microRNAs: a new cancer link with clinical implications. *J Clin Invest* 2007; 117(8): 2059–2066.
67. Stenvang J, Silahatoglu AN, Lindow M et al. The utility of LNA in microRNA-based cancer diagnostics and therapeutics. *Semin Cancer Biol* 2008; 18(2): 89–102. doi: 10.1016/j.semcancer.2008.01.004.
68. Swarbrick A, Woods SL, Shaw A et al. miR-380-5p represses p53 to control cellular survival and is associated with poor outcome in MYCN-amplified neuroblastoma. *Nat Med* 2010; 16(10): 1134–1140. doi: 10.1038/nm.2227.
69. Garzon R, Marcucci G, Croce CM. Targeting microRNAs in cancer: rationale, strategies and challenges. *Nat Rev Drug Discov* 2010; 9(10): 775–789. doi: 10.1038/nrd3179.
70. Bader AG, Brown D, Stoudemire J et al. Developing therapeutic microRNAs for cancer. *Gene Ther* 2011; 18(12): 1121–1126. doi: 10.1038/gt.2011.79.
71. Ritter G, Livingston PO. Ganglioside antigens expressed by human cancer cells. *Semin Cancer Biol* 1991; 2(6): 401–409.
72. Wu ZL, Schwartz E, Seeger R et al. Expression of GD2 ganglioside by untreated primary human neuroblastomas. *Cancer Res* 1986; 46(1): 440–443.
73. Handgretinger R, Anderson K, Lang P et al. A phase I study of human/mouse chimeric antiganglioside GD2 antibody ch14.18 in patients with neuroblastoma. *Eur J Cancer* 1995; 31A(2): 261–267.
74. Yu AL, Uttenreuther-Fischer MM, Huang CS et al. Phase I trial of a human-mouse chimeric anti-disialoganglioside

- monoclonal antibody ch14.18 in patients with refractory neuroblastoma and osteosarcoma. *J Clin Oncol* 1998; 16(6): 2169–2180.
75. Zeytin HE, Tripathi PK, Bhattacharya-Chatterjee M et al. Construction and characterization of DNA vaccines encoding the single-chain variable fragment of the anti-idiotypic antibody 1A7 mimicking the tumor-associated antigen disialoganglioside GD2. *Cancer Gene Ther* 2000; 7(11): 1426–1436.
76. Lode HN, Xiang R, Varki NM et al. Targeted interleukin-2 therapy for spontaneous neuroblastoma metastases to bone marrow. *J Natl Cancer Inst* 1997; 89(21): 1586–1594.
77. Tivnan A, Orr WS, Gubala V et al. Inhibition of neuroblastoma tumor growth by targeted delivery of microRNA-34a using anti-disialoganglioside GD2 coated nanoparticles. *PLoS One* 2012; 7(5): e38129. doi: 10.1371/journal.pone.0038129.
78. Wallace MS, Lee J, Sorkin L et al. Intravenous lidocaine: effects on controlling pain after anti-GD2 antibody therapy in children with neuroblastoma – a report of a series. *Anesth Analg* 1997; 85(4): 794–796.
79. Lee JJ, Drakaki A, Iliopoulos D et al. MiR-27b targets PPARgamma to inhibit growth, tumor progression and the inflammatory response in neuroblastoma cells. *Oncogene* 2012; 31(33): 3818–3825. doi: 10.1038/ncr.2011.543.
80. Chung SW, Kang BY, Kim SH et al. Oxidized low density lipoprotein inhibits interleukin-12 production in lipopolysaccharide-activated mouse macrophages via direct interactions between peroxisome proliferator-activated receptor-gamma and nuclear factor-kappa B. *J Biol Chem* 2000; 275(42): 32681–32687.
81. Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? *Lancet* 2001; 357(9255): 539–545.
82. Karin M. Nuclear factor-kappaB in cancer development and progression. *Nature* 2006; 441(7092): 431–436.
83. Naugler WE, Karin M. NF-kappaB and cancer-identifying targets and mechanisms. *Curr Opin Genet Dev* 2008; 18(1): 19–26. doi: 10.1016/j.gde.2008.01.020.
84. Chen H, Shalom-Feuerstein R, Riley J et al. miR-7 and miR-214 are specifically expressed during neuroblastoma differentiation, cortical development and embryonic stem cells differentiation, and control neurite outgrowth in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 394(4): 921–927. doi: 10.1016/j.bbrc.2010.03.076.
85. Lovén J, Zinin N, Wahlstrom T et al. MYCN-regulated microRNAs repress estrogen receptor-alpha (ESR1) expression and neuronal differentiation in human neuroblastoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107(4): 1553–1558. doi: 10.1073/pnas.0913517107.
86. Makeyev EV, Zhang J, Carrasco MA et al. The MicroRNA miR-124 promotes neuronal differentiation by triggering brain-specific alternative pre-mRNA splicing. *Mol Cell* 2007; 27(3): 435–448.
87. Evangelisti C, Florian MC, Massimi I et al. MiR-128 up-regulation inhibits Reelin and DCX expression and reduces neuroblastoma cell motility and invasiveness. *FASEB J* 2009; 23(12): 4276–4287. doi: 10.1096/fj.09-134965.
88. Le MT, Xie H, Zhou B et al. MicroRNA-125b promotes neuronal differentiation in human cells by repressing multiple targets. *Mol Cell Biol* 2009; 29(19): 5290–5305. doi: 10.1128/MCB.01694-08.
89. Foley NH, Bray IM, Tivnan A et al. MicroRNA-184 inhibits neuroblastoma cell survival through targeting the serine/threonine kinase AKT2. *Mol Cancer* 2010; 9: 83. doi: 10.1186/1476-4598-9-83.
90. Khew-Goodall Y, Goodall GJ. Myc-modulated miR-9 makes more metastases. *Nat Cell Biol* 2010; 12(3): 209–211. doi: 10.1038/ncb0310-209.
91. Welch C, Chen Y, Stallings RL. MicroRNA-34a functions as a potential tumor suppressor by inducing apoptosis in neuroblastoma cells. *Oncogene* 2007; 26(34): 5017–5022.
92. Mestdagh P, Bostrom AK, Impens F et al. The miR-17-92 microRNA cluster regulates multiple components of the TGF-beta pathway in neuroblastoma. *Mol Cell* 2010; 40(5): 762–773. doi: 10.1016/j.molcel.2010.11.038.
93. Ragusa M, Majorana A, Banelli B et al. MIR152, MIR200B, and MIR338, human positional and functional neuroblastoma candidates, are involved in neuroblast differentiation and apoptosis. *J Mol Med (Berl)* 2010; 88(10): 1041–1053. doi: 10.1007/s00109-010-0643-0.
94. Tivnan A, Foley NH, Tracey L et al. MicroRNA-184-mediated inhibition of tumour growth in an orthotopic murine model of neuroblastoma. *Anticancer Res* 2010; 30(11): 4391–4395.

Úloha CDK12 v iniciaci a rozvoji nádorů a její klinické konsekvence

Function of CDK12 in Tumor Initiation and Progression and Its Clinical Consequences

Vrábel D.¹, Svoboda M.^{2,3}, Navrátil J.², Kohoutek J.¹

¹ Oddělení chemie a toxikologie, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i., Brno

² Klinika komplexní onkologické péče, Masarykův onkologický ústav, Brno

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

Souhrn

Cyclin-dependent kinázy (CDKs) se účastní celé řady buněčných procesů a zcela zásadní roli zastávají v regulaci buněčného dělení a transkripce. V nedávné době se podařilo identifikovat CDK12 jako důležitý faktor v regulaci transkripce genů *BRCA1*, *ATM*, *ATR*, *FANCI* a *FANCD2* zapojených do odpovědi buňky na poškození DNA. Porucha funkce těchto genů vede ke vzniku genomové nestability, což je jeden z klíčových stavů v procesu kancerogeneze. Z uvedeného postavení CDK12 vyplývají i možné klinické konsekvence, které jsou postupně dokazovány. Jedná se především o zjištění, že v řadě nádorů (např. karcinomy vaječníků, prsu, prostaty, tlustého střeva) dochází v důsledku mutace k poškození funkce nebo snížení exprese CDK12, což může zvýšit citlivost nádoru k cytostatikům způsobujícím poškození DNA (např. platinové deriváty, alkylační látky) a k inhibitorům oprav DNA (např. PARP inhibitory). Tato skutečnost již byla potvrzena na modelu serózního ovariálního karcinomu. CDK12 se tak stává potenciálním terapeutickým cílem léčiv, jejichž úkolem je navodit v nádorových buňkách syntetickou letalitu. Náš přehledový článek přináší poslední informace o významu CDK12 v kancerogenezi a o potenciálních možnostech využití CDK12 pro klinickou praxi.

Klíčová slova

cyclin-dependent kináza 12 – mutace – opravy DNA – PARP inhibitor – platinová cytostatika

Summary

Cyclin-dependent kinases (CDKs) participate in many cellular processes and play a crucial role in the regulation of cell cycle and transcription processes. Recently, CDK12 was identified as a key factor orchestrating transcription of genes, such as *BRCA1*, *ATM*, *ATR*, *FANCI* and *FANCD2*, which are involved in the DNA-damage response pathway. Importantly, inhibition of function of these genes commonly leads to induction of genomic instability followed by cancer development, but the precise contribution of CDK12 to these processes is to be unveiled. Nevertheless, several mutations affecting function of CDK12 were already identified in a variety of tumors of different origin (ovary, breast, prostate, intestine) making tumors sensitive to cytostatics promoting DNA damage (platin derivatives, alkylating regimens) and inhibitors of DNA repair (PARP inhibitors). Such an effect has been already observed in the model of high grade serous ovarian carcinomas. Thus, CDK12 is becoming a potential therapeutic target of drugs causing synthetic lethality in these cells. Our review summarizes most recent information about CDK12 function in cancer and discusses potential use of CDK12 in clinics.

Key words

cyclin-dependent kinase 12 – mutation – DNA repair – PARP inhibitor – platin cytostatics

Práce byla podpořena grantem IGA MZ ČR č. NT14599-3, rozvojovým projektem organizace MZe č. MZE-00027162/02:2 a prostředky institucionální podpory výzkumné organizace MOÚ poskytnuté MZ ČR v roce 2014 č. MOÚ, 00209805.

This study was supported by grant of Internal Grant Agency of the Czech Ministry of Health No. NT14599-3, development project of the MZe organization No. MZE-00027162/02:2 and institutional resources for supporting the Research Organization provided by the Czech Ministry of Health to MOÚ in 2014 No. MOÚ, 00209805.

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

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

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

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



Mgr. Jiří Kohoutek, Ph.D.

Oddělení chemie a toxikologie
Výzkumný ústav veterinárního
lékařství, v.v.i.

Hudcova 296/70

621 00 Brno

e-mail: kohoutek@vri.cz

Obdrženo/Submitted: 15. 9. 2014

Přijato/Accepted: 25. 9. 2014

<http://dx.doi.org/10.14735/amko2014340>

Úvod

Z pohledu dnešních znalostí již nepohlížíme na nádor jako na prostou masu nekontrolovaně se dělících buněk, ale spíše jej považujeme za unikátní druh tkáně, kde vzájemně interagují různorodé populace nádorových a normálních buněk, jež jsou od počátku součástí mikroprostředí nádoru a postupně utvářejí jeho stroma, a tyto interakce významně ovlivňují celý průběh kancerogeneze a v kauzálním důsledku i chování nádoru k jeho okolí [1–3].

Maligní onemocnění představuje složitý komplex celé řady procesů uplatňujících se v průběhu kancerogeneze, které ze své podstaty vycházejí z fyziologických buněčných dějů a nádor si je přizpůsobuje k vlastnímu prospěchu. Hanahan a Weinberg jich v roce 2000 popsali šest: soběstačnost v růstových faktorech, rezistence na inhibitory růstu, deregulace a inhibice apoptózy, neomezené buněčné dělení (buněčný cyklus), podpora a udržování angiogeneze a tkáňová invazivita a metastazování [4]. S přibývajícím znalostmi, po více než jednom desetiletí, ti samí autoři rozšířili výše zmíněné procesy o další děje, které jsou v nádorech specificky deregulovány: narušení metabolické rovnováhy v buňce, únik nádorových buněk před specifickou imunitní odpovědí, nádor iniciující zánětlivé procesy a v neposlední řadě mutace a genomová nestabilita [4].

Bylo by velmi odvážné tvrdit, že lze všechny tyto děje seřadit podle důležitosti nebo že jejich výčet je již konečný. Zásadní je, že byly poznány a mohou být využity v prevenci i léčbě nádorů. Náš přehledový článek se zaměřuje na představení nových poznatků, které se dotýkají dvou z těchto dějů, a to procesu neomezeného buněčného dělení a genové nestability, jež v určité fázi využívají stejný typ regulačních proteinů a těmi jsou cyklin-dependentní kinázy (cyclin-dependent kinases – CDKs).

Buněčné dělení

a cyklin-dependentní kinázy

Cyklin-dependentní kinázy (CDKs) obecně patří do skupiny proteinkináz, což jsou enzymy uskutečňující přenos fosfátové skupiny z donorové mole-

kuly ATP na konkrétní substrát v procesu označovaném jako fosforylace. Aktivita a specifita CDK je závislá především na jejich přímé asociaci se specifickým vazebným partnerem – cyklinem [5]. V současnosti je v literatuře experimentálně popsáno 21 odlišných CDK, které se podílejí na různých fyziologických procesech v buňce, z nichž dva nejvýznamnější jsou právě proces kontroly buněčného dělení a regulace transkripce. Do první skupiny CDK regulující buněčné dělení lze zahrnout CDK 1, 2, 4, 6 a 7, do druhé skupiny patří CDK 7, 8, 9, 11, 12 a 13 [6–9].

Naším cílem je seznámit čtenáře s nedávno objevenou CDK12, která se účastní regulace buněčné transkripce a u které se prokázala zřejmá spojitost s procesem maligní transformace a kancerogeneze [10,11]. Dříve než budeme detailněji diskutovat aspekty funkce CDK12 v procesu kancerogeneze, je vhodné zmínit skutečnost, že transkripční CDK kinázy byly již dříve spojovány s biologií nádoru, z toho CDK9 zaujímá zcela výsadní pozici. Tato CDK, která byla z počátku studována zejm. v souvislosti s regulací replikace viru HIV způsobujícího onemocnění AIDS [12–14], byla později identifikována jako zcela klíčový transkripční faktor nezbytný pro aktivitu řady dalších transkripčních faktorů a *bona fide* onkogenů (NFκB, C-MYC, estrogenový receptor, glukokortikoidový receptor a další), jejichž funkce v procesu kancerogeneze již byla detailně popsána [15–18]. Způsob, jakým CDK9 pozitivně reguluje podřízené molekuly, spočívá v její vazbě na daný faktor/onkogen a následné fosforylaci tzv. C-terminální domény (CTD) RNA polymerázy II (RNAPII), což má za následek efektivnější produkci onkogen-dependentních genů a iniciaci transformace.

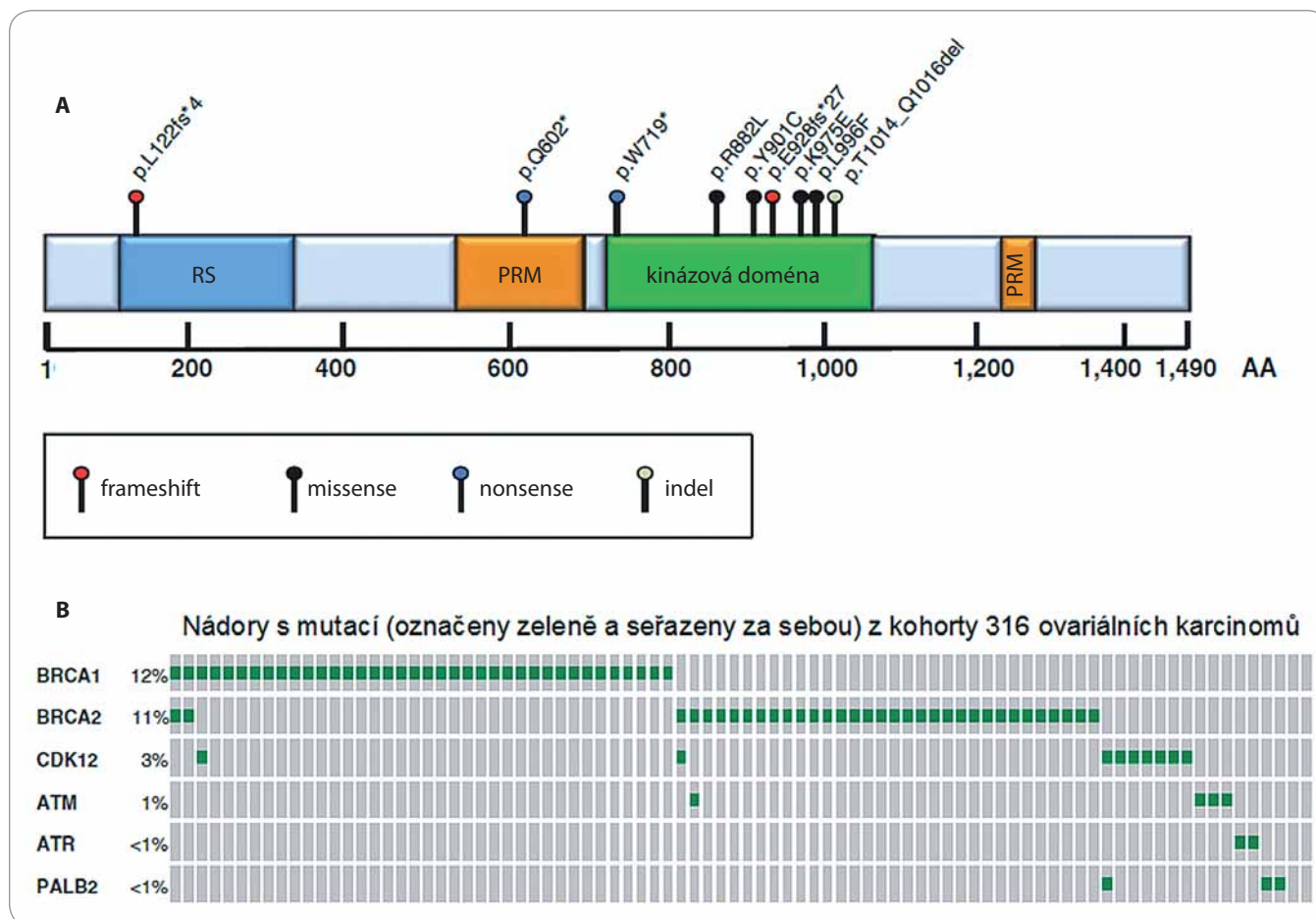
I když se mohlo dlouhá léta zdát, že oblast nádorové biologie a transkripčních kináz je již podrobně zmapovaná a nepřinese nové výraznější objevy, v roce 2010 a 2011 vyšly dvě zásadní publikace, které kromě objevu cyklinu K jako nového vazebného partnera CDK12 a CDK13 kináz přesvědčivě prokázaly, že CDK12 je klíčovým faktorem v procesu udržování genomové stability [11,19].

Cyklin-dependentní kináza 12 (CDK12)

CDK12 byla poprvé v literatuře popsána pod zkratkou CrkRS, která označuje Cdc2-příbuznou kinázu s oblastmi bohatými na arginin/serin (RS motivy). Toto označení navrhli Ko et al v roce 2001 na základě její příbuznosti s CDK1, původně známou pod označením Cdc2 [20]. Později byla přejmenována na Cdc2-příbuznou protein kinázu 7 (CRK7) a poté na CDK12 [21]. Původně se rovněž předpokládalo, že její regulační podjednotkou je cyklin L1, teprve až recentní objev přímé interakce CDK12 s cyklinem K (CycK) u octomilky (*Drosophila m.*) a člověka vedl k jejímu definitivnímu označení CDK12 [11,19].

Struktura a vlastnosti CDK12

Lidská CDK12 se skládá z 1 490 aminokyselin a její molekulová hmotnost je 164 kDa. Oproti ostatním CDK, jejichž struktura je převážně tvořena dvěma funkčními oblastmi, struktura CDK12 dominují tři funkční oblasti, a to katalytická nebo také kinázová doména ohraničená N- a C-rameny. Kinázová doména se nachází v centrální části proteinu, je tvořena přibližně 300 aminokyselinami a je zodpovědná za fosforylaci daného substrátu (obr. 1A). Kinázová doména obsahuje v místě PSTAIRE helixu, známého u CDK1 a ostatních příbuzných CDK, PITAIRE sekvenci. Podobně jak je tomu u CDK1, má i ATP vazební doména CDK12 na svém počátku charakteristické treoninové a tyrosinové aminokyselinové zbytky důležité pro její regulaci, ať už pozitivní, či negativní [20]. Druhým dominantním rysem struktury CDK12 jsou dvě ramena ohraničující kinázovou doménu. V nich je možné rozpoznat několik funkčně odlišných oblastí: 1. oblasti bohaté na arginin a serin, tzv. RS motivy, které hrají důležitou roli v sestavování proteinových komplexů a jsou běžné u proteinů potřebných pro sestřih (splicing) pre-mRNA a alternativní sestřih [22–24]. Většina – 21 z 22 RS motivů – se nachází na N-ramenu v prvních 400 aminokyselinách (obr. 1A) a jen jeden RS motiv ve zbývajících částech proteinu [20]; 2. dalšími funkčně významnými strukturními oblastmi jsou tzv. PRM domény, které jsou bohaté na proliny (obr. 1A). Tyto PRM domény mají význam především v pro-



Obr. 1 A. Schematická struktura CDK12.

RS motiv – oblast bohatá na arginin/serin (RS, modrý obdélník); PRM – oblast bohatá na prolin (PRM, oranžový obdélník); kinázová doména (zelený obdélník). Čísla udávají pozici aminokyselin (AA) vůči zobrazené struktuře. Nad doménami jsou znázorněny alterace vznikající v proteinu CDK12 na základě různých typů mutací identifikovaných v nádorových buňkách high-grade serózního ovariálního karcinomu. Typy mutací jsou uvedeny pod strukturou CDK12.

B. Grafické znázornění výskytu mutací v genech *BRCA1*, *BRCA2*, *CDK12*, *ATM*, *ATR* a *PALB2* v jednotlivých nádorech (šedé proužky se zeleným středem) získaných od pacientek s high-grade serózním ovariálním karcinomem. Analýza byla provedena celkem u 316 nádorů v rámci projektu The Cancer Genome Atlas (TCGA), znázorněny jsou pouze ty případy, ve kterých byla detekována mutace (*BRCA1* – 38 případů/12 %; *BRCA2* – 34 případů/11 %; *CDK12* – 9 případů/3 %; *ATM* – 4 případy/1 %; *ATR* – 2 případy/< 1 %; *PALB2* – 3 případy/< 1 %). Převzato z [10]. K úpravě a překladu dále viz upozornění na konci článku/see note at the end of the article regarding of translation and picture modification.

tein-proteinové interakci odehrávající se při tvorbě multiproteinových signálních komplexů, a to díky jejich specifické interakci s SH3, WW nebo prolinovými doménami v jiných proteinech [25,26]. (Této skutečnosti bude jistě možné využít při hledání cílených nízkomolekulárních léčiv.) Protein CDK12 je exprimován ve všech tkáních, z toho zvýšená hladina je detekována ve vaječníku, varlatech, plicích, štítné žláze a slezině [27].

Funkce CDK12

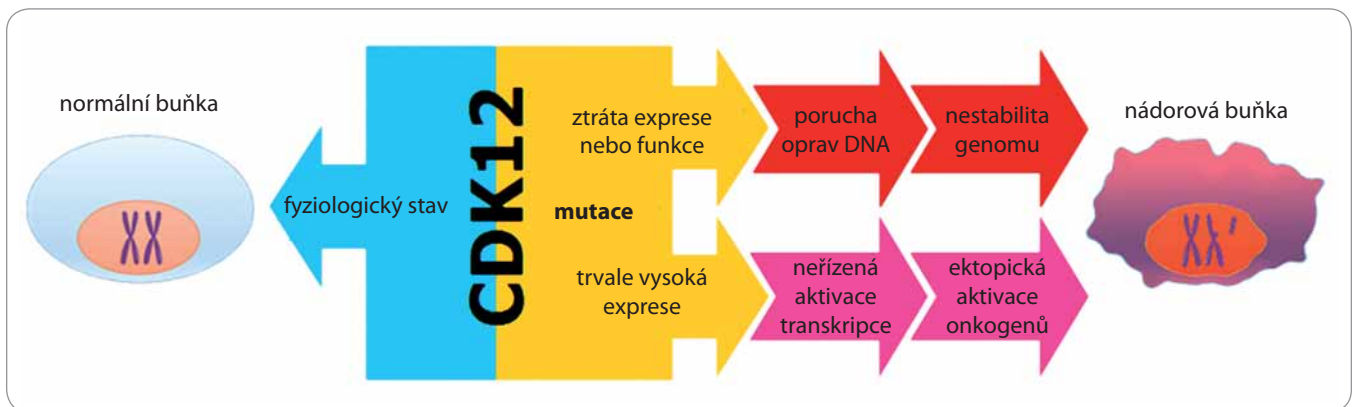
Jak již bylo uvedeno, CDK12 se podílí na regulaci transkripce. Vlastní proces tran-

skripce je velmi komplexní a přísně regulovaný děj vycházející z fyziologických potřeb organismu. Sestává se z mnoha dílčích fází, které je možné pro potřeby přehledového článku rozdělit na iniciaci, elongaci a terminaci [28,29]. Každá z výše zmiňovaných fází současně slouží jako kontrolní bod v regulaci transkripce zprostředkované aktivitou RNAPII.

Pro savčí RNAPII je typická přítomnost tzv. CTD domény, která obsahuje 52krát opakující se heptapeptidový motiv $Y_1S_2P_3T_4S_5P_6S_7$ [30,31]. V průběhu transkripce dochází k sekvenční fosforylaci jednotlivých serinů, treoninů a tyro-

zinů nacházejících se v CTD doméně, což funkčně koreluje s příslušnou fází transkripce nebo s přechodem mezi jednotlivými fázemi [32,33]. A právě CDK12 specificky fosforyluje v CTD doméně RNAPII serin v pozici 2 ($Y_1S_2P_3T_4S_5P_6S_7$) a tím umožňuje přechod transkripce z iniciační do elongační fáze [11,19].

Zajímavou skutečností je ovšem fakt, že CDK12 se nechová jako globální regulátor transkripce, podobně jako je tomu v případě CDK9, která v CTD doméně RNAPII fosforyluje stejné místo. Jak dokazují provedené experimenty, inhibice aktivity CDK12 má za následek sni-



Obr. 2. Vliv deregulace CDK12 na proces iniciace a rozvoje nádoru.

Je-li fyziologická aktivita CDK12 narušena vlivem *de novo* mutací, může na straně jedné dojít ke snížení její exprese nebo ke ztrátě funkce, což má za následek narušení transkripce genů zapojených v procesu odpovědi buňky na poškození DNA (DNA damage response – DDR). Na straně druhé může nastat i neřízené zvýšení exprese CDK12, které způsobí nespecifické spuštění elongační fáze transkripce, což v konečném důsledku vede k aktivaci genů obecně nezbytných pro rozvoj nádorů, včetně protoonkogenů. Tento mechanismus však dosud nebyl potvrzen.

žení exprese pouze malé skupiny genů bez výrazného efektu na transkripci jako celek [11,19,32,34,35]. Z pohledu kancerogeneze je velmi důležitým zjištěním, že onou specifickou skupinou CDK12 regulovaných genů jsou právě geny účastníci se, kromě jiného, odpovědi buňky na poškození DNA (damage response/repair pathway – DDR): *BRCA1*, *ATM*, *ATR*, *FANCI* a *FANCD2*. U všech těchto genů bylo prokázáno, že porucha jejich funkce vede ke vzniku genové nestability a tímto způsobem se uplatňují v procesu vzniku a rozvoje nádorů (obr. 2) [7,36].

Mimo již popsané aktivity v procesu odpovědi buňky na poškození DNA reguluje CDK12, podobně jako CDK9, přechod z iniciační do elongační fáze transkripce. Právě kontrola přechodu mezi iniciační a elongační fází transkripce je v nádorech často narušena, a to nejen zvýšenou aktivitou elongační fáze, jako je tomu např. u různých typů leukemií, ale především ektopickou aktivací protoonkogenů a *bona fide* onkogenů, jakými jsou *JUN*, *TIF1γ*, *c-FOS* [37–44]. Zcela bezprecedentní ukázkou, jak významnou roli hraje elongační fáze v rozvoji nádoru, je mechanismus účinku onkogenu *c-MYC*. Hladina různých forem onkogenu *MYC* je významně zvýšena u celé řady nádorových onemocnění, přitom detailní analýzy jednoznačně nevedly k identifikaci *c-MYC*-dependentních genů, které jsou klíčové pro další

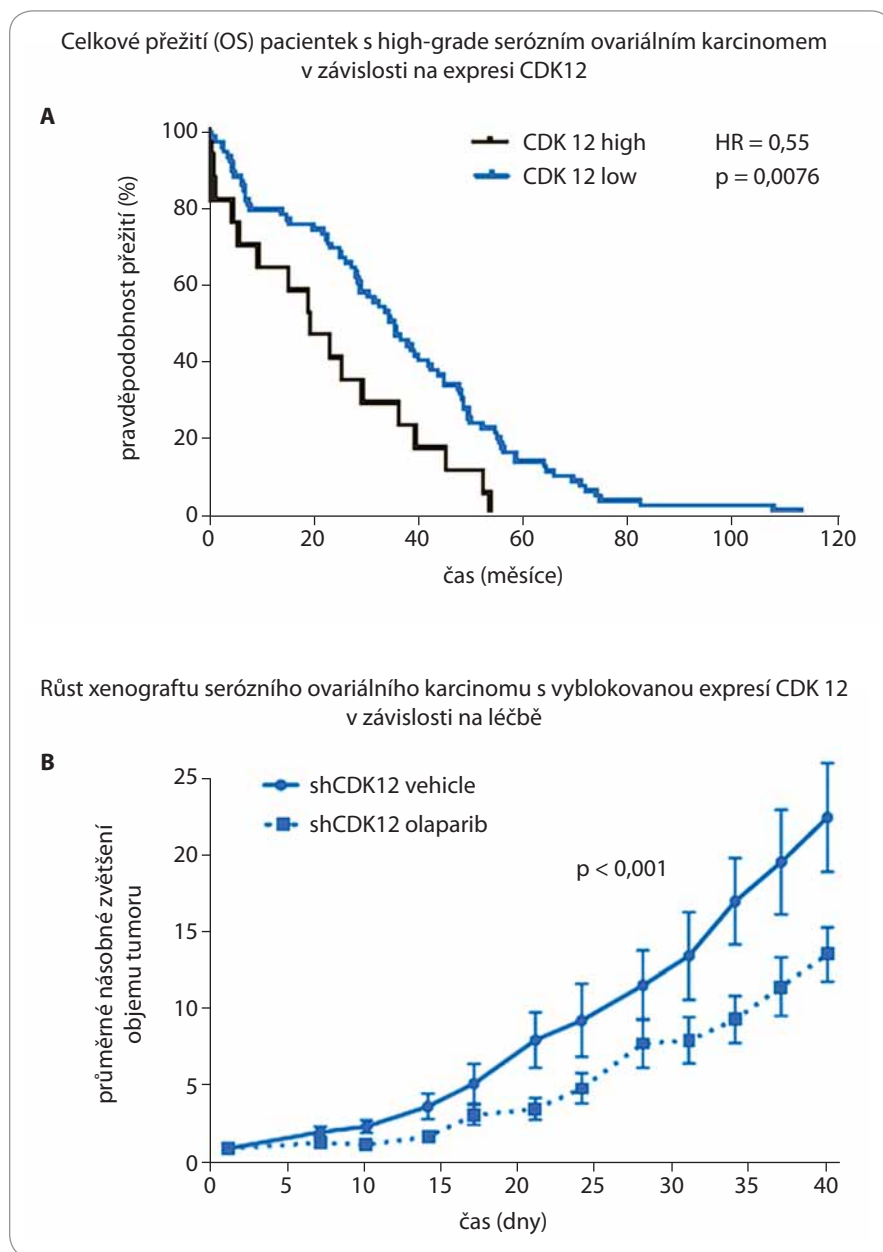
vývoj nádoru. Richard Young a jeho tým zjistili, že zvýšení hladiny *c-MYC* proteinu ve většině nádorů má za následek nespecifické spuštění elongační fáze transkripce, což v konečném důsledku vede k aktivaci genů obecně nezbytných pro rozvoj nádorů, ovšem v případě konkrétního nádoru se vždy jedná o geny specifické výhradně pro tento nádor [45]. Podobně jako *c-MYC*, také CDK12 reguluje přechod z iniciační fáze do fáze elongační, a proto je odůvodněné se domnívat, že deregulace aktivity CDK12 může mít dramatický dopad na transkripci genů, které se přímo podílejí na iniciaci a rozvoji konkrétního nádoru (obr. 2). Tato hypotéza však dosud nebyla experimentálně potvrzena. V případě, že se tak v budoucnu stane, mohla by CDK12 v závislosti na dalších molekulárních změnách nabývat v kontextu jednotlivých nádorů funkce nejen primárně nádorového supresoru, ale i protoonkogenu.

Klinické aspekty CDK12

Výsledky výzkumu z posledních let ukazují, že poškození funkce CDK12 může významně narušit proces oprav DNA formou homologní rekombinace, a tím i udržování genomové stability. Primárně se tak děje v důsledku bodových nebo frameshift mutací či nukleotidových změn, které jsou nejčastěji lokalizovány v kinázové doméně (2/3 mutací) a ve většině případů vedou ke ztrátě kinázové aktivity

CDK12 a ke snížení exprese genů, které se procesem homologní rekombinace přímo účastní, jako např. *BRCA1* a *BRCA2* (nepublikovaná data, obr. 1B) [46]. Kromě těchto mutací může ke ztrátě kinázové aktivity CDK12 dojít i při vzniku fúzního proteinu CDK12-ERBB2 (CDK12-HER2), který byl popsán u karcinomů prsu a žaludku nesoucích amplifikaci *HER2/neu* genu. Oba geny se nacházejí na chromozomu 17 [41,42,47] a při strukturálních změnách na tomto chromozomu může dojít k deleci části exonu 13 *CDK12* a k jeho přiřazení k intronu 4 *HER2/neu* genu. Mutace, které vznikají v RS nebo PRM motivech (1/3 mutací), se v kancerogenezi uplatňují spíše odlišným způsobem, a to zejm. narušením procesu sestřihu pre-mRNA/mRNA [22–24]. Následný chybný sestřih změní poměry jednotlivých mRNA postižených genů, což napomáhá v rozvoji daného onemocnění [48]. Kromě toho bylo prokázáno, že snížená hladina CDK12 v buňkách vede k nesprávnému sestavení subjaderných rekombinačních komplexů obsahujících RAD51, a tím opět k problémům s homologní rekombinací [46].

Z klinické praxe již máme důkazy o tom, že je-li v nádorové buňce nefunkční proces oprav DNA, lze toho terapeuticky dobře využít. Porucha funkce genů *BRCA1* a *BRCA2*, ať již navozená mutací, nebo epigenetickými změnami,



Graf 1. CDK12 a *in vivo* odpověď na léčbu.

A. Kaplan-Meierova křivka závislosti celkového přežití (overall survival – OS) na nádorové expresi CDK12 mRNA (nízká/low vs vysoká/high) u 316 patientek s high-grade ovariálním karcinomem II.–IV. klinického stadia, které byly léčené chemoterapií s platinovým cytostatikem (p = 0,0076, log-rank test). Analýza byla provedena celkem u 316 nádorů zařazených do projektu The Cancer Genome Atlas (TCGA).

B. Grafické znázornění vývoje velikosti tumoru u pokusných myší v jednotlivých dnech od zahájení experimentu. Myším byly implantovány xenografy nádorové linie serózního ovariálního karcinomu OV90, ve kterých byla pomocí CDK12 shRNA (shCDK12) zcela vyblokována exprese CDK12. Byly vytvořeny dvě skupiny myší (po 10), první byla aplikována kontrolní látka (shCDK12 vehicle), druhé PARP-inhibitor olaparib (shCDK12 olaparib). V jednotlivých dnech experimentu byla měřena velikost nádoru a poměr aktuální velikosti a počáteční velikosti a směřodonné odchylky pro všechny experimenty jsou vyneseny do grafu. Výsledná křivka znázorňuje vývoj tohoto poměru v závislosti na léčbě a čase. Ztráta exprese CDK12 způsobovala citlivost nádorů k olaparibu.

Převzato z [10]. K úpravě a překladu dále viz upozornění na konci článku/see note at the end of the article regarding of translation and picture modification.

predikuje u patientek s karcinomem prsu nebo ovarií zvýšenou pravděpodobnost odpovědi nádoru na deriváty platiny a inhibitory poly(ADP-riboso) polymerázy (PARP inhibitory) [49,50]. Cytostatika na bázi platiny poškozují DNA alkylací, přitom vznikají vnitro- a meziřetězcové kovalentní spoje vedoucí k zásadní změně konformace molekuly DNA, v důsledku které dochází k zástavě replikace i transkripce. Oprava takto poškozených míst probíhá procesem excize nukleotidů (nucleotide excision repair – NER). PARP1 je enzym uplatňující se v procesu oprav jednořetězcových zlomů DNA (single-strand breaks – SSB) mechanismem excize bází (base excision repair – BER). Pokud jsou výše popsané opravné mechanismy zablokovány, dochází ke kumulaci SSB a v případě, že buňka vstoupí do buněčného cyklu, není schopna replikace DNA a v místě SSB vznikají dvouřetězcové zlomy (double-strand break – DSB). Je-li současně nefunkční *BRCA1* nebo *BRCA2*, nelze DSB efektivně opravit, buněčný genom se stává nestabilním a v důsledku těchto závažných poruch se spouští apoptóza nádorové buňky [51].

V kontextu těchto informací se jeví jako velmi zajímavá zjištění o CDK12 kináze publikovaná v roce 2014. Dva autorské týmy nezávisle na sobě potvrdily relativně vysoký výskyt somatických mutací v high-grade serózních ovariálních karcinomech a výrazně zvýšenou citlivost těchto nádorů k cisplatině, melalanu a k dvěma PARP inhibitorům veliparibu a olaparibu [46]. Z uvedených prací rovněž plyne, že v případě ovariálního karcinomu, u kterého je porucha homologní rekombinace identifikována až u 50 % případů, přičemž pouze 20 % případů lze vysvětlit přítomností patogenní mutace v *BRCA* genech, může být další významnou příčinou tohoto stavu právě mutace v *CDK12* [46]. Bajrami et al naproti tomu vycházeli z genomové analýzy 316 high-grade serózních ovariálních karcinomů, která byla provedena v rámci projektu „The Cancer Genome Atlas“ (TCGA), a zjistili výskyt mutace v *BRCA1* genu ve 12 %, *BRCA2* genu v 11 %, *CDK12* ve 3 %, *ATR*, *ATM* a *PALB1* v 1 % případů (obr. 1B) [10]. Přitom mutace *CDK12* téměř exklu-

zivně vylučovala současný nález mutace v *BRCA1* nebo *BRCA2* genech. Provedli proto dodatečnou analýzu exprese CDK12 (mRNA) ve vzorcích uvedených nádorů, jež pocházely od pacientek léčených chemoterapií s platinovým derivátem, a potvrdili téměř dvojnásobné celkové přežití (overall survival – OS) u těch, jejichž tumory měly nízkou expresi CDK12 (HR = 0,55, p = 0,0076) (graf 1A). Při experimentech s xenografty high-grade serózních ovariálních karcinomů vedla uměle navozená ztráta exprese CDK12 ke zvýšené citlivosti těchto nádorů vůči PARP inhibitoru olaparibu (graf 1B). CDK12 se tak jeví jako slibný prediktor odpovědi na léčbu platinovými deriváty a PARP inhibitory [46].

Závěr

Na základě dosavadních poznatků je tedy možné na CDK12 primárně pohlížet jako na potenciální tumorový supresor, jehož poškození může vést k poruchám replikace DNA a transkripce RNA a tím přispět k procesu kancerogeneze. Stanovení mutačního stavu nebo exprese CDK12 genu může mít v klinické praxi zcela zásadní význam, neboť snížení exprese nebo poškození funkce CDK12 predikuje zvýšenou citlivost k protinádorové léčbě způsobující ve svém důsledku poškození DNA (např. platinové deriváty, alkylační látky, PARP inhibitory). Zvýšená exprese funkčního proteinu může mít za specifických podmínek účinek právě opačný. S ohledem na svoji funkci se CDK12 stává rovněž významným terapeutickým cílem léčiv způsobujících v nádorových buňkách syntetickou letalitu. Vzhledem k tomu, že CDK12 reguluje expresi hned několika genů účastnících se oprav poškozené DNA, lze předpokládat, že anti-CDK12 cílená léčba může být efektivnější, než je tomu např. u PARP inhibitorů. Nicméně výzkum v této oblasti je teprve na počátku.

Poznámka k převzatým obrázkům / Comment on translation and picture modification

Převzaté obrázky pro tento článek byly pozměněny, včetně překladu nadpisů a komentářů. Za tyto změny nakladatel časopisu Cancer Research, společnost AACR, nese zodpovědnost.

Translations of any AACR materials into languages other than English are intended solely as a convenience to the

non-English-reading public. Translation accuracy is neither guaranteed nor implied. If any questions arise related to the accuracy of the information contained in the translation, please refer to the English version of the AACR journal that is the Cancer Res 2014; 74(1): 287–297.

Literatura

- Albini A, Sporn MB. The tumour microenvironment as a target for chemoprevention. *Nat Rev Cancer* 2007; 7(2): 139–147.
- Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011; 144(5): 646–674. doi: 10.1016/j.cell.2011.02.013.
- Swartz MA, Iida N, Roberts EW et al. Tumor microenvironment complexity: emerging roles in cancer therapy. *Cancer Res* 2012; 72(10): 2473–2480. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-0122.
- Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; 100(1): 57–70.
- Malumbres M, Harlow E, Hunt T et al. Cyclin-dependent kinases: a family portrait. *Nat Cell Biol* 2009; 11(11): 1275–1276. doi: 10.1038/ncb1109-1275.
- Buratowski S. Progression through the RNA polymerase II CTD cycle. *Mol Cell* 2009; 36(4): 541–546. doi: 10.1016/j.molcel.2009.10.019.
- Kohoutek J, Blazek D. Cyclin K goes with Cdk12 and Cdk13. *Cell Div* 2012; 7: 12. doi: 10.1186/1747-1028-7-12.
- Loyer P, Trembley JH, Katona R et al. Role of CDK/cyclin complexes in transcription and RNA splicing. *Cell Signal* 2005; 17(9): 1033–1051.
- Satyanarayanan A, Kaldis P. Mammalian cell-cycle regulation: several Cdk, numerous cyclins and diverse compensatory mechanisms. *Oncogene* 2009; 28(33): 2925–2939. doi: 10.1038/onc.2009.170.
- Bajrami I, Frankum JR, Konde A et al. Genome-wide profiling of genetic synthetic lethality identifies CDK12 as a novel determinant of PARP1/2 inhibitor sensitivity. *Cancer Res* 2014; 74(1): 287–297. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-13-2541.
- Blazek D, Kohoutek J, Bartholomeeusen K et al. The Cyclin K/Cdk12 complex maintains genomic stability via regulation of expression of DNA damage response genes. *Genes Dev* 2011; 25(20): 2158–2172.
- Ott M, Geyer M, Zhou Q. The control of HIV transcription: keeping RNA polymerase II on track. *Cell Host Microbe* 2011; 10(5): 426–435. doi: 10.1016/j.chom.2011.11.002.
- Wang S, Fischer PM. Cyclin-dependent kinase 9: a key transcriptional regulator and potential drug target in oncology, virology and cardiology. *Trends Pharmacol Sci* 2008; 29(6): 302–313. doi: 10.1016/j.tips.2008.03.003.
- Zhou Q, Yik JH. The Yin and Yang of P-TEFb regulation: implications for human immunodeficiency virus gene expression and global control of cell growth and differentiation. *Microbiol Mol Biol Rev* 2006; 70(3): 646–659.
- Barboric M, Nissen RM, Kanazawa S et al. NF-kappaB binds P-TEFb to stimulate transcriptional elongation by RNA polymerase II. *Mol Cell* 2001; 8(2): 327–337.
- Kanazawa S, Soucek L, Evan G et al. c-Myc recruits P-TEFb for transcription, cellular proliferation and apoptosis. *Oncogene* 2003; 22(36): 5707–5711.
- Wittmann BM, Fujinaga K, Deng H et al. The breast cell growth inhibitor, estrogen down regulated gene 1, modulates a novel functional interaction between estrogen receptor alpha and transcriptional elongation factor cyclin T1. *Oncogene* 2005; 24(36): 5576–5588.
- Zhu R, Lu X, Pradhan M et al. A kinase-independent activity of Cdk9 modulates glucocorticoid receptor-mediated gene induction. *Biochemistry* 2014; 53(11): 1753–1767. doi: 10.1021/bi5000178.
- Bartkowiak B, Liu P, Phatnani HP et al. CDK12 is a transcription elongation-associated CTD kinase, the metazoan ortholog of yeast Ctk1. *Genes Dev* 2010; 24(20): 2303–2316. doi: 10.1101/gad.1968210.

- Ko TK, Kelly E, Pines J. CrkRS: a novel conserved Cdc2-related protein kinase that colocalises with SC35 speckles. *J Cell Sci* 2001; 114(14): 2591–2603.
- Iorns E, Martens-de Kemp SR, Lord CJ et al. CRK7 modifies the MAPK pathway and influences the response to endocrine therapy. *Carcinogenesis* 2009; 30(10): 1696–1701. doi: 10.1093/carcin/bgp187.
- Hertel KJ, Graveley BR. RS domains contact the pre-mRNA throughout spliceosome assembly. *Trends Biochem Sci* 2005; 30(3): 115–118.
- Long JC, Caceres JF. The SR protein family of splicing factors: master regulators of gene expression. *Biochem J* 2009; 417(1): 15–27. doi: 10.1042/BJ20081501.
- Valcarcel J, Green MR. The SR protein family: pleiotropic functions in pre-mRNA splicing. *Trends Biochem Sci* 1996; 21(8): 296–301.
- Zarrinpar A, Bhattacharyya RP, Lim WA. The structure and function of proline recognition domains. *Sci STKE* 2003; 2003(179): RE8.
- Ball LJ, Kuhne R, Schneider-Mergener J et al. Recognition of proline-rich motifs by protein-protein interaction domains. *Angew Chem Int Ed Engl* 2005; 44(19): 2852–2869.
- Uhlen M, Oksvold P, Fagerberg L et al. Towards a knowledge-based Human Protein Atlas. *Nat Biotechnol* 2010; 28(12): 1248–1250. doi: 10.1038/nbt.1210-1248.
- Fuda NJ, Ardehali MB, Lis JT. Defining mechanisms that regulate RNA polymerase II transcription in vivo. *Nature* 2009; 461(7261): 186–192. doi: 10.1038/nature08449.
- Sims RJ 3rd, Belotserkovskaya R, Reinberg D. Elongation by RNA polymerase II: the short and long of it. *Genes Dev* 2004; 18(20): 2437–2468.
- Egloff S, Murphy S. Cracking the RNA polymerase II CTD code. *Trends Genet* 2008; 24(6): 280–288. doi: 10.1016/j.tig.2008.03.008.
- Phatnani HP, Greenleaf AL. Phosphorylation and functions of the RNA polymerase II CTD. *Genes Dev* 2006; 20(21): 2922–2936.
- Kohoutek J. P-TEFb: the final frontier. *Cell Div* 2009; 4: 19. doi: 10.1186/1747-1028-4-19.
- Peterlin BM, Price DH. Controlling the elongation phase of transcription with P-TEFb. *Mol Cell* 2006; 23(3): 297–305.
- Chao SH, Price DH. Flavopiridol inactivates P-TEFb and blocks most RNA polymerase II transcription in vivo. *J Biol Chem* 2001; 276(34): 31793–31799.
- Wang Q, Young TM, Mathews MB et al. Developmental regulators containing the I-mfa domain interact with T cyclins and Tat and modulate transcription. *J Mol Biol* 2007; 367(3): 630–646.
- Blazek D. The cyclin K/Cdk12 complex: an emerging new player in the maintenance of genome stability. *Cell Cycle* 2012; 11(6): 1049–1050. doi: 10.4161/cc.11.6.19678.
- Bai X, Trowbridge JJ, Riley E, et al. TIF1-gamma plays an essential role in murine hematopoiesis and regulates transcriptional elongation of erythroid genes. *Dev Biol* 2013; 373(2): 422–430. doi: 10.1016/j.jydbio.2012.10.008.
- Emanuel PD. Juvenile myelomonocytic leukemia and chronic myelomonocytic leukemia. *Leukemia* 2008; 22(7): 1335–1342. doi: 10.1038/leu.2008.162.
- Fort P, Rech J, Vie A et al. Regulation of c-fos gene expression in hamster fibroblasts: initiation and elongation of transcription and mRNA degradation. *Nucleic Acids Res* 1987; 15(14): 5657–5667.
- Krumm A, Meulia T, Brunsund M et al. The block to transcriptional elongation within the human c-myc gene is determined in the promoter-proximal region. *Genes Dev* 1992; 6(11): 2201–2213.
- Lin C, Smith ER, Takahashi H et al. AFF4, a component of the ELL/P-TEFb elongation complex and a shared subunit of MLL chimeras, can link transcription elongation to

leukemia. *Mol Cell* 2010; 37(3): 429–437. doi: 10.1016/j.molcel.2010.01.026.

42. Mohan M, Lin C, Guest E et al. Licensed to elongate: a molecular mechanism for MLL-based leukaemogenesis. *Nat Rev Cancer* 2010; 10(10): 721–728. doi: 10.1038/nrc2915.

43. Rougvie AE, Lis JT. The RNA polymerase II molecule at the 5' end of the uninduced hsp70 gene of *D. melanogaster* is transcriptionally engaged. *Cell* 1988; 54(6): 795–804.

44. Shilatifard A, Conaway RC, Conaway JW. The RNA polymerase II elongation complex. *Annu Rev Biochem* 2003; 72: 693–715.

45. Rahl PB, Lin CY, Seila AC et al. c-Myc regulates transcriptional pause release. *Cell* 2010; 141(3): 432–445. doi: 10.1016/j.cell.2010.03.030.

46. Joshi PM, Sutor SL, Huntoon CJ et al. Ovarian cancer-associated mutations disable catalytic activity of CDK12, a kinase that promotes homologous recombination repair and resistance to cisplatin and poly(ADP-ribose) polymerase inhibitors. *J Biol Chem* 2014; 289(13): 9247–9253. doi: 10.1074/jbc.M114.551143.

47. Zang ZJ, Ong CK, Cutcutache I et al. Genetic and structural variation in the gastric cancer kinome revealed through targeted deep sequencing. *Cancer Res* 2011; 71(1): 29–39. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-1749.

48. Nissim-Rafinia M, Kerem B. Splicing regulation as a potential genetic modifier. *Trends Genet* 2002; 18(3): 123–127.

49. Ledermann J, Harter P, Gourley C et al. Olaparib maintenance therapy in patients with platinum-sensitive relapsed serous ovarian cancer: a preplanned retrospective analysis of outcomes by BRCA status in a randomised phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2014; 15(8): 852–861. doi: 10.1016/S1470-2045(14)70228-1.

50. Silver DP, Richardson AL, Eklund AC et al. Efficacy of neoadjuvant Cisplatin in triple-negative breast cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28(7): 1145–1153. doi: 10.1200/JCO.2009.22.4725.

51. Svoboda M, Slabý O, Foretová L. Molekulární genetika a individualizovaný přístup v onkologii. In: Foretová L, Svoboda M, Slabý O (eds). *Molekulární genetika v onkologii*. 1. vyd. Mladá fronta. In press 2014.

INFORMACE Z ČESKÉ ONKOLOGICKÉ SPOLEČNOSTI

Informace z České onkologické společnosti

Zápis ze schůze výboru České onkologické společnosti konané dne 16. 9. 2014 v Pardubicích naleznete na www.linkos.cz.

Prognostické markery pokročilého nemalobunkového karcinómu pľúc – hodnotenie významu onkomarkerov pomocou data-miningovej metódy RPA

Prognostic Markers of Advanced Non-small Cell Lung Carcinoma – Assessing the Significance of Oncomarkers Using Data-mining Techniques RPA

Cingelová S.¹, Labudová V.², Berkešová D.³, Dienerová M.⁴, Dammak A.⁴, Grmanová E.⁴, Nádaská O.⁴, Vasilenková I.⁴, Najšelová E.⁴, Skarbová V.⁴, Migašová M.⁴, Viktorínová Z.⁴, Jurga Ľ.⁴

¹ II. onkologická klinika LF UK a NOÚ, Bratislava, Slovensko

² Fakulta hospodárskej informatiky, Ekonomická univerzita, Bratislava, Slovensko

³ AnalytX s.r.o., Trnava, Slovensko

⁴ Onkologická klinika FN Trnava, Slovensko

Súhrn

Úvod: Pri dizajnovaní klinických štúdií môže pomôcť identifikácia nových prognostických faktorov prežívania. V prípade diagnózy pokročilého nemalobunkového karcinómu pľúc môžu byť vhodnými kandidátmi onkomarkery CYFRA 21-1, CEA alebo NSE [1–8]. Súvislosť ich expresie s prognózou umožňuje hodnotiť aj dataminingová metóda rekurzívneho delenia a zlučovania skupín. **Metódy:** Analyzovali sme údaje 162 pacientov Onkologickej kliniky FN Trnava. Všetci títo pacienti boli prijatí v rokoch 2008–2012 na podávanie prvej línie chemoterapie podľa platných odporúčaní. Hodnotili sme vplyv známych predliečebných prognostických markerov – výkonnostného stavu, úbytku hmotnosti, fajčenia, veku, pohlavia, štádia, histologického subtypu, komorbidít a onkomarkerov CYFRA 21-1, CEA alebo NSE, ako aj kombinácií týchto faktorov, na prežívanie. **Výsledky:** Výsledkom našej analýzy sú tri podskupiny pacientov s dobrou, strednou a nepriaznivou prognózou. Onkomarkery mali významnú úlohu pri utvorení podskupiny 49 pacientov s dobrou prognózou – sem patrili pacienti bez úbytku hmotnosti pred začatím liečby a nízkymi hladinami onkomarkerov CEA ($\leq 4,1$ ng/ml) alebo NSE ($\leq 11,1$ ng/ml). V tejto podskupine bol medián prežívania najmenej 16 mesiacov (nebol dosiahnutý) a rozdiel prežívania v porovnaní so zvyškom súboru bol vysoko štatisticky signifikantný (pomer rizík 5,21, 95% CI 1,41–19,28; $p < 0,0001$). **Záver:** V našom súbore sme preukázali prognostický význam nízkych hladín NSE a CEA v skupine pacientov bez úbytku hmotnosti v predchorobí. Rekurzívne delenie a spájanie skupín predstavuje užitočnú dataminingovú metódu; takto vygenerovanú hypotézu je však potrebné potvrdiť ďalšou klinickou štúdiou dizajnovanou na tento účel.

Kľúčové slová

nemalobunkový karcinóm pľúc – onkomarkery – data mining – regresný strom – neurón-špeci-
fická enoláza (NSE) – karcinoembryonálny antigén (CEA)

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. Silvia Cingelová, Ph.D.

II. onkologická klinika LF UK a NOÚ
Klenová 1
833 10 Bratislava
Slovensko
e-mail: silvia.cingelova@nou.sk

Obdrženo/Submitted: 19. 3. 2014

Přijato/Accepted: 25. 9. 2014

<http://dx.doi.org/10.14735/amko2014347>

Summary

Introduction: Identification of new prognostic factors can help in designing future clinical studies. In the case of advanced non-small cell lung cancer, there might be good candidates – tumor markers CYFRA 21-1, CEA or NSE [1–8]. It is possible to evaluate the relationship between their expression and prognosis by data mining technique recursive partitioning and amalgamation. **Patients and Methods:** We analyzed retrospective data of 162 patients of Oncology clinics in Trnava. All of these patients were admitted between 2008 and 2012 for the administration of first-line chemotherapy according to current recommendations. We evaluated the impact of known pretreatment prognostic markers – performance status, weight loss, smoking, age, sex, stage, histologic subtype, comorbidity and oncomarkers CYFRA 21-1, CEA or NSE, as well as combinations of these factors on survival. **Results:** Our analyses showed that there are three subgroups of patients with good, intermediate and unfavorable prognosis. Oncomarkers played an important role in formation of a subgroup of 49 patients with good prognosis – including patients with no pretreatment weight loss and low levels of CEA (≤ 4.1 ng/ml) or NSE (≤ 11.1 ng/ml). In this subgroup, the median survival time was at least 16 months (not achieved) and the difference in survival compared to the rest of the group was highly statistically significant (risk ratio 5.21, 95% CI 1.41–19.28; $p < 0.0001$). **Conclusion:** We showed the prognostic significance of low levels of NSE and CEA oncomarkers in the group of patients with no pretreatment weight loss. Recursive partitioning and amalgamation is a useful data mining method, but the generated hypothesis needs to be confirmed by further clinical study designed for this purpose.

Key words

non-small cell lung cancer – oncomarkers – data mining – regression tree – neuron-specific enolase (NSE) – carcinoembryonal antigen (CEA)

Úvod

V liečbe pokročilého nemalobunkového karcinómu pľúc (non-small cell lung cancer – NSCLC) dochádza k zásadným zmenám z pohľadu vývoja nových liekov, ale aj vo výbere pacientov, ktorým je táto liečba určená. Pacienti s pokročilým NSCLC netvoria homogénnu skupinu – existujú niektoré kritériá, podľa ktorých ich možno rozdeliť na podskupiny vzhľadom na prognózu. Štandardnými prognostickými faktormi sú štádium ochorenia, histologický typ, výkonnostný stav, mužské pohlavie, fajčenie, úbytok hmotnosti a pridružené ochorenia (prezentované napr. ako index komorbidít, atď.). K prognostickým faktorom možno zaradiť aj anémiu, hladinu enzýmu laktát dehydrogenázy (LDH) v krvi, leukocytózu a iné. Vek (okrem extrémnych hodnôt) nie je považovaný za nezávislý prognostický faktor [1].

Význam niektorých nádorových markerov – onkomarkerov (neurón-sPECIFICÁ enoláza – NSE, karcinoembryonálny antigén – CEA a cytokeratínový fragment 21-1 – CYFRA 21-1) – pri stanovení prognózy pacientov s NSCLC sa overoval vo viacerých štúdiách [1–8] pomocou Coxovho regresného modelu, pričom autori Barlési et al [7] poukázali na vplyv kombinácie týchto troch markerov na prežívanie. Autori Maeda et al [8] okrem spomínaného Coxovho modelu využili aj metódu rekurzívne delenie a spájanie skupín (recursive partitioning and amalgamation – RPA; t.j. vytvorenie stromov

prežívania rekurzívnym delením a následného spájania skupín s podobnou prognózou), pri ktorej sa marker NSE ukázal ako najvýznamnejší prognostický faktor, pacienti s NSE viac ako 10 ng/ml mali významne horšiu prognózu ako pacienti s NSE $\leq 10,0$ ng/ml. Štandardne sa elevácia NSE v sére popisuje pri malobunkových karcinómoch pľúc, elevácia CYFRA 21-1 pri málo a stredne diferencovaných epidermoidných karcinómoch pľúc, v menšej miere pri adenokarcinómoch pľúc a zvýšená hladina CEA najmä pri adenokarcinómoch pľúc. Autori štúdií [2,4,7] však poukázali na zvýšenie hladín uvedených markerov pri všetkých histologických subtypoch, pričom tieto výsledky pripisovali nižšej diferenciácii nádoru, ktorá nemusí byť vždy zachytená pri histologickom vyšetrení.

Informácie o prognostických faktoroch a prognóze jednotlivých skupín pacientov možno využiť napr. pri testovaní nových terapeutických postupov – pri randomizovaných klinických štúdiách. Obvykle sa pri pokročilých NSCLC randomizuje s ohľadom na štádium ochorenia, výkonnostný stav a pohlavie, prípadne niektoré ďalšie parametre (prítomnosť mozgových metastáz, investigatívne centrum, atď.). Vzhľadom na povahu randomizácie je možné pri tomto procese použiť len najvýznamnejšie prognostické faktory a onkomarkery zatiaľ medzi ne nepatria.

Intenzívne sa pátra po ďalších prognostických faktoroch, ktoré môžu byť

detegované v samotnom nádore, v teľových tekutinách alebo periférnej krvi chorých. V odbornej literatúre narastá počet publikácií, v ktorých autori hľadajú nové prognostické alebo prediktívne faktory aj pomocou metód exploratívnej analýzy.

Strom prežívania generovaný metódou RPA (autori Ciampi et al [9] a LeBlanc a Crowley [10]) je typ multivariačnej exploratívnej analýzy. Rozdelí súbor údajov na prognostické skupiny definované kombináciou prognostických faktorov. Ide o komplementárny nástroj ku klasickým metódami analýzy prežívania (Kaplan-Meierova krivka, log-rank test rozdielu v celkovom prežívaní a Coxov regresný model).

Špecializovaným data-miningovým postupom sa generuje grafová štruktúra vo forme rozhodovacieho stromu, obsahujúca vetvy, nelistové a listové uzly. Koncový uzol, ktorý sa už ďalej nedelí, sa nazýva listový. Ak je výstupná premenná spojitá, každý uzol reprezentuje odhadnutú hodnotu výstupnej premennej. Je veľa metód výberu najlepšieho rozdelenia v uzle (split) [11]. V našej práci sme použili log-rank test. Pri delení uzla sa najprv vypočíta log-rank štatistika pre všetky potenciálne deliace premenné a parameter s najvyššou hodnotou log-rank štatistiky sa vyberie ako deliaci.

Výhodou je, že na rozdiel od Kaplan-Meierovej analýzy a Coxovho regresného modelu počíta regresný strom aj s chýbajúcimi hodnotami.

Pri metóde **rekurzívneho delenia a spájania skupín** (RPA) najskôr vznikne rekurzívnym delením štruktúra stromu a potom sa spoja listové uzly, medzi ktorými nie je štatisticky významný rozdiel v prežívaní, do skupín [12]. Cieľom predkladanej práce je stanoviť v našom súbore vzťah dostupných prognostických faktorov a prežívania pomocou univariačnej analýzy, určiť nezávislé prediktory prežívania pomocou Coxovho regresného modelu a definovať prognostické skupiny pacientov s podobným prežívaním metódou RPA.

Metódy

Charakteristika súboru

V retrospektívnej analýze sme hodnotili lekárske záznamy 162 pacientov s inoperabilným NSCLC, ktorí boli liečení 1. líniou indukčnej chemoterapie na Onkologickej klinike a onkologických ambulanciách FN Trnava v období od októbra 2008 do septembra 2012 a sledovaní do mája 2013. Z uvedených 162 pacientov malo v 1. línii indukčnej chemoterapie 83 pacientov gemcitabín, 59 pacientov vinorelbín, 11 pacientov paklitaxel a 9 pacientov pemetrexed. Okrem toho malo 146 (90,12 %) pacientov aj derivát platiny a 18 pacientov bevacizumab. Šesťdesiatosem pacientov dostávalo aj 2. líniu chemoterapie – 26 pacientov erlotinib, 23 pacientov docetaxel, šesť pacientov pemetrexed, päť pacientov vinorelbín, päť pacientov paklitaxel a traja pacienti gemcitabín. Dvadsaťtri pacientov absolvovalo 3. líniu – 11 pacientov erlotinib, päť pacientov docetaxel, štyria pacienti vinorelbín, dvaja pacienti gemcitabín a jeden pacient paklitaxel. Štyridsaťdeväť z celkového počtu pacientov absolvovalo aj rádioterapiu na oblasť primárneho tumoru a len dvaja z nášho súboru boli operovaní (obaja štádium IIIA).

Do analýzy sme zaradili prognostické faktory dostupné z lekárskeho záznamu: vek, pohlavie, fajčenie, úbytok hmotnosti, cukrovka, prítomnosť pridruženého ochorenia ako Charlson comorbidity score, histologický typ, štádium ochorenia a výkonnostný stav. Vzhľadom na povahu metódy stromu prežívania a jej softvérovej podpory sme prognostické faktory dichotomizovali. Premennú pohlavie sme kódovali ako

0 = ženy, 1 = muži. Klinické štádium ochorenia sme najskôr kódovali na základe TNM klasifikácie podľa Goldstrawa [13]. Klinické štádiá sme vzhľadom na početnosť kategórií zoskupili ako 0 = štádiá I–IIIB, 1 = štádium IV). Pacienti pôvodne štádiovani podľa TNM klasifikácie platnej pred rokom 2009 (spolu 52) mali spätne stanovené štádium podľa novej TNM klasifikácie, pričom len u dvoch z nich sa týmto zmenila skupina „0“ na skupinu „1“. Výkonnostný stav (performance status – PS) pacienta sme kódovali podľa kritérií Eastern Cooperative Oncology Group [14] a zoskupili sme ho klasickým prístupom podľa [15], (0 = výkonnostný stav 0 alebo 1, 1 = výkonnostný stav 2 a iné). Histologický typ nádoru sme vzhľadom na početnosť kategórií kódovali: epidermoidný typ ako 0 a ostatné ako 1. U 36 pacientov bol subtyp stanovený cytologicky a u štyroch pacientov spôsob stanovenia nebol v záznamoch. U 16 pacientov nebol subtyp nádoru jednoznačný (najčastejšie z dôvodu malého množstva materiálu alebo aj nižšej diferenciácie), podľa záveru nášho patológa boli títo zaradení ako pravdepodobný adenokarcinóm do skupiny 1, alebo pravdepodobný epidermoidný karcinóm do skupiny 0. Prítomnosť fajčenia alebo úbytku hmotnosti sme kódovali ako 1, neprítomnosť ako 0; Charlson comorbidity score ≤ 8 ako 0, ostatné 1. Sledovanými onkomarkermi boli neurón-špecifická enoláza NSE, karcinoembryonálny antigén CEA a cytokeratínový fragment 21-1 CYFRA 21-1. Keďže sa v literatúre hraničné hodnoty týchto onkomarkerov ako prognostických faktorov NSCLC značne líšia (napr. pre NSE je to rozpätie 10,0–21,4), rozhodli sme sa ich nekategorizovať. Nami zistené hraničné hodnoty vzhľadom na prognózu sa totiž môžu líšiť od laboratóriom stanovených fyziologických hodnôt, pretože tieto neboli stanovované za účelom určovania prognózy NSCLC.

Štatistické metódy

V univariačnej analýze sme hodnotili vplyv jednotlivých prognostických faktorov na prežívanie pomocou chí-kvadrát testu alebo Fisherovho exaktného testu. Na vyhodnotenie vplyvu jednotlivých onkomarkerov sme použili univariačný Coxov regresný model. Vplyv

všetkých faktorov na prežívanie bol hodnotený pomocou multivariačnej analýzy Coxovým regresným modelom. Chýbajúce hodnoty onkomarkerov boli vynechané z analýzy. Prežívanie sme definovali ako čas od dátumu začiatku liečby pacienta po dátum úmrtia z akejkoľvek príčiny, alebo dátum cenzovania. Distribúciu hodnôt onkomarkerov vzhľadom na histológiu sme hodnotili pomocou Mann-Whitney U-testu. Všetky p-hodnoty sme považovali za štatisticky významné, ak boli menšie ako 0,05.

Na definovanie prognostických podskupín s podobným prežívaním sme použili metódu stromov prežívania, popísanú v publikácii autorov Zhang et al [16]. Uzly boli rozdeľované na základe maximalizácie log-rank štatistiky. Strom bol orezaný softvérom podľa kritéria zložitosti a následne bol orezaný empiricky. Pri zohľadnení mnohonásobného porovnávania a interpretovateľnosti výsledkov bola ponechaná najväčšia p-hodnota rozdelenia 0,005. Následne sme spojili skupiny (listové uzly) s podobným prežívaním, pričom prežívanie v rámci spájaných skupín sa štatisticky významne nelíšilo na základe hodnôt log-rank testu a vznikli tak tri prognostické skupiny s vysokým, stredným a nízkym rizikom. Na spracovanie údajov sme použili softvér MS Excel 2007, Statgraphics CENTURION XV (chí-kvadrát test, Fisherov exaktný test, Kaplan-Meierov odhad funkcie prežívania, log-rank test a Coxov regresný model) a softvér STREE pre Windows (konštrukcia stromu prežívania).

Výsledky

Charakteristika nášho súboru je popísaná v tab. 1. Ide o súbor pacientov s pokročilým NSCLC, iniciálne v priemere s veľmi zlou prognózou, kde viac ako 80 % pacientov malo štádium IV, približne polovica pacientov s významnou komorbiditou, a asi 50 % výkonnostný stav 2 a viac a 50 % pacientov zaznamenalo úbytok hmotnosti v predchorobí. Hodnoty onkomarkerov v našom súbore sa nachádzajú tab. 2, chýbajúce hodnoty onkomarkerov boli z analýzy vynechané.

Celkový medián prežívania v našom súbore bol 8 mesiacov, čo je približne očakávaná hodnota pri tomto type ná-

Tab. 1. Charakteristika súboru – klasické prognostické markery.

Prognostický faktor	Kód	Popis	Počet
cenzovanie	0	udalosť	119 (73,46 %)
	1	cenz.	43 (26,54 %)
vek	0	≤ 65	60 (37,04 %)
	1	> 65	102 (62,96 %)
pohlavie	0	žena	33 (20,37 %)
	1	muž	129 (79,63 %)
fajčiar	0	nie	44 (27,15 %)
	1	áno	118 (72,84 %)
úbytok hmot.	0	nie	85 (52,47 %)
	1	áno	77 (47,53 %)
CCS	0	≤ 8	82 (50,62 %)
	1	> 8	80 (49,38 %)
histol. typ	0	epider.	101 (62,35 %)
	1	adeno	58 (35,80 %)
		veľkobun.	3 (1,85 %)
štádium	0	III	31 (19,14 %)
	1	IV	133 (80,86 %)
výkonn. stav	0	0–1	73 (45,06 %)
	1	≥ 2, chýba	89 (54,94 %)

Tab. 4. Distribúcia jednotlivých onkomarkerov v našom súbore vzhľadom na histologický subtyp, chýbajúce hodnoty boli z analýzy vynechané, *štatisticky významné hodnoty $p \leq 0,05$.

Onko-marker	Epidermoidný typ		Adenokarcinóm	
	priemer, min.–max.	počet	priemer, min.–max.	počet
CYFRA 21-1	16,12 (0,5–161)	64	17,17 (1,8–344)	32
NSE	14,46 (1,7–31)	56	25,13 (2,9–160,4)	26
CEA*	5,98 (0,5–98)	67	20,38 (0,5–100)	33

dorového ochorenia. V univariačnej analýze (tab. 3) sme hodnotili vplyv klasických prognostických faktorov na prežívanie. Štatisticky významný vplyv mali najmä úbytok hmotnosti pred liečbou, výkonnostný stav a štádium ochorenia.

V multivariačnej analýze sa vplyv na prognózu potvrdil len pri úbytku hmotnosti ($p = 0,0002$) a výkonnostnom stave ($p = 0,0485$). Distribúcia onkomarkerov vzhľadom na subtyp nádoru je popísaná v tab. 4. Vidíme, že pacienti s adenokarcinómom mali hodnoty CEA podstatne vyššie ako pacienti s epidermoidným karcinómom ($p = 0,01$). CYFRA 21-1 a NSE mali pacienti zvýšené bez ohľadu na histologický subtyp.

Tab. 2. Charakteristika súboru – onkomarkery.

Onkomarker	Priemer, 95% CI	Počet
CYFRA 21-1	16,46 (8,10–24,81)	144
NSE	17,84 (13,03–22,66)	125
CEA	10,73 (6,45–15,02)	134

Tab. 3. Vplyv jednotlivých prognostických faktorov na prežívanie.

Prognostický faktor	Pomer rizík (HR, 95% CI)	Univariačná analýza, p-hodnota
pohlavie	1,41 (0,89–2,23)	$p = 0,13$
vek	1,02 (1,00–1,04)	$p = 0,16$
fajčiar	1,41 (0,93–2,15)	$p = 0,11$
úbytok hmot.	2,40 (1,62–3,55)	$p = 0,000003^*$
CCS (≤ 8 vs > 8)	1,03 (0,71–1,49)	$p = 0,88$
histol. typ	0,93 (0,64–1,35)	$p = 0,72$
štádium	2,01 (1,18–3,41)	$p = 0,005^*$
výkonn. stav	2,20 (1,51–3,21)	$p = 0,00001^*$
CEA	1,00 (–0,01–1,01)	$p = 0,63$
NSE	1,00 (0,99–1,01)	$p = 0,94$
CYFRA 21-1	1,00 (1,00–1,01)	$p = 0,72$

univariačná analýza, log-rank test

*štatisticky významné hodnoty $p \leq 0,05$

CCS – Charlson comorbidity score

hraničná hodnota 8 je mediánom súboru

renia. V multivariačnej analýze sa vplyv na prognózu potvrdil len pri úbytku hmotnosti ($p = 0,0002$) a výkonnostnom stave ($p = 0,0485$). Distribúcia onkomarkerov vzhľadom na subtyp nádoru je popísaná v tab. 4. Vidíme, že pacienti s adenokarcinómom mali hodnoty CEA podstatne vyššie ako pacienti s epidermoidným karcinómom ($p = 0,01$). CYFRA 21-1 a NSE mali pacienti zvýšené bez ohľadu na histologický subtyp.

Strom prežívania (schéma 1) má deväť uzlov. Zlúčením piatich listových uzlov na základe podobného mediánu prežívania, použiteľnosti a interpretovateľnosti výsledkov, vznikli prognostické skupiny č. I, II a III (s dobrou, intermediárnou a nepriaznivou prognózou). Rozdiel v prežívaní medzi nimi bol vysoko štatisticky významný (risk ratio 5,2058, 95% CI 1,4055–19,2820, $\chi^2 = 55,9$, $p = 7,4 \times 10^{-13}$). Priebeh ich kriviek prežívania je na grafe 1. V prognostickej skupine I je 49 pacientov bez úbytku hmotnosti a zároveň s nízkou hodnotou onkomarkerov NSE ≤ 11,1 alebo CEA ≤ 4,1, medián prežívania v tejto skupine nebol dosiahnutý, medián sledovania bol 16 mesiacov. V skupine pätnástich pacientov s nízkou hodnotou onkomarkeru NSE bol

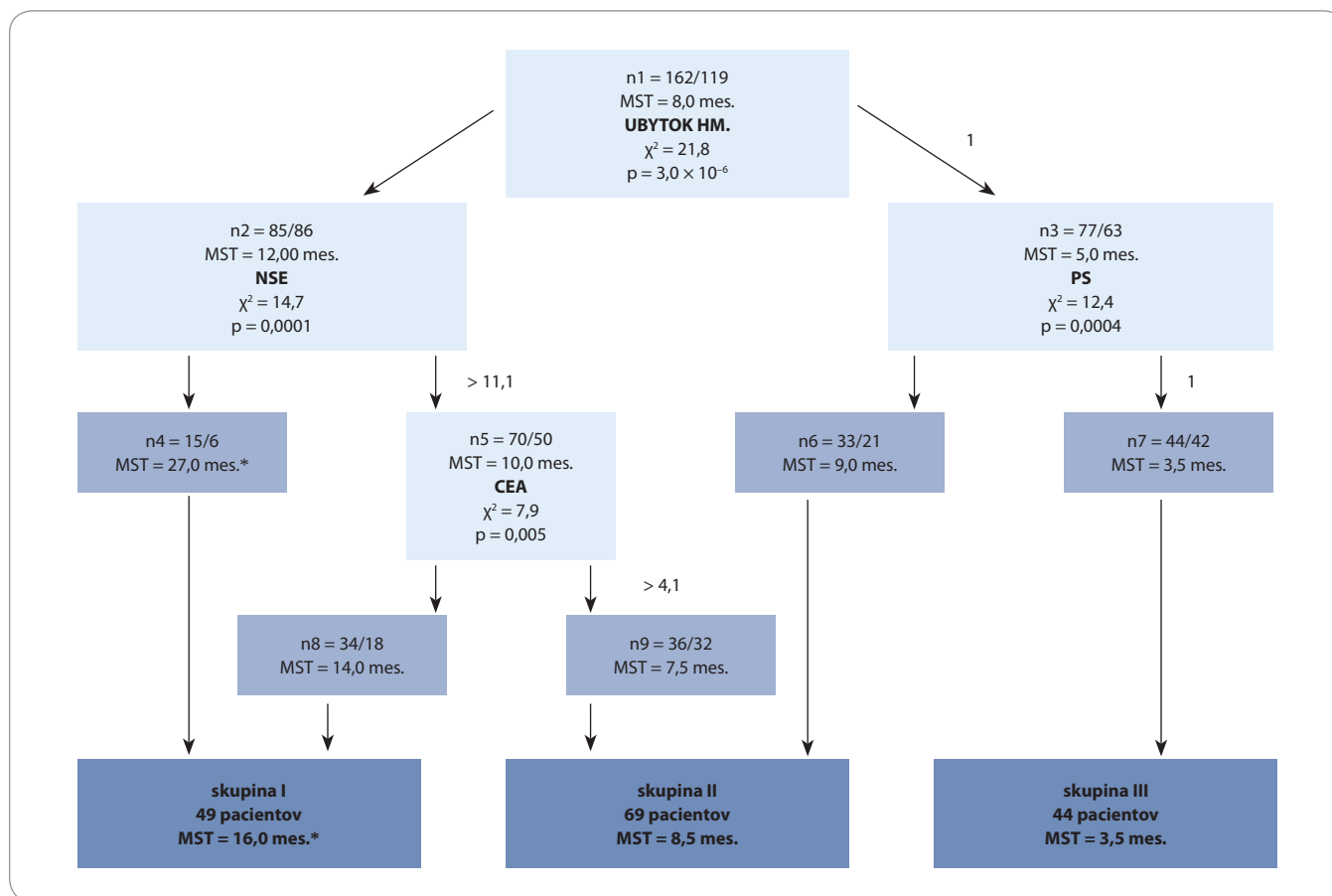


Schéma 1. Výsledný strom prežívania.

Dopočítané hodnoty log-rank štatistiky a návrh spájania skupín (prognostická skupina I (uzly 4 + 8), II (uzly 9 + 6) a III (uzol 7)).

n – počet subjektov v uzle/počet udalostí, MST – medián prežívania, *median survival time*. Pri údajoch označených * nebol medián prežívania dosiahnutý, preto bol nahradený mediánom sledovania. NSE, CEA, PS, UBYTOK HM. – názov deliacej premennej. χ^2 hodnota log-rank štatistiky pri rozdelení uzla, p – zodpovedajúca p-hodnota

medián prežívania minimálne 27 mesiacov ($\chi^2 = 59,7$, $p = 6,7 \times 10^{-13}$). Naopak v prognostickej skupine III sa nachádza 44 pacientov s mediánom prežívania len 3,5 mesiacov; išlo o pacientov s nepriaznivým výkonnostným stavom a zároveň úbytkom hmotnosti. Ostatných 69 pacientov tvorilo početnú prognostickú skupinu so stredným rizikom – s úbytkom hmotnosti, pri dobrom výkonnostnom stave alebo bez úbytku hmotnosti a súčasne tiež s vyššou hodnotou NSE $>11,1$ alebo CEA $>4,1$.

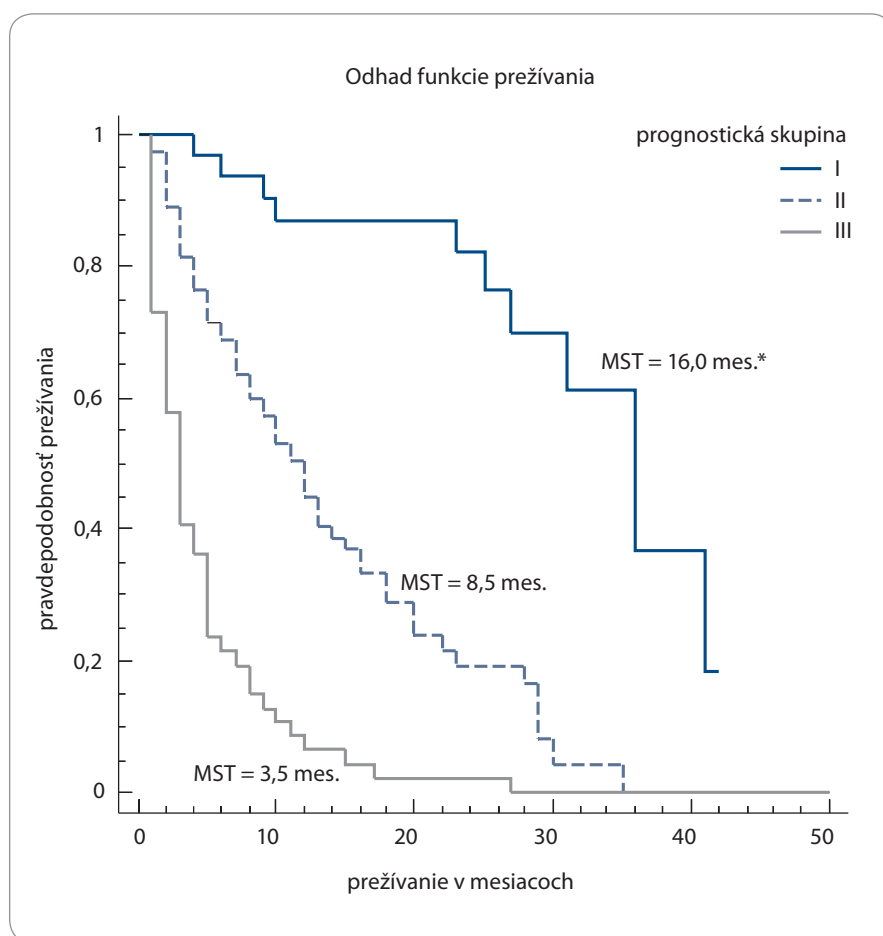
Diskusia

Význam onkomarkerov neurón-špecifická enoláza NSE, karcinoembryonálny antigén CEA a cytokeratínový fragment 21-1 CYFRA 21-1 pri stanovení prognózy pacientov s NSCLC bol dokázaný vo viacerých štúdiách [1–8]. CEA je marke-

rom voľby pri sledovaní efektivity liečby a v prognóze adenokarcinómu pľúc, ale jeho zvýšenie je však možné pozorovať aj pri ostatných subtypoch NSCLC [6]. Naopak, typický onkomarker spinocelulárneho karcinómu pľúc CYFRA 21-1 môže byť zvýšený aj pri adenokarcinómoch. NSE je známym diferenciálnym onkomarkerom malobunkového karcinómu pľúc, no časť pacientov s NSCLC (11,7–28 %) má NSE tiež zvýšené [4]. Expresia NSE je nepriaznivým prognostickým znakom, pretože NSCLC s neuroendokrinnou diferenciáciou (i keď nie vždy zachytenou histologickým vyšetrením) sú agresívnejšie. Využitie onkomarkerov u pacientov s NSCLC je predmetom mnohých diskusií. V dostupnej literatúre prevláda názor, že hladiny onkomarkerov pred liečbou môžu popri klasických prognostických markeroch

tiež významne prispieť k stanoveniu prognózy.

Náš model stromu prežívania vybral z uvedenej trojice onkomarkerov dva – NSE a CEA, ktoré pomohli vyčleniť skupinu pacientov s prognózou výrazne lepšou, ako býva zvyčajne pri tomto type nádorov. Pričom ani u jedného z nich nebola preukázaná štatisticky významná súvislosť s prežívaním ani v univariačnej analýze ani v klasickej Coxovej regresnej analýze. Zrejme príčinou môže byť ošetrovanie chýbajúcich hodnôt regresným stromom, ako aj výraznejší súvis onkomarkerov s prežívaním u prognosticky dobrých pacientov (bez úbytku hmotnosti). Ak majú onkomarkery významný vplyv na prežívanie nezávisle od ostatných prognostických faktorov, bolo by vhodné tento fakt zakomponovať do dizajnu budúcich klinických štú-



Graf 1. Porovnanie prežívania výsledných troch prognostických skupín.

MST – median survival time, medián prežívania

*MST nebol dosiahnutý, bol nahradený mediánom sledovania

dií. Naše výsledky by mali byť potvrdené v rozsiahlejšej štúdií s vyšším počtom pacientov, vedenej prospektívne, s dlhším sledovaním. Tiež zatiaľ nie je jasné, aké deliace (cut-off) hodnoty by sa mali použiť v prípade kategorizácie hodnôt onkomarkerov, keďže údaje v literatúre sa rôznia a odlišujú sa aj od u nás platných fyziologických hodnôt ($\text{NSE} \leq 16,3$, $\text{CEA} \leq 2,5$ a $\text{CYFRA 21-1} \leq 3,3$). Deliaci hodnota je kľúčová pre praktickú použiteľnosť onkomarkerov.

Záver

Výsledkom našej analýzy sú tri podskupiny pacientov s dobrou, strednou a ne-

priaznivou prognózou. Onkomarkery hrali významnú úlohu vo formovaní skupiny pacientov s dobrou prognózou – bez úbytku hmotnosti a nízkymi hladinami CEA a NSE. Medián prežívania bol v tejto skupine najmenej 16 mesiacov (nebol dosiahnutý) a výsledok bol vysoko štatisticky významný ($\chi^2 = 55,9$, $p = 7,4 \times 10^{-13}$). Prognostické skupiny sú definované kombináciou prognostických faktorov (na rozdiel od bežne používanej Coxovej regresnej analýzy). V dizajne budúcich klinických štúdií by sa prípadne mohlo uvažovať s takouto alternatívou randomizácie alebo analýzy podskupín. Napriek nesporným vý-

hodám metódy RPA, jej výsledky by mali byť ešte potvrdené prospektívnou rozsiahlejšou štúdiou.

Podakovanie

Ďakujeme doc. MUDr. Michalovi Megovi, PhD., a kolektívu Onkologickej kliniky FN Trnava.

Literatúra

- Molina R, Filella X, Augé JM et al. Tumor markers (CEA, CA 125, CYFRA 21-1, SCC and NSE) in patients with non-small cell lung cancer as an aid in histological diagnosis and prognosis. Comparison with the main clinical and pathological prognostic factors. *Tumour Biol* 2003; 24(4): 209–218.
- Pujol JL, Boher JM, Grenier J et al. Cyfra 21-1, neuron specific enolase and prognosis of non-small cell lung cancer: prospective study in 621 patients. *Lung Cancer* 2001; 31(2–3): 221–231.
- van Zandwijk N, Mooi WJ, Rodenhuis S. Prognostic factors in NSCLC. Recent experiences. *Lung Cancer* 1995; 12 (Suppl 1): S27–S33.
- Kulpa J, Wójcik E, Reinfuss M et al. Carcinoembryonic antigen, squamous cell carcinoma antigen, CYFRA 21-1, and neuron-specific enolase in squamous cell lung cancer patients. *Clin Chem* 2002; 48(11): 1931–1937.
- Ferrigno D, Buccheri G, Giordano C. Neuron-specific enolase is an effective tumour marker in non-small cell lung cancer (NSCLC). *Lung Cancer* 2003; 41(3): 311–320.
- Pujol JL, Molinier O, Ebert W et al. CYFRA 21-1 is a prognostic determinant in non-small-cell lung cancer: results of a meta-analysis in 2063 patients. *Br J Cancer* 2004; 90(11): 2097–2105.
- Barlési F, Gimenez C, Torre JP et al. Prognostic value of combination of Cyfra 21-1, CEA and NSE in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Respir Med* 2004; 98(4): 357–362.
- Maeda T, Ueoka H, Tabata M et al. Prognostic factors in advanced non-small cell lung cancer: elevated serum levels of neuron specific enolase indicate poor prognosis. *Jpn J Clin Oncol* 2000; 30(12): 534–541.
- Ciampi A, Hogg SA, McKinney S et al. A computer program for recursive partition and amalgamation for censored survival data. *Comput Methods Programs Biomed* 1988; 26(3): 239–256.
- LeBlanc M, Crowley J. Relative risk trees for censored survival data. *Biometrics* 1992; 48(2): 411–425.
- Terek M, Horníková A, Labudová V. Hĺbková analýza údajov. Bratislava: Iura Edition 2010: 265.
- Ciampi A, Lawless JF, McKinney SM et al. Regression and recursive partition strategies in the analysis of medical survival data. *J Clin Epidemiol* 1988; 41(8): 737–748.
- Goldstraw P. IASLC Staging Manual in Thoracic oncology. USA: IASLC publication, Editorial ExPress 2009: 157.
- Oken MM, Creech RH, Tormey DC et al. Toxicity and response criteria of the eastern cooperative oncology group. *Am J Clin Oncol* 1982; 5(6): 649–655.
- Jacot W, Colinet B, Bertrand D et al. Quality of life and comorbidity score as prognostic determinants in NSCLC patients. *Ann Oncol* 2008; 19(8): 1458–1464.
- Zhang HP, Singer B. Recursive partitioning in the health sciences. New York: Springer 1999: 223.

Spokojenost onkologických pacientek s okamžitou dvoudobou aloplastickou rekonstrukcí prsu

Breast Cancer Patient Satisfaction with Immediate Two-stage Implant-based Breast Reconstruction

Coufal O.^{1,2}, Gabrielová L.¹, Justan I.¹, Zapletal O.¹, Selingerová I.³, Kršička P.¹

¹ Oddělení chirurgické onkologie, Masarykův onkologický ústav, Brno

² Klinika komplexní onkologické péče, Masarykův onkologický ústav, Brno

³ Ústav matematiky a statistiky, Přírodovědecká fakulta MU, Brno

Souhrn

Východiska: Pacientkám po terapeutické mastektomii je rekonstrukce prsu v naší zemi dostupná zpravidla až s časovým odstupem, tzv. odloženě. V Masarykově onkologickém ústavu (MOÚ) v posledních letech systematicky nabízíme vhodným kandidátkám rekonstrukci okamžitou, tj. v bezprostřední návaznosti na mastektomii. Používáme dvoudobou aloplastickou metodu se založením tkáňového expandéru, který je později vyměněn za silikonový implantát. Cílem práce bylo vyhodnotit subjektivní spokojenost pacientek s výsledky tohoto typu rekonstrukce. **Soubor pacientů a metody:** Dvašedesát ženám operovaných v MOÚ v letech 2007–2013 byl zaslán jednoduchý dotazník vytvořený naší pracovní skupinou. Zpět jsme obdrželi 57 dotazníků. Výsledky byly zpracovány pomocí popisných charakteristik a statistických testů. **Výsledky:** Návratnost dotazníků byla 92 %. Naprostá většina pacientek (56/57) by znovu volila stejný postup. Velká většina pacientek (48/57) je s rekonstrukcí celkově spokojena. Většina žen pod 50 let věku s jednostrannou operací (8/14) by při novém rozhodování volila současnou druhostrannou profylaktickou mastektomii s oboustrannou rekonstrukcí. Po oboustranné operaci jsou rekonstruované prsy častěji vnímány jako součást vlastního těla. Ženy hodnotí svůj zevnějšek před zrcadlem výrazně lépe v oblečení, než pokud jsou vysvlečené. Ohledně pocitu ženství si samy před sebou připadají výborně nebo velmi dobře, v běžných životních situacích mezi lidmi je převládající pocit výborný. Významně horší pocity mívají při erotickém kontaktu s druhou osobou a téměř polovina žen udává občasnou bolest v oblasti rekonstruovaných prsou. Pacientky zdůrazňují důležitost dostatečné informovanosti před tímto výkonem. **Závěr:** Pro některé pacientky s karcinomem prsu je okamžitá aloplastická dvoudobá mamární rekonstrukce vhodnou volbou. Vzhledem k poněkud méně přirozenému kosmetickému výsledku této metody je třeba kandidátky pečlivě vybírat a předem jim poskytnout dostatek relevantních informací.

Klíčová slova

mastektomie – mamoplastika – tkáňová expanze – prsní implantáty – spokojenost pacientů – dotazníky – rekonstrukce prsu

Práce byla podpořena Evropským fondem pro regionální rozvoj a státním rozpočtem České republiky (OP VaVpl – RECAMO, CZ.1.05/2.1.00/03.0101) a MZ ČR – RVO (MOÚ, 00209805).

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 and MH CZ – DRO (MMCI, 00209805).

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. Oldřich Coufal, Ph.D.

Oddělení chirurgické onkologie
a Klinika komplexní onkologické péče
Masarykův onkologický ústav
Žlutý kopec 7
656 53 Brno
e-mail: oldrich.coufal@gmail.com

Obdrženo/Submitted: 10. 5. 2014

Přijato/Accepted: 9. 6. 2014

<http://dx.doi.org/10.14735/amko2014353>

Summary

Background: For most breast cancer patients in the Czech Republic, breast reconstruction is available only in a delayed manner. In the Masaryk Memorial Cancer Institute (MMCI), suitable candidates are offered immediate breast reconstruction using tissue expander with later exchange to a permanent silicone implant. The aim of this study was to assess patient satisfaction with this type of reconstruction. **Patients and Methods:** Sixty-two women who had undergone surgery at the MMCI from 2007 through 2013 were sent a simple questionnaire developed by our working team. Fifty-seven patients completed the questionnaire. The data were evaluated by description methods and statistical tests. **Results:** Patient response was 92%. The absolute majority of patients (56/57) would opt for this method again. The vast majority of patients (48/57) are generally satisfied with their reconstruction. Most women (8/14) younger than 50 years after the unilateral surgery would prefer synchronous contralateral prophylactic mastectomy and bilateral reconstruction if they could choose again. After bilateral surgery, reconstructed breasts are more often regarded as a part of the patient's body. Dressed women rate their look substantially better than when they are undressed. As for self-esteem, these women are feeling excellent or good. Their psychosocial well-being in common situations is predominantly excellent. Their sexual well-being is significantly worse, and almost half of these women indicate occasional pain in their reconstructed breasts. The patients emphasize the need for appropriate information before the surgery. **Conclusion:** Immediate two-stage implant-based breast reconstruction is a suitable option for some breast cancer patients. With regard to the less natural cosmetic result and feeling of the implant-reconstructed breast, appropriate selection of women for this type of surgery is necessary and potential candidates must be thoroughly informed in the preoperative setting.

Key words

mastectomy – mammaplasty – tissue expansion – breast implants – patient satisfaction – questionnaires – breast reconstruction

Východiska

I přes pokroky v systémové léčbě a radioterapii je přibližně u jedné třetiny pacientek s časným mamárním karcinomem nutné chirurgicky odstranit celý prs. Ztráta prsu nepochybně mnohé ženy traumatizuje. Jeho náhrada (mamární rekonstrukce) vede podle literárních pramenů k vyšší spokojenosti léčených se svým zevněškem i k celkově lepšímu bio-psycho-sociálnímu rozpoložení [1].

Prs lze nahradit buď použitím vlastní tkáně (autologně), nebo pomocí umělé, nejčastěji silikonové náhrady (aloplasticky), případně kombinací obou způsobů. Empiricky lze konstatovat, že autologní rekonstrukce břišním lalokem poskytuje nejpřirozenější a především trvalý kosmetický výsledek, kdežto prs nahrazený aloplasticky implantátem působí do jisté míry nepřirozeně a postupující tvorba vaziva kolem implantátu (kapsula) může vést ke zhoršování estetického výsledku v čase. Moderní mikrochirurgické lalokové plastiky představují značně náročný výkon pro operátora i pacientku, zatímco rekonstrukce implantátem je technicky jednodušší a pacientku zatěžuje nepoměrně méně.

Technická realizace mamární rekonstrukce spadá v ČR výhradně do kompetence plastických chirurgů, kteří však jen málokdy participují na primární chirurgické léčbě žen s mamárními karcinomy.

I z toho důvodu probíhá v naší zemi na prostá většina mamárních rekonstrukcí po terapeutických mastektomiích až s časovým odstupem, odloženě.

V Masarykově onkologickém ústavu (MOÚ) jsme v roce 2007 zahájili program tzv. okamžitých mamárních rekonstrukcí, kdy je proces náhrady prsu zahájen bezprostředně po mastektomii, v rámci jedné operace. Dle našich informací jsme jediným pracovním týmem v ČR, který je schopen svým pacientkám s karcinomem prsu okamžité rekonstrukce prsu po terapeutické mastektomii systematicky nabízet. Vzhledem k okolnostem disponujeme pouze tzv. dvoudobou aloplastickou metodou. Na mastektomii s případným zákrokem na mizních uzlinách realizovanou onkochirurgem bezprostředně navazuje plastický chirurg rekonstrukční fázi operace. Elevuje svaly hrudníku a do vytvořené svalové kapsy vkládá tkáňový expandér. S několikátýdenním odstupem následuje postupné ambulantní plnění expandéru tekutinou přes vestavěný port. Po dostatečné expanzi měkkých tkání trvající v typickém případě cca tři měsíce je expandér chirurgicky vyměněn za silikonový mamární implantát. Později může ambulantní formou následovat rekonstrukce areolo-mamilárního komplexu, který bývá většinou při terapeutické mastektomii odstraněn. Jde o etablovanou rekonstrukční metodu

podrobněji popsanou ve specializované literatuře [2], s jejímž výsledkem je, dle referencí, spokojena velká většina pacientek [3]. Přesto jsme v rámci zpětné vazby považovali za nezbytné zjistit konkrétní úroveň spokojenosti žen operovaných na našem pracovišti.

Soubor pacientů a metody

Z běžné zdravotnické dokumentace byly retrospektivně vyhledány všechny pacientky s karcinomem prsu (invazivním či preinvazivním), které absolvovaly totální mastektomii s okamžitou aloplastickou mamární rekonstrukcí v MOÚ v období let 2007–2013. Zahrnuli jsme pouze ženy s terapeutickou mastektomií (při oboustranné operaci terapeutický výkon alespoň na jedné straně) a pouze ty, které již měly dokončenou rekonstrukci tzv. prsního valu, tedy voperovaný definitivní silikonový implantát. Nebyly zahrnuty ženy po oboustranné mastektomii pouze z profylaktických důvodů. Hodnocený soubor pak tvořilo 62 žen ve věkovém rozmezí 24–70 let (průměr 44,7; medián 45,5). Časový odstup od zahájení rekonstrukce byl 1–7 let (průměr 3,0; medián 3). Podrobnější údaje o histopatologických typech nádorů a klinickém stadiu pacientek byly publikovány jinde [4] a nepovažujeme je v této souvislosti za podstatné.

Vyhledaným pacientkám jsme po předchozím telefonickém avízu jme-

Tab. 1. Znění dotazníku „Hodnocení výsledků mamárních rekonstrukcí“.

Otázka	Varianta A	Varianta B	Varianta C
1	Pokud bych se vrátila do minulosti a měla se znovu rozhodnout, tak: A. Současně s onkologickou operací bych zahájila rekonstrukci prsu tak, jak jsem to udělala (rozhodla bych se stejně). B. V době onkologické operace (odnětí prsu či prsů) bych prs (prsy) ponechala bez rekonstrukce a řešila bych to až s odstupem času nebo vůbec.		
2	Tehdy jsem se rozhodla pro odstranění pouze jednoho prsu. Kdybych se vrátila do minulosti a mohla se znovu rozhodnout, tak: A. Rozhodla bych se stejně, tzn. druhý (zdravý) prs bych ponechala bez zákroku. B. Nechala bych si odstranit (a případně rekonstruovat) současně i druhý prs.	Tehdy jsem se rozhodla současně odstranit a rekonstruovat i druhý (zdravý) prs. Kdybych se vrátila do minulosti a mohla se znovu rozhodnout, tak: A. Rozhodla bych se stejně, tzn. současně bych si nechala odstranit i druhý prs. B. Druhý (zdravý) prs bych si odstranit nenechala.	–
3	Následující otázky se zaměřují na Vaše vnímání rekonstruovaných prsů. Prosím, zakroužkujte u každé otázky vždy jen jednu z nabízených tří možností: • Vnímám rekonstruované prsy jako součást svého těla? ano/někdy/ne • Rekonstruované prsy jsou mi nepříjemné, vadí mi? ano/někdy/ne • Rekonstruované prsy mě omezují při tělesných aktivitách? ano/někdy/ne • Oblast rekonstruovaných prsů mě bolí? ano/někdy/ne		
4	Další otázky zjišťují, jak vidíte sama sebe. Hodnotí se jako známkami ve škole, tzn. 1 je nejlepší, 3 je průměr, 5 je nejhorší. Zakroužkujte, prosím, u každé otázky vždy jen jednu známku. • Jak vypadám před zrcadlem oblečená? 1 2 3 4 5 • Jak vypadám před zrcadlem vyslečená? 1 2 3 4 5		
5	Následující otázky se ptají na to, jak rekonstruované prsy přispívají k Vašemu vnitřnímu pocitu ženství. Prosím, porovnávejte svůj pocit se situací, kdybyste prs/y neměla rekonstruován/y. Opět hodnotte jako ve škole a zakroužkujte vždy jen jednu známku. Pokud nechcete odpovídat na třetí z uvedených otázek, nebo je tato otázka pro Vás bezpředmětná, tak ji můžete vynechat: • Jak si připadám sama před sebou? 1 2 3 4 5 • Jak si připadám v běžných životních situacích mezi lidmi? 1 2 3 4 5 • Jak si připadám v erotickém kontaktu s druhou osobou? 1 2 3 4 5		
6	Svou celkovou spokojenost s rekonstrukcí prsů bych ohodnotila známkou (opět jako ve škole, zakroužkujte jednu známku): 1 2 3 4 5		
7	Dále můžete volným textem vepsat své poznámky nebo komentáře:		

novitě zaslali poštou k vyplnění krátký, námi vytvořený dotazník „Hodnocení výsledků mamárních rekonstrukcí“. Otázky v dotazníku jsme zaměřili na oblasti, které považujeme z hlediska subjektivního hodnocení výsledku mamární rekonstrukce za relevantní. Použili jsme celkem tři varianty dotazníku cíleně pro následující podskupiny žen:

- **varianta A:** jednostranná mastektomie s jednostrannou rekonstrukcí (zasláno 25 ženám);
- **varianta B:** oboustranná mastektomie, kdy na jedné straně šlo o mastektomii terapeutickou a na druhé

straně – na žádost pacientky – o mastektomii profylaktickou; se současnou oboustrannou rekonstrukcí (zasláno 32 ženám);

- **varianta C:** oboustranná mastektomie z terapeutických důvodů (bilaterální karcinom) s oboustrannou rekonstrukcí (zasláno pěti ženám).

Většina otázek byla ve všech dotaznících stejná. Varianty A a B obsahovaly navíc otázku, zda by se pacientka při zpětném hodnocení rozhodla stejně ohledně výkonu na kontralaterálním prsu. Přesné znění dotazníku je uve-

děno v tab. 1. Obdržené odpovědi byly vloženy do databáze a vyhodnoceny pomocí popisných charakteristik. Statistická významnost rozdílu odpovědí u pacientek po jednostranné a po oboustranné operaci byla testována Fisherovým exaktním testem (otázky č. 1–3 v tab. 1) a Mannovým-Whitneyovým testem (otázky č. 4–6 v tab. 1). Statistická významnost rozdílu v sebehodnocení oblečených a vyslečených žen (otázka č. 4) a významnost rozdílu pocitu ženství v běžných životních situacích a v erotickém kontaktu (otázka č. 5) byly testovány Wilcoxonovým párovým

Tab. 2. Vnímání rekonstruovaných prsů. V buňkách je uveden počet žen, které odpověděly příslušným způsobem (ano/někdy/ne) na danou otázku.

Otázka	Ano	Někdy	Ne	Nevyplněno
Pacientky po jednostranné mastektomii s rekonstrukcí (n = 22)				
Vnímám rekonstruované prsy jako součást svého těla?	14	6	2	0
Rekonstruované prsy jsou mi nepříjemné, vadí mi?	0	8	13	1
Rekonstruované prsy mě omezují při tělesných aktivitách?	2	7	12	1
Oblast rekonstruovaných prsů mě bolí?	1	8	12	1
Pacientky po oboustranné mastektomii s rekonstrukcí (n = 35)				
Vnímám rekonstruované prsy jako součást svého těla?	30	3	1	1
Rekonstruované prsy jsou mi nepříjemné, vadí mi?	1	10	24	0
Rekonstruované prsy mě omezují při tělesných aktivitách?	1	15	19	0
Oblast rekonstruovaných prsů mě bolí?	2	19	14	0

Tab. 3. Subjektivní hodnocení zevnějšku. V buňkách je uveden počet žen, které se ohodnotily příslušnou známkou.

Známkování (jako ve škole)	1	2	3	4	5
Pacientky po jednostranné mastektomii s rekonstrukcí (n = 22)					
Jak vypadám před zrcadlem oblečená?	14	4	4	0	0
Jak vypadám před zrcadlem vysvlečená?	2	6	7	4	3
Pacientky po oboustranné mastektomii s rekonstrukcí (n = 35)					
Jak vypadám před zrcadlem oblečená?	29	4	2	0	0
Jak vypadám před zrcadlem vysvlečená?	5	12	10	7	1

testem. Studie byla schválena Etickou komisí MOÚ.

Výsledky

Návratnost dotazníků

Z rozeslaných 62 dotazníků jsme jich zpět obdrželi 57 (návratnost 92 %); početní zastoupení ve variantách A, B a C bylo 22, 30 a 5. Následující procentuální údaje budou vycházet pouze ze souboru pacientek, které zaslaly vyplněný dotazník zpět.

Rozhodnutí o rekonstrukci

Šestapadesát (98 %) pacientek uvedlo, že pokud by se vrátily do minulosti a znovu se měly rozhodnout, tak by se rozhodly stejně, tj. pro okamžitou rekonstrukci prsu nebo prsů. Pouze jedna pacientka uvedla stanovisko opačné;

jednalo se o ženu s nově zjištěnou vzdálenou diseminací onkologického onemocnění, která svou odpověď volným textem odůvodnila tak, že operaci považuje za zbytečnou, když odstranění prsů nezabránilo metastázám.

Výkon na druhostranném prsu

Ve skupině jednostranné mastektomie s rekonstrukcí většina žen mladších než 50 let (8/14) udávala, že pokud by se mohly znovu rozhodnout, nechaly by si současně preventivně odstranit a případně rekonstruovat i druhý prs. U dalších dvou žen nebyl tento údaj k dispozici; jedna uvedla, že neví, a druhá otázku ponechala nevyplněnou. Naproti tomu z osmi žen 50letých a starších by sedm (88 %) znovu zůstalo pouze u jednostranného výkonu.

Mezi pacientkami, které se rozhodly k současné kontralaterální profylaktické mastektomii s oboustrannou rekonstrukcí, by toto své rozhodnutí nezopakovaly pouze dvě (7 %), kdy v jednom případě šlo o stejnou ženu s čerstvě zjištěnou vzdálenou diseminací, která je zmíněna v odstavci „Rozhodnutí o rekonstrukci“. Rozdíl mezi skupinami pacientek s jednostrannou a oboustrannou rekonstrukcí byl v tomto ohledu statisticky významný ($p < 0,01$).

Subjektivní vnímání rekonstruovaného prsu/prsů

Počty jednotlivých variant odpovědí jsou uvedeny v tab. 2. Rekonstruované prsy trvale vnímá jako součást svého těla 86 % žen po oboustranném výkonu. Tento podíl je statisticky významně vyšší

Tab. 4. Subjektivní vnímání pocitu ženství. V buňkách je uveden počet žen, které jej ohodnotily příslušnou známkou.

Známkování (jako ve škole)	1	2	3	4	5	Nevyplněno
Pacientky po jednostranné mastektomii s rekonstrukcí (n = 22)						
Jak si připadám sama před sebou?	9	9	3	1	0	0
Jak si připadám v běžných životních situacích mezi lidmi?	11	9	2	0	0	0
Jak si připadám v erotickém kontaktu s druhou osobou?	3	6	10	1	2	0
Pacientky po oboustranné mastektomii s rekonstrukcí (n = 35)						
Jak si připadám sama před sebou?	16	14	3	1	1	0
Jak si připadám v běžných životních situacích mezi lidmi?	28	4	2	0	1	0
Jak si připadám v erotickém kontaktu s druhou osobou?	5	13	7	2	1	7

Tab. 5. Hodnocení celkové spokojenosti s rekonstrukcí. V buňkách je uveden počet žen, které svou spokojenost ohodnotily příslušnou známkou.

Známkování (jako ve škole)	1	2	3	4	5	Nevyplněno
Pacientky po jednostranné mastektomii s rekonstrukcí (n = 22)						
Celková spokojenost s rekonstrukcí.	9	9	2	0	1	1
Pacientky po oboustranné mastektomii s rekonstrukcí (n = 35)						
Celková spokojenost s rekonstrukcí.	19	11	2	1	1	1

než ve skupině žen po jednostranné operaci, kdy rekonstruovaný prs trvale vnímá jako součást svého těla 64 % patientek ($p < 0,05$). Stálá bolest rekonstruovaných prsů je jevem spíše výjimečným, ale 36 % žen po jednostranném výkonu a 54 % žen po oboustranném výkonu uvádí bolest občasnou; rozdíl mezi skupinami není statisticky významný. Bezmála polovina žen také sděluje, že je rekonstruovaný prs či prsy omezují (přínejmenším někdy) při tělesných aktivitách.

Subjektivní hodnocení zevnějšku

Odpovědi na otázku, jak ženy vypadají před zrcadlem, jsou uvedeny v tab. 3. Opět rozdělujeme do dvou skupin podle laterality výkonu. Je patrné, že ženy hodnotí svůj zevnějšek výrazně lépe v oblečení, než pokud jsou vyslečené. Rozdíl je vysoce statisticky významný v obou skupinách patientek ($p < 0,001$). O něco lepší jsou výsledky u oboustranných rekonstrukcí v porovnání s jednostrannými, nicméně bez statistické významnosti. V oblečení vychází jednostranným průměrná známka mezi 1 a 2, obou-

stranné se hodnotí na 1. Vyslečené ženy se pak hodnotí čistou 3 (jednostranné), případně lepší 3 (oboustranné).

Pocit ženství

Odpovědi na otázku, jak rekonstruované prsy přispívají k vnitřnímu pocitu ženství, jsou uvedeny v tab. 4. Samy před sebou si ženy nejčastěji připadají na 1 nebo na 2. V běžných situacích mezi lidmi si většina žen připadá obecně výborně, přičemž statistickým hodnocením byl zaznamenán trend lepšího sebehodnocení ve skupině po oboustranné operaci ($p = 0,09$), kde 1 výrazně převládá nad ostatními známkami. Významně horší ($p < 0,001$) jsou pocity v erotickém kontaktu s druhou osobou. Typická známka u patientek s jednostrannou rekonstrukcí je 3, u žen s oboustrannou rekonstrukcí 2 (ovšem sedm žen po oboustranné operaci na otázku neodpovědělo).

Celková spokojenost s rekonstrukcí

Hodnocení celkové spokojenosti patientek s absolvovanou mamární rekonstrukcí je znázorněno v tab. 5. Vyjádřeno

školským známkováním převládají 1 a 2, o něco lépe vyznívá hodnocení u patientek s oboustranným výkonem, ale rozdíl nedosahuje statistické významnosti. Pokud bychom známky 1 a 2 považovali za spokojenost, pak bylo s rekonstrukcí celkově spokojeno 48 patientek z 57, což činí cca 84 % (82 % patientek po jednostranné rekonstrukci a 86 % patientek po oboustranné rekonstrukci).

Poznámky

Možnosti vepsat volným textem poznámku nebo komentář využilo 43 žen (75 %). Často jde o děkovná vyjádření. Z některých komentářů vyplývá, že předmětný operační výkon (mastektomie s aloplastickou rekonstrukcí) nebyl v oblasti prsů definitivní. Několik žen absolvovalo později zákrok i na kontralaterálním prsu, u některých byla rekonstrukce konvertována na autologní metodu. Jde však o ojedinělé specifické případy, které se vymykají možnosti přehledného hodnocení. Považujeme za vhodné prezentovat tato sdělení:

- Některé pacientky s jednostrannou mastektomií uvádějí, že se vše před operací seběhlo příliš rychle a nedostaly, ze svého dnešního pohledu, dostatek relevantních informací. Jinak by se zřejmě rozhodly i pro odstranění a náhradu druhostranného prsu. „Při rozhodování o rekonstrukci prsu by mi bývalo hodně pomohlo, kdyby mi byly ukázány fotografie žen, které stejný nebo podobný zákrok prodělaly přede mnou, popřípadě kdybych si mohla s těmito ženami promluvit.“
- U některých patientek došlo později ke komplikacím, např. vyplavení barviva po tetování dvorce a zánět, nutnost přechodného vyjmutí implantátu apod. U některých došlo k návratu onkologického onemocnění. Tyto faktory evidentně také ovlivňují subjektivní vnímání výsledku rekonstrukce, jak ostatně pacientky samy přiznávají. Jedna žena připouští, že její bolest i horší kosmetický efekt může souviset s lymfédem po disekci axily.
- Několik žen si uvědomuje, že jejich hodnocení bude zřejmě o něco příznivější, až se rozhodnou i k rekonstrukci areolo-mamilárního komplexu.
- Pacientka s rekonstrukcí pomocí implantátu na jedné straně a s pozdější rekonstrukcí břišním lalokem na straně druhé uvádí: „Cítím, že z břišního laloku je prs lehčí, nebolí, jako by přijal funkci zdravého prsu před onemocněním. Levý prs je těžký, nebolí, cítím, že je v mém těle něco umělého (cizího).“
- A konečně komentář, který považujeme za velmi výstižný: „Ze své zkušenosti mohu říct, že tělo lépe přijme implantát, pokud jej žena přijme i ve své mysli. Proto je důležité, aby žena v sobě našla víru, že zvolený zákrok je v dané chvíli ta nejlepší cesta. O to příznivější bude výsledek.“

Diskuze

Na našem pracovišti jsme schopni zajistit rekonstrukci prsů pouze pomocí aloplastické metody, která není technicky příliš náročná, přitom je spolehlivá, s relativně malým množstvím akutních komplikací. Okamžitá náhrada prsu lalokem z břicha, kterou je možno docílit nejpřirozenějšího estetického výsledku a která v řadě studií vedla – zejm.

u jednostranných rekonstrukcí – k vyšší spokojenosti operovaných patientek než náhrada implantátem [5–8], je pro naše pacientky nedostupná. Nedisponujeme příslušným vybavením ani personálem jak pro samotnou operaci, tak pro pooperační péči. Navíc by u autologních rekonstrukcí častěji docházelo ke kolizím s případnou radioterapií na oblast hrudní stěny, jak jsme již publikovali dříve [9]. Uvědomujeme si, že co do plejády možných chirurgických technik a výsledků rekonstrukce z čistě kosmetického hlediska nemůžeme konkurovat specializovaným pracovištím plastické chirurgie, která se této problematice věnují v plné šíři. Tomu samozřejmě musíme přizpůsobit i výběr patientek. Okamžitou rekonstrukci se snažíme nabízet především těm ženám, které o ni výrazně usilují a jsou habituálně vhodné pro použití implantátu, resp. by nebyly vhodnými kandidátkami na rekonstrukci břišním lalokem, případně možnost použití břišního laloku na svém těle předem vylučují.

Vyhodnocení vlastních výsledků rekonstrukcí jsme považovali za nezbytné. Jednak pro nasměrování dalšího úsilí, jednak jako podklad pro realistické informování případných dalších zájemkyň o tuto operaci. Z možných způsobů, jak výsledky rekonstrukce hodnotit, pokládáme za nejdůležitější subjektivní hodnocení samotnými patientkami (patient reported outcomes – PRO). Taková hodnocení se, bohužel, těžko standardizují, takže není možné exaktně porovnávat výsledky jednotlivých pracovišť [10,11]. Několik pracovních skupin se zabývalo vývojem standardizovaného dotazníku, který by tento nedostatek překonal. Zřejmě nejrozšířenějším je dotazník BREAST-Q® vyvinutý v USA [12]. Původně jsme zvažovali jeho použití, nakonec jsme však usoudili, že pro naše účely a prostředí bude vhodnější dotazník stručnější, jednostránkový, s jednoduše položenými otázkami. Od kratšího dotazníku jsme si slibovali především vyšší návratnost, kterou jsme vzhledem k poměrně malé velikosti souboru považovali za důležitou. Předpoklad se potvrdil, návratnost 92 % je ojedinělá. Přesto však počet dotazovaných žen nebyl natolik velký, aby některé zaznamenané

(a předpokládané) rozdíly mezi jednotlivými podskupinami patientek dosáhly statistické významnosti. Při volbě otázek jsme se zaměřili na oblasti, které jsou podle literatury pro hodnocení výsledků mamárních operací důležité [13], ale také jsme zohlednili čistě praktické hledisko – potřebu znát odpovědi na otázky, které pacientky při zvažování rekonstrukce nejčastěji kladou.

Výsledky dotazníkového šetření dopadly vcelku příznivě. Naprostá většina patientek nelituje svého rozhodnutí okamžitou rekonstrukci podstoupit. Celková spokojenost 84 % je obecně velmi dobrým výsledkem, nevybočujícím z hodnot zjištěných na jiných pracovištích v rozsáhlé literární rešerši [14]. Ve skupině patientek s jednostrannou mastektomií by ale většina žen pod 50 let věku nyní zpětně preferovala oboustrannou operaci. U jednostranných rekonstrukcí nelze docílit dokonalé symetrie. I empiricky je zřejmé, že prs rekonstruovaný implantátem nemůže u vyslečené pacientky dokonale napodobit prs přirozený, vždy bude vypadat do jisté míry nepřírodně, bude nepohyblivý a tužší. To vede k nižšímu sebehodnocení patientek bez oblečení a k horším pocitům v erotickém kontaktu. Ženy s operací pouze na jedné straně také vnímají rekonstruovaný prs méně často jako součást svého těla. Patientky po oboustranné rekonstrukci v našem souboru udávaly o něco vyšší úroveň celkové subjektivní spokojenosti (ačkoli statisticky nevýznamně), jak již také publikoval např. Craft et al [15]. Samy před sebou i v běžných životních situacích mezi lidmi si ženy většinou připadají výborně. Poněkud nás překvapil vysoký podíl nemocných udávajících bolest v oblasti rekonstruovaných prsů, zpravidla občasnou. Tzv. postmastektomický algický syndrom (postmastectomy pain syndrome – PMPS) je v mamární chirurgii běžnou realitou. Literárně udávaná prevalence se pohybuje v rozmezí 20–52 % a v cílené studii nebylo prokázáno, že by okamžitá rekonstrukce prsu jeho četnost zvyšovala [16]. Nicméně pokud si uvědomíme poměrně výrazný zásah do muskulatury hrudníku, ke kterému při implantaci tkáňového expanderu dochází, a přihlídneme-li k čas-

nému pooperačnímu průběhu (většina pacientek udává po operaci výrazně silnější bolest než po samotné mastektomii), musíme připustit, že rekonstrukce prsu námi používanou metodou může k dlouhodobé občasně bolestivosti operované oblasti přispívat.

V dotazníku jsme se nezabývali otázkou areolo-mamillárního komplexu (AMK), ať už ponechaného původního (10 pacientek v souboru), nebo rekonstruovaného (přesný počet neznámý). Dostupné údaje nám tedy neumožňují činit v tomto ohledu nějaké závěry. Budiž ale zmíněno, že z našeho pohledu není otázka zachování AMK tak zásadní, jak většina žen či lékařů zpočátku soudí. Roli nehraje jen tzv. „onkologické“ hledisko. Při adekvátní radikalitě mastektomie (tenké kožní laloky) je ponechaný AMK zatížen vysokým rizikem ischemické nekrózy, která může ohrožovat časně zahájení adjuvantní léčby a ve výsledku způsobit ještě horší kosmetický výsledek, než pokud by se AMK primárně odstranil. Je tak třeba zcela individuálního posouzení operujícím onkochirurgem, zda má šetření AMK šanci na úspěch. Navíc i pokud se AMK podaří zachovat bez komplikací, pacientky často udávají nespokojenost s jeho pozicí či porušenou senzitivitou [17]. Proto považujeme většinou za vhodnější AMK při mastektomii odstranit a později rekonstruovat. Bylo publikováno, a volné komentáře některých pacientek tento poznatek podporují, že spokojenost pacientek s celkovým výsledkem rekonstrukce narůstá po jejím úplném dokončení, tedy i po náhradě AMK [18]. Některé ženy se však spokojí s dokončením prsního valu a rekonstrukci AMK nepožadují.

Radioterapie na oblast hrudní stěny zvyšuje četnost komplikací, především podporuje vznik kapsulární kontraktury a zhoršuje estetické výsledky aloplastických mamárních rekonstrukcí [19,20]. V souladu s tím byla v čerstvě publikované rozsáhlé studii zjištěna u ozařovaných pacientek o něco nižší spokojenost s výsledkem rekonstrukce [21]. V našem souboru jsme vliv radioterapie nemohli validně posoudit, protože ji absolvovalo pouze šest žen.

Z volně vepsaných poznámek jsme v textu záměrně uvedli takové, které vy-

stihují naši dosavadní klinickou zkušenost i údaje prezentované jinými autory. Vyplyvá z nich, mimo jiné, důležitost dostatečné informovanosti pacientek před výkonem. V práci publikované roku 2010 pacientky často uváděly, že měly od rekonstrukce implantátem nerealistická očekávání (expectations). Nebyly připraveny na plochý hrudník čerstvě po první operaci, na poněkud nepřirozený definitivní výsledek, na ztrátu kožní senzitivity, ani na tuhost a nepohyblivost rekonstruovaných prsou [22]. I přesto by mnoho žen svoji volbu aloplastické rekonstrukce opakovalo, protože by si nepřály chirurgický zásah do jiné části těla, tedy ani jizvu na bříše, a celkově by nechtěly absolvovat tak náročný výkon, jakým je laloková plastika. „Being less satisfied is not wrong or bad, provided it is known [23].“

Závěr

Naprostá většina pacientek v našem souboru nelituje svého rozhodnutí podstoupit okamžitou aloplastickou rekonstrukci prsu či prsů. Celkově je s ní spokojeno 84 % žen. Tato hodnota je plně v souladu s výsledky dosahovanými na jiných pracovištích, ačkoli dotazníková šetření většinou neprobíhají standardizovanou formou a srovnání je tedy jen orientační. Většina operovaných žen hodnotí vzeřízení svého těla před zrcadlem v oblečení výborně nebo velmi dobře. Rekonstruovaný prs či prsy přispívají k dobrému pocitu v běžných životních situacích i žen samotných před sebou. Pomocí implantátu však není možné dokonale napodobit přirozený prs. Projevuje se to poněkud nižším sebehodnocením svlečených žen i horšími pocity v erotickém kontaktu s druhou osobou. Po jednostranné operaci je také prs méně často vnímán jako součást vlastního těla. Většina pacientek mladších 50 let by tak namísto jednostranné operace zvolila oboustrannou, kdyby se mohly znovu rozhodnout. Překvapivě častá je občasná bolest rekonstruovaných prsou, i když nejsme schopni odlišit, do jaké míry je tento PMPS ovlivněn vlastní rekonstrukcí. Bez mála polovinu žen rekonstruované prsy někdy omezují při tělesných aktivitách. Z literárních údajů i našich zkušeností vyplývá důležitost dostatečné informa-

nosti pacientek před operačním výkonem. Jen dostatečně informovaná žena může mít realistické očekávání a učinit stran rekonstrukce prsu rozhodnutí, o němž bude přesvědčena, že pro ni bylo tím nejlepším.

Literatura

1. Eltahir Y, Werners LL, Dreise MM et al. Quality-of-life outcomes between mastectomy alone and breast reconstruction: comparison of patient-reported BREAST-Q and other health-related quality-of-life measures. *Plast Reconstr Surg* 2013; 132(2): 201e–209e. doi: 10.1097/PRS.0b013e31829586a7.
2. King TA, Borgen PI (eds). *Atlas of procedures in breast cancer surgery*. CRC Press 2005.
3. Cordeiro PG, McCarthy CM. A single surgeon's 12-year experience with tissue expander/implant breast reconstruction: part II. An analysis of long-term complications, aesthetic outcomes, and patient satisfaction. *Plast Reconstr Surg* 2006; 118(4): 832–839.
4. Coufal O, Justan I, Gabrielová L et al. Okamžité rekonstrukce prsu u onkologických pacientek – naše zkušenosti. *Prakt Gyn*. In press 2014.
5. Shaikh-Naidu N, Preminger BA, Rogers K et al. Determinants of aesthetic satisfaction following TRAM and implant breast reconstruction. *Ann Plast Surg* 2004; 52(5): 465–470.
6. Hu ES, Pusic AL, Waljee JF et al. Patient-reported aesthetic satisfaction with breast reconstruction during the long-term survivorship period. *Plast Reconstr Surg* 2009; 124(1): 1–8. doi: 10.1097/PRS.0b013e3181ab10b2.
7. Yueh JH, Slavin SA, Adesiyun T et al. Patient satisfaction in postmastectomy breast reconstruction: a comparative evaluation of DIEP, TRAM, latissimus flap, and implant techniques. *Plast Reconstr Surg* 2010; 125(6): 1585–1595. doi: 10.1097/PRS.0b013e3181cb6351.
8. Colakoglu S, Khansa I, Curtis MS et al. Impact of complications on patient satisfaction in breast reconstruction. *Plast Reconstr Surg* 2011; 127(4): 1428–1436. doi: 10.1097/PRS.0b013e318208d0d4.
9. Růžicková J, Coufal O. Okamžitá rekonstrukce prsu a radioterapie. *Klin Onkol* 2008; 21(4): 154–159.
10. Potter S, Brigid A, Whiting PF et al. Reporting clinical outcomes of breast reconstruction: a systematic review. *J Natl Cancer Inst* 2011; 103(1): 31–46. doi: 10.1093/jnci/djq438.
11. Lemaire V, McCarthy C. Measuring outcomes in breast surgery. *Clin Plast Surg* 2013; 40(2): 331–339. doi: 10.1016/j.cps.2012.12.003.
12. Pusic AL, Klassen AF, Scott AM et al. Development of a new patient-reported outcome measure for breast surgery: the BREAST-Q. *Plast Reconstr Surg* 2009; 124(2): 345–353. doi: 10.1097/PRS.0b013e3181aee807.
13. Klassen AF, Pusic AL, Scott A et al. Satisfaction and quality of life in women who undergo breast surgery: a qualitative study. *BMC Womens Health* 2009; 9: 11. doi: 10.1186/1472-6874-9-11.
14. Guyonard V, Leinster S, Wilkinson M. Systematic review of studies of patients' satisfaction with breast reconstruction after mastectomy. *Breast* 2007; 16(6): 547–567.
15. Craft RO, Colakoglu S, Curtis MS et al. Patient satisfaction in unilateral and bilateral breast reconstruction. *Plast Reconstr Surg* 2011; 127(4): 1417–1424.
16. Henderson JR, Tao A, Kirwan CC et al. Immediate breast reconstruction does not increase postmastectomy pain. *Ann Surg Oncol* 2014; 21(1): 113–117.
17. Peled AW, Duralde E, Foster RD et al. Patient-reported outcomes and satisfaction after total skin-sparing mastectomy and immediate expander-implant reconstruction. *Ann Plast Surg* 2014; 72 (Suppl 1): S76–S80.

18. Buck DW 2nd, Shenag D, Heyer K et al. Patient-subjective cosmetic outcomes following the varying stages of tissue expander breast reconstruction: the importance of completion. *Breast* 2010; 19(6): 521–526. doi: 10.1016/j.breast.2010.05.017.

19. Cordeiro PG, Pusic AL, Disa JJ et al. Irradiation after immediate tissue expander/implant breast reconstruction: outcomes, complications, aesthetic results, and satisfaction among 156 patients. *Plast Reconstr Surg* 2004; 113(3): 877–881.

20. McCarthy CM, Pusic AL, Disa JJ et al. Unilateral post-operative chest wall radiotherapy in bilateral tissue expander/implant reconstruction patients: a prospective outcomes analysis. *Plast Reconstr Surg* 2005; 116(6): 1642–1647.

21. Albornoz CR, Matros E, McCarthy CM et al. Implant breast reconstruction and radiation: a multicenter analysis of long-term health-related quality of life and satisfaction. *Ann Surg Oncol* 2014; 21(7): 2159–2164. doi: 10.1245/s10434-014-3483-2.

22. Snell L, McCarthy C, Klassen A et al. Clarifying the expectations of patients undergoing implant breast reconstruction: a qualitative study. *Plast Reconstr Surg* 2010; 126(6): 1825–1830. doi: 10.1097/PRS.0b013e3181f44580.

23. Saulis AS, Mustoe TA, Fine NA. A retrospective analysis of patient satisfaction with immediate postmastectomy breast reconstruction: comparison of three common procedures. *Plast Reconstr Surg* 2007; 119(6): 1669–1676.

Redakce časopisu *Klinická onkologie* a nakladatelství Ambit Media, a.s. vypisuje

SOUTĚŽ NA PODPORU AUTORSKÝCH TÝMŮ PUBLIKUJÍCÍCH V ZAHRANIČNÍCH ODBORNÝCH TITULECH

Odměna pro vítěze: 10 000 Kč

Cíl soutěže:

Podpořit renomé a prestiž časopisu *Klinická onkologie* – oficiálního časopisu ČOS ČLS JEP – u domácích i zahraničních autorů, lékařů a akademických pracovníků.

Podmínky soutěže:

1. Soutěž je určena autorským týmům, které publikují v zahraničních odborných titulech.
2. Do soutěže budou zařazeny práce publikované v zahraničních titulech od června 2014 do června 2015.
3. Ve svých článcích zaslanych k publikaci do zahraničního periodika budou autoři citovat práci, která byla otištěna v časopise *Klinická onkologie* (k vyhledání lze použít databáze www.pubmed.org nebo www.linkos.cz).
4. Do soutěže nebudou zařazeny autocitace.
5. Ze všech prací, které splní podmínky soutěže, bude redakční radou vylosována jedna, jejíž autorský tým bude oceněn částkou 10 000 Kč.

**KLINICKÁ
ONKOLOGIE**


ambit media®

Vliv předoperační chemoradioterapie na změnu exprese receptoru pro epidermální růstový faktor u pacientů léčených předoperační chemoradioterapií pro lokálně pokročilý karcinom rekta

Influence of Preoperative Chemoradiotherapy on Changes of Epidermal Growth Factor Receptor Expression in Patients Treated by Preoperative Chemoradiotherapy for Local Advanced Rectal Carcinoma

Richter I.¹, Dvořák J.², Blüml A.³, Čermáková E.⁴, Bartoš J.¹, Urbanec M.⁵, Sitorová V.⁶, Ryška A.⁶, Sirák I.⁷, Buka D.⁷, Ferko A.⁸, Melichar B.⁹, Petera J.⁷

¹ Onkologické oddělení, Krajská nemocnice Liberec, a.s.

² Onkologická klinika 1. LF UK a Thomayerova nemocnice, Praha

³ Oddělení patologie, Krajská nemocnice Liberec, a.s.

⁴ Ústav biofyziky a informatiky, LF UK v Hradci Králové

⁵ Oddělení patologie, Nemocnice s poliklinikou Česká Lípa, a.s.

⁶ Fingerlandův patologický ústav, LF UK v Hradci Králové

⁷ Klinika onkologie a radioterapie LF UK a FN Hradec Králové

⁸ Chirurgická klinika LF UK a FN Hradec Králové

⁹ Onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

Souhrn

Cíl: Cílem předkládané práce je zhodnocení vlivu neoadjuvantní chemoradioterapie na expresi receptoru pro epidermální růstový faktor (epidermal growth factor receptor – EGFR) u pacientů s lokálně pokročilým adenokarcinomem rekta. **Pacienti a metody:** Celkem bylo hodnoceno 103 pacientů s adenokarcinomem rekta II. a III. klinického stadia. Byla aplikována dávka 44–50,4 Gy zevní radioterapie, potenciace byla kapecitabinem 825 mg/m² ve dvou denních dávkách po celou dobu radioterapie nebo 5-fluorouracilem v dávce 200 mg/m² v kontinuální infuzi. Chirurgický výkon byl indikován s odstupem 4–8 týdnů od ukončení chemoradioterapie. Expresi EGFR byla stanovena imunohistochemicky v endobiopsii a v chirurgickém resektátu. **Výsledky:** Všechny 103 pacientů podstoupilo po neoadjuvantní chemoradioterapii operační výkon. Downstaging byl popsán u 64 pacientů, z toho u šesti byla popsána kompletní patologická remise. U 49 pacientů byla popsána recidiva onemocnění. U 22 pacientů se objevila lokální recidiva, u 27 generalizace. Celkem zemřelo 51 pacientů. Zvýšení exprese EGFR během neoadjuvantní chemoradioterapie bylo pozorováno u 26 pacientů. Bylo zjištěno statisticky významně kratší celkové přežití ($p < 0,001$) a statisticky významně kratší přežití bez známek recidivy ($p < 0,001$) u pacientů se zvýšenou expresí EGFR během neoadjuvantní chemoradioterapie ve srovnání s pacienty bez zvýšení exprese EGFR. **Závěr:** Zvýšená exprese EGFR během neoadjuvantní chemoradioterapie u pacientů s lokálně pokročilým adenokarcinomem rekta je spojena se statisticky významně kratším celkovým přežitím i přežitím bez známek recidivy.

Klíčová slova

nádory rekta – neoadjuvantní léčba – chemoradioterapie – monoklonální protilátky – receptor pro epidermální růstový faktor

Práce byla podpořena fondem Vědecké rady Krajské nemocnice Liberec VR130304 a projektem PRVOUK P37/01.

This study was supported by the Scientific Council of the Regional Hospital Liberec, plc VR130304 and by project PRVOUK P37/01.

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. Igor Richter
Onkologické oddělení
Krajská nemocnice Liberec, a.s.
Husova 10
460 63 Liberec
e-mail: igor.richter@seznam.cz

Obdrženo/Submitted: 12. 8. 2014
Přijato/Accepted: 26. 8. 2014

<http://dx.doi.org/10.14735/amko2014361>

Summary

Aim: The aim of this retrospective study was to determine the prognostic impact of expression of epidermal growth factor receptor (EGFR) changes during neoadjuvant chemoradiotherapy in patients with locally advanced rectal adenocarcinoma. **Material and Methods:** One hundred and three patients with locally advanced rectal adenocarcinoma of stage II and III were evaluated. All patients were administered the total dose of 44–50.4 Gy. Concomitantly, the patients received capecitabine in the dose 825 mg/m² in two daily oral administrations or 5-fluorouracil in the dose 200 mg/m² in continuous infusion. Surgery was indicated at intervals of 4–8 weeks from chemoradiotherapy completion. EGFR expression in the pretreatment biopsies and in resected specimens was assessed with immunohistochemistry. **Results:** All of 103 patients received radiotherapy without interruption up to the total planned dose. Downstaging was described in 64 patients. Six patients had complete pathologic remission. Recurrence occurred in 49 patients. Local recurrence was found in 22 patients, generalization of disease was reported in 27 patients. A total of 51 patients died. Increased EGFR expression was found in 26 patients. The statistically significantly shorter overall survival ($p < 0.001$) and disease-free survival ($p < 0.001$) was found in patients with increased expression of EGFR compared with patients where no increase in the expression of EGFR was observed during neoadjuvant chemoradiotherapy. **Conclusions:** The overexpression of EGFR during neoadjuvant chemoradiotherapy for locally advanced rectal adenocarcinoma is associated with significant shorter overall survival and disease-free survival.

Key words

rectal cancer – neoadjuvant therapy – chemoradiotherapy – monoclonal antibodies – epidermal growth factor receptor

Úvod

Zhoubné nádory tlustého střeva a konečníku patří mezi nejčastěji se vyskytující nádorová onemocnění v naší populaci [1]. Adenokarcinom rekta představuje z tohoto počtu přibližně 30 %. Základním postupem léčby lokálně pokročilého adenokarcinomu rekta je neoadjuvantní chemoradiotherapie s následnou totální mesorektální excizí [2–6]. Neoadjuvantní chemoradiotherapie prokázala nižší výskyt lokálních recidiv a lepší profil toxicity než léčba adjuvantní [7]. Potenciace léčby 5-fluorouracilem (5-FU) nebo kapecitabinem prokázala vyšší procento patologické kompletní remise a nižší procento lokální recidivy než léčba samotnou radiotherapií [8–12]. Celkové přežití nebylo ovlivněno, zřejmě v souvislosti s časnou subklinickou diseminací onemocnění již v době diagnózy. S rozvojem molekulární biologie se hledají další prediktivní faktory na celkové léčebné výsledky. Mezi nejvýznamnější patří receptor pro epidermální růstový faktor (epidermal growth factor receptor – EGFR) [13]. U kolorektálního karcinomu je zvýšená exprese EGFR popsána v 60–80 % a je spojena s horší prognózou onemocnění [14–16]. Radiobiologické studie potvrdily EGFR kritickou úlohu cytoprotektivních a pro-proliferativních reakcí nádorových buněk po ozáření. Indukované zvýšení exprese EGFR po radiotherapii souvisí s akcelerovanou repopulací nádorových buněk [17,18]. Zvýšení nádorové repopulace v průběhu radio-

terapie vede k obnově klonogenních nádorových buněk, čímž působí kontraproduktivně vůči samotné léčbě zářením [19–21]. Na podkladě výše zmíněných skutečností patří inhibice funkce EGFR v průběhu onkologické léčby mezi nejvíce studované postupy. V neoadjuvantní léčbě adenokarcinomu rekta proběhlo několik klinických prací, které hodnotily přínos monoklonálních protilátek proti EGFR v kombinaci s chemoradiotherapií. Nejvíce dat je s cetuximabem. Celkově ale procento patologické kompletní odpovědi nepřesahovalo procento samostatné chemoradiotherapie [22]. Proto se dále hledají možnosti, jak zlepšovat léčebné výsledky v dnešní éře individualizované léčby. Jednou z možností je studium dynamiky změny exprese EGFR během neoadjuvantní chemoradiotherapie adenokarcinomu rekta [23,24]. Předkládaná práce je retrospektivní společné zpracování dvou publikovaných souborů pacientů léčených ve dvou komplexních onkologických centrech pro karcinom rekta. Cílem předkládané práce je zhodnocení vlivu neoadjuvantní chemoradiotherapie na dynamiku EGFR. Dynamika EGFR byla hodnocena srovnáním exprese EGFR v diagnostické biopsii s expresí EGFR v resekátu po chirurgickém výkonu.

Pacienti a metody

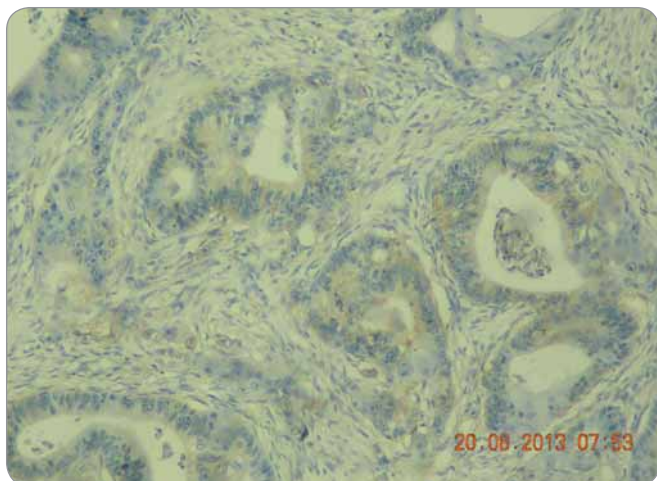
Soubor pacientů

Bylo hodnoceno celkem 103 pacientů léčených neoadjuvantní chemoradiotherapií pro karcinom rekta. Léčba probíhala od

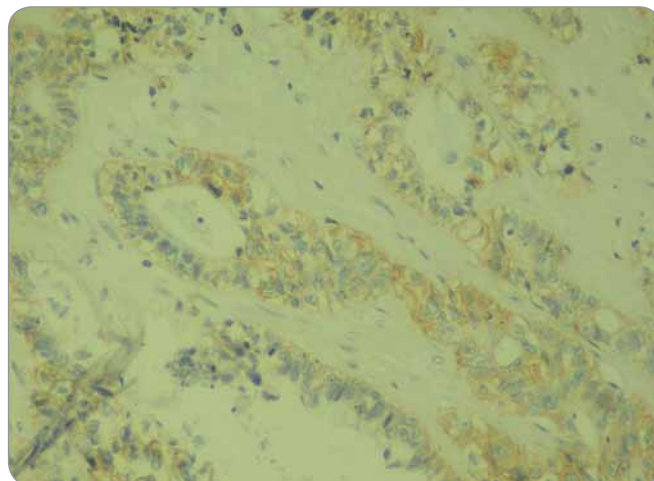
února 2001 do prosince 2009 ve dvou komplexních onkologických centrech (Klinika onkologie a radiotherapie FN Hradec Králové a Onkologické centrum Krajské nemocnice Liberec). Mužů bylo 72, žen 31. Medián věku byl 63 let (rozmezí 40–78 let). Ve II. klinickém stadiu dle TNM klasifikace bylo 44 pacientů, ve III. stadiu bylo 59 pacientů. Podle anatomické sublokalizace nádoru mělo 43 pacientů distální okraj tumoru uložený do 5 cm od vnitřního svěrače, 52 pacientů mezi 5,1 a 10 cm. Distální okraj tumoru nad 10 cm byl popsán u osmi pacientů. Histologicky se jednalo o tubulární adenokarcinom u všech 103 pacientů. U třech pacientů byla popsána mucinózní složka. Histologicky byl nádor dobře diferencovaný adenokarcinom u šesti pacientů, středně diferencovaný u 70 pacientů a málo diferencovaný u 27 pacientů. Medián předléčebné koncentrace hemoglobinu byl 139 (79–169) g/l, medián předléčebné koncentrace leukocytů byl 8,0 (3,5–15,8) $\times 10^9/l$, medián předléčebné koncentrace trombocytů 268,5 (145–508) $\times 10^9/l$. Předoperační koncentrace CEA byla stanovena u 82 pacientů (79,6 % všech hodnocených pacientů). Medián předoperační koncentrace CEA byl 3,9 (0–377) $\mu g/l$.

Terapie

Zdrojem záření byl lineární urychlovač (Varian Clinac 600, Varian Clinac 2100, Elekta Precise nebo Elekta Synergy). Bylo využito fotonové ionizující záření o energii 6, 15 nebo 18 MeV. Pacienti



Obr. 1. Hodnocení intenzity exprese EGFR pomocí IHC: EGFR 1+, zvětšení 200x.



Obr. 2. Hodnocení intenzity exprese EGFR pomocí IHC: EGFR 2+, zvětšení 200x.

byli ozařováni technikou 3D konformní radioterapií nebo IMRT s využitím segmentovaných polí. U všech pacientů byla aplikována dávka 44–45 Gy (frakcionace po 1,8 nebo 2 Gy) na oblast tumoru, mesorekta a pánevních spádových lymfatických uzlin. Boost 5,4 Gy ve třech frakcích byl použit u 53 pacientů. Konkomitantně byl aplikován 5-FU v dávce 200 mg/m² v kontinuální infuzi po celou dobu radioterapie kromě víkendů nebo kapecitabin v dávce 825 mg/m² ve dvou denních perorálních aplikacích po celou dobu radioterapie včetně víkendů. Chirurgický výkon byl indikován s odstupem 4–8 týdnů od ukončení chemoradioterapie.

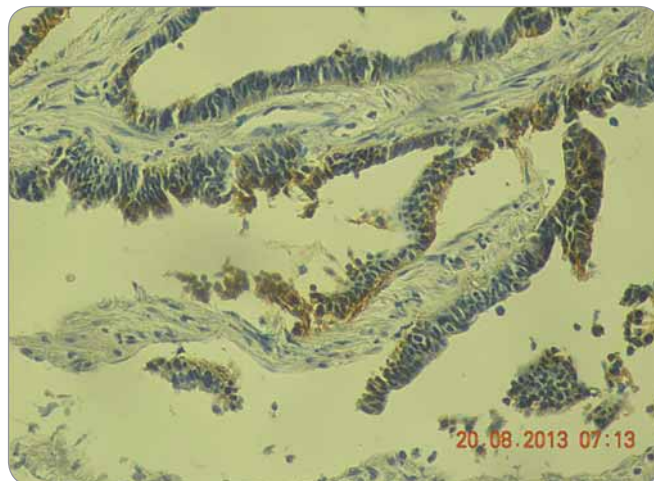
Imunohistochemické vyšetření (IHC)

Zpracované parafinové bloky byly nakrájeny mikrotonem na řezy o tloušťce 3 µm. Proběhla standardní deparafinace xylénem s následnou rehydratací. Následně proběhla proteolytická reakce tkáně po přidání proteázy. Endogenní peroxidázová reakce byla inhibována aplikací 3% roztoku peroxidu vodíku. Tkáňové řezy byly následně inkubovány při pokojové teplotě s myší monoklonální protilátkou IgG1 proti EGFR. Monoklonální protilátka byla součástí komerčně dodávaného kitu (EGFR PharmDxTM, Dako, Dánsko). Vzorek byl dále inkubován přibližně 30 min se značeným HRP polymerem a dalších 10 min s roztokem barviva DAB+. Posléze byly vzorky obarveny hematoxylinem. Jako

negativní kontrola exprese EGFR byly použity kontrolní preparáty dodávané v komerčním kitu. Odečtení bylo provedeno ve světelném mikroskopu. Preparáty byly odečteny zkušeným patologem, který nebyl obeznámen s léčebnými výsledky pacientů. Hodnocení bylo semikvantitativní a byla hodnocena intenzita zbarvení minimálně 1 % nádorových buněk: 0 = žádná, 1 = slabá, 2 = střední, 3 = silná (obr. 1–3). U pacientů byly hodnoceny jednak endobioptické nálezy před zahájením léčby, jednak chirurgické resekáty po neoadjuvantní chemoradioterapii a operačním řešení.

Statistika

Ke statistickému zhodnocení byl použit program Number Cruncher Statistical Systems NCSS 9 (Kaysville, Utah, USA). Celková doba přežití (overall survival – OS) = doba od stanovení diagnózy po úmrtí nebo do dne poslední kontroly u přeživších. Přežití bez známek recidivy (disease free survival – DFS) = doba od operace do objevení

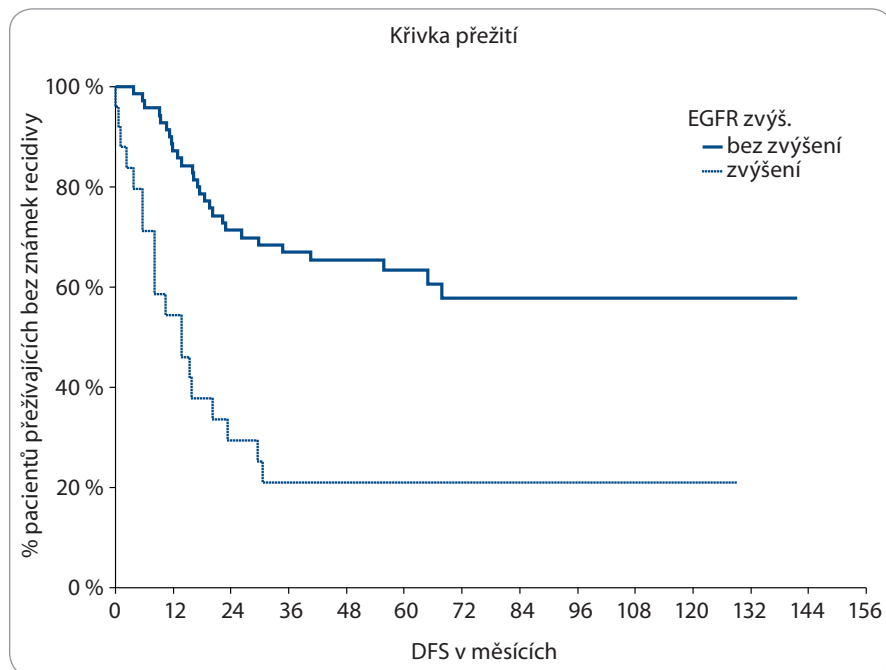


Obr. 3. Hodnocení intenzity exprese EGFR pomocí IHC: EGFR 3+, zvětšení 200x.

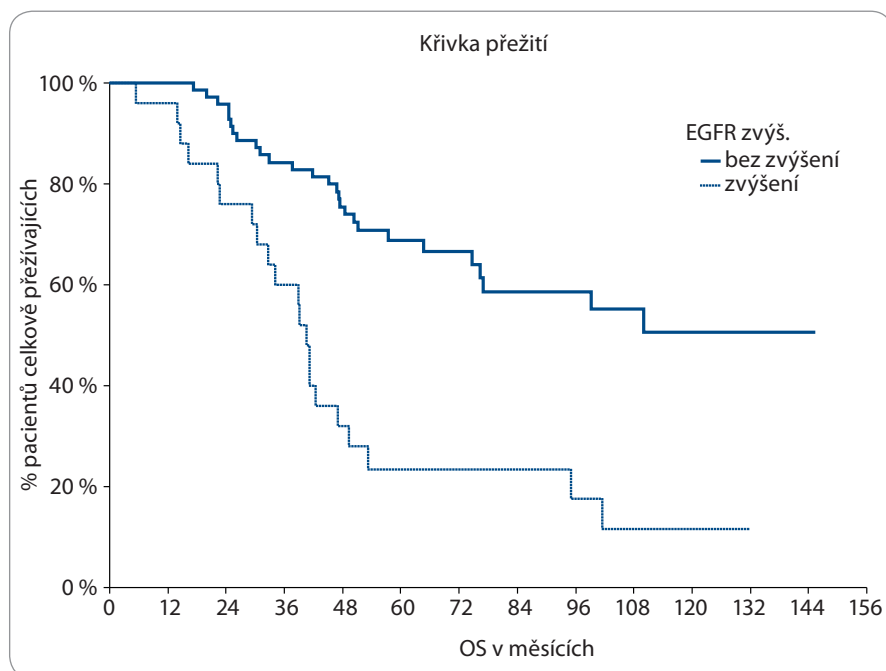
recidivy nebo poslední kontroly u pacienta bez recidivy. OS a DFS bylo hodnoceno pomocí Kaplan-Meierovy analýzy. Při zhodnocení vlivu exprese EGFR na léčebné výsledky (OS, DFS) byl použit log-rank test. Všechny statistické testy byly hodnoceny na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

Výsledky

Všech 103 pacientů absolvovalo radioterapii bez přerušení do celkové plánované dávky. Ani jeden pacient v průběhu léčby nezemřel. Konkomitantní chemoterapie byla předčasně ukončena u šesti pacientů z důvodů hematologické a gastrointestinální toxicity. Nejčastějším typem toxicity byla gastrointestinální toxicita, převážně stupně I a II. Průměr



Graf 1. Vliv změny exprese EGFR na přežití bez známek recidivy.



Graf 2. Vliv změny exprese EGFR na celkové přežití.

stupně III byl pozorován u tří pacientů. Anémie stupně III byla zjištěna u jednoho nemocného, leukopenie stupně III byla zjištěna ve dvou případech. Medián nadiru koncentrace hemoglobinu byl 120 (79–152) g/l, medián nadiru koncentrace leukocytů byl $4,4 (1,6–14,5) \times 10^9/l$, medián nadiru koncentrace trombo-

cytů $189 (93–266) \times 10^9/l$. Hand-foot syndrom nebyl pozorován u žádného nemocného. Radikální operace (R0 resekce) byla provedena u 98 pacientů. Pozitivní rekční okraj 1 mm a méně (R1 resekce) byla popsána u pěti pacientů. U 53 pacientů byl proveden svěrač šetřící výkon, 50 pacientů podstou-

pilo amputaci končetiny. Ani u jednoho pacienta nebyl lokální nálezn posouzen chirurgem jako inoperabilní. Podle patologické TNM klasifikace bylo po operaci v I. klinickém stadiu 32 pacientů, ve II. klinickém stadiu 42 pacientů, ve III. klinickém stadiu 20 pacientů. U šesti pacientů byla dosažena kompletní patologická remise onemocnění. Patologická kompletní remise byla definována jako absence nádorové tkáně v preparátu. U tří pacientů byla popsána peroperačně generalizace onemocnění do jater. Downstaging byl popsán u 64 pacientů (62,1 %). V době hodnocení (k 31. 12. 2013) se objevila recidiva u 49 pacientů, 54 pacientů bylo bez známek recidivy. U 22 pacientů byla popsána lokální recidiva, generalizace onemocnění byla popsána u 27 pacientů. Nejčastějším místem výskytu metastáz byla játra. Celkem zemřelo 51 pacientů, v době hodnocení žilo 52 pacientů. Pětileté přežití bez známek recidivy onemocnění (DFS) představovalo 52 % (95% CI 42–62 %). Pětileté celkové přežití (OS) představovalo 59 % (95% CI 49–68 %). V endobiopsii byla EGFR vyšetřena u 100 pacientů. Expres EGFR 1+ byla zjištěna u 30 pacientů, exprese EGFR 2+ u 21 pacientů a exprese EGFR 3+ u 9 pacientů. U 40 pacientů v endobiopsii nebyla zjištěna exprese EGFR. Expres EGFR v resekátu byla vyšetřena a zhodnocena u 97 pacientů. U šesti pacientů nebyla exprese EGFR vyšetřena v resekátu, protože byla dosažena patologická kompletní remise po neoadjuvantní chemoradioterapii. V resekátu byla zjištěna exprese EGFR 1+ u 28 pacientů, EGFR 2+ u 20 pacientů a EGFR 3+ u 10 pacientů. U 39 pacientů nebyla zjištěna exprese EGFR v resekátu. Dynamika EGFR byla hodnocena u 95 pacientů. U 29 pacientů byla pozorována snížená exprese EGFR, u 40 pacientů byla exprese EGFR beze změn. Zvýšení exprese EGFR bylo popsáno u 26 pacientů. U osmi pacientů nebyla dynamika exprese EGFR hodnocena jednak z důvodu dosažení patologické kompletní remise, jednak z nemožnosti určit expresi EGFR v biopsickém preparátu z důvodu menšího množství vzorku. U pacientů bez zvýšení exprese EGFR bylo významně delší DFS ve srovnání s pacienty, u kterých došlo

ke zvýšení exprese EGFR: HR 3,51 (95% CI 1,62–7,61), $p < 0,001$. Podobně i OS bylo významně delší u pacientů bez zvýšení exprese EGFR: HR 3,40 (95% CI 1,64–7,04), $p < 0,0001$ (graf 1, 2). U pacientů se zvýšením exprese EGFR bylo významně menší procento 5letého DFS: 20,9 % (95% CI 4,6–37,7 %) vs 63,3 % (95% CI 51,7–74,9 %), log-rank: $p < 0,0001$. Podobné údaje jsou i u 5letého OS: 23,3 % (95% CI 6,4–40,2 %) vs 68,8 % (95% CI 57,6–80,0 %), log-rank: $p < 0,001$.

Diskuze

Naše retrospektivní práce potvrdila svůj cíl a demonstrovala, že pacienti se zvýšenou expresí EGFR během neoadjuvantní chemoradioterapie prokázali významně kratší OS a DFS. Retrospektivní zhodnocení je společnou analýzou již dvou publikovaných souborů pacientů [23,24]. Obě práce prokázaly prognostický vliv změny exprese EGFR u dvou různých skupin pacientů léčených ve dvou různých komplexních onkologických centrech. EGFR bylo hodnoceno v různých laboratořích patologie. V jednom souboru byla radioterapie potencovaná kontinuálním 5-FU, ve druhém souboru kapecitabinem, dle zvyklosti příslušného onkologického centra. V obou pracích se potvrdil prognostický význam dynamiky EGFR, proto se nejedná o náhodu, ale o prokázanou souvislost. Analýza společného souboru je také příkladem spolupráce onkologických center nejenom při konzultaci léčebných postupů, ale i při výzkumné činnosti. Prognostický význam exprese EGFR, ale ne její dynamiky, v průběhu neoadjuvantní chemoradioterapie zkoumalo také několik dalších studií. Zvýšená exprese EGFR byla spojena se zvýšeným výskytem lokálních recidiv, kratší OS, kratší DFS či vznikem vzdálených metastáz, nižším procentem patologické kompletní remise [25–32]. Jiné klinické práce ale nepotvrdily prognostický vliv zvýšené exprese EGFR na léčebné výsledky [33,34]. Na podkladě uvedených skutečností je jedním z léčebných cílů inhibice EGFR. Monoklonální protilátky proti EGFR cetuximab a panitumumab prokázaly účinnost v léčbě metastatického karcinomu tlustého střeva a konečníku [35–42].

V neoadjuvantní léčbě adenokarcinomu rekta proběhlo podobně několik klinických prací, které hodnotily přínos monoklonálních protilátek proti EGFR v kombinaci s chemoradioterapií. Nejvíce dat je s cetuximabem. Celkově ale procento patologické kompletní odpovědi nepřesahovalo procento samostatné chemoradioterapie [22]. K ozřejmění této skutečnosti bude nutné bližší porozumění vzájemné interakce mezi radioterapií, inhibitory EGFR a cytostatiky. Nyati et al ve své práci diskutují, zda by příčinou nemohla být suboptimální sekvence podávané léčby, která může vyústit spíše v antagonistický než potenciační efekt [43]. Bylo zjištěno, že EGFR inhibitory způsobují redistribuci buněčného cyklu bloádou v G1 fázi [44]. Po podání EGFR inhibitorů před aplikací cytostatické léčby dochází k zastavení buněčného cyklu v G1 fázi, což může mít vliv na zeslabení účinku následně podaných cytostatik s účinkem v dalších fázích buněčného cyklu (převážně fáze G2). Další příčinou nižší patologické kompletní remise po předoperační radiochemoterapii v kombinaci s inhibitory EGFR může být snížení tumorové proliferace po aplikaci inhibitorů EGFR s následnou nižší odpovědí méně proliferujících buněk na ionizující záření [45]. Podobně i využití antiEGFR terapie v adjuvantní léčbě zatím nepřineslo očekávané výsledky. Proběhla klinická studie III. fáze, která u 2 686 pacientů hodnotila přínos podání cetuximabu k režimu FOLFOX v adjuvantní léčbě zhoubného nádoru tlustého střeva. Jako primární cíl bylo zvoleno DFS. Při mediánu sledování 28 měsíců nebyly prokázány lepší výsledky kombinace režimu FOLFOX a cetuximabu ve srovnání se samotným režimem FOLFOX [46]. Je proto nezbytný další výzkum, který by lépe identifikoval pacienty, kteří mohou mít léčebný prospěch z antiEGFR terapie. Pomoci by mohl prezentovaný soubor 103 pacientů, kde byla hodnocena dynamika EGFR během neoadjuvantní chemoradioterapie karcinomu rekta. Na podkladě výsledků by mohli být vhodnými pacienti se zvýšením exprese EGFR, kteří mají horší prognózu zřejmě v souvislosti s akcelеровanou repopulací nádorových kmenových buněk [17,18]. Tato

skupina pacientů by mohla mít benefit z další terapie inhibitory EGFR po chirurgickém výkonu. Prospektivní studie by v budoucnu mohly využít nejen imunohistochemii *ex vivo*, ale i imunohistochemii *in vivo* s využitím PET EGFR, která by mohla hodnotit dynamiku exprese EGFR nejen před radiochemoterapií a po ní, ale i v průběhu radiochemoterapie s časným zařazením antiEGFR terapie do léčebného algoritmu [47].

Závěr

Zvýšená exprese EGFR během neoadjuvantní chemoradioterapie pro lokálně pokročilý adenokarcinom rekta je významně spojena s kratší OS a DFS. Výsledky práce jsou příkladem spolupráce dvou komplexních onkologických center.

Literatura

1. Dušek L, Mužík J, Kubásek M et al (eds). Epidemiologie zhoubných nádorů v České republice [online]. Brno: Masarykova univerzita; 2005 [citováno 13. července 2009]. Dostupné z: <http://www.svod.cz>.
2. Doleželová-Horová H, Ondrová B, Šlampa P et al. Karcinom konečníku. In: Šlampa P, Petera J et al (eds). Radiační onkologie. 1. vyd. Praha: Galén 2007: 153–162.
3. Kocáková I, Soumarová R. Chemoradioterapie karcinomu konečníku. In: Šlampa P, Soumarová R, Kocáková I et al (eds). Konkomitantní chemoradioterapie solidních nádorů. Praha: Galén 2005: 62–72.
4. Šlampa P, Lovas P, Lovasová Z et al. Karcinomy konečníku. In: Šlampa P et al (eds). Radiační onkologie v praxi. 3. vyd. Brno: Masarykův onkologický ústav 2011: 70–78.
5. Dvořák J, Richter I, Buka D et al. Chemoradioterapie lokálně pokročilých karcinomů rekta. Farmakoterapie 2013; Suppl: 42–46.
6. Richter I, Dvořák J, Bartoš J. Neoadjuvantní léčba karcinomu rekta. Onkologie 2013; 7: 287–290.
7. Sauer R, Becker H, Hohenberger W et al. Preoperative versus postoperative chemoradiotherapy for rectal cancer. N Engl J Med 2004; 351(17): 1731–1740.
8. Bosset JF, Calais G, Mineur L et al. Enhanced tumoricidal effect of chemotherapy with preoperative radiotherapy for rectal cancer: preliminary results – EORTC 22921. J Clin Oncol 2005; 23(24): 5620–5627.
9. Gerard JP, Conroy T, Bonnetain F et al. Preoperative radiotherapy with or without concurrent fluorouracil and leucovorin in T3–4 rectal cancers: results of FFCD 9203. J Clin Oncol 2006; 24(28): 4620–4625.
10. Ceelen WP, Van Nieuwenhove Y, Fierens K et al. Preoperative chemoradiation versus radiation alone for stage II and III resectable rectal cancer. Cochrane Database Syst Rev 2009; 1: CD006041. doi: 10.1002/14651858.CD006041.pub2.
11. Hofheinz RD, Wenz F, Post S et al. Chemoradiotherapy with capecitabine versus fluorouracil for locally advanced rectal cancer: a randomised, multicentre, non-inferiority, phase 3 trial. Lancet Oncol 2012; 13(6): 579–588. doi: 10.1016/S1470-2045(12)70116-X.
12. De Caluwé L, van Nieuwenhove Y, Ceelen WP et al. Preoperative chemoradiation versus radiation alone for stage II and III resectable rectal cancer. Cochrane Database Syst Rev 2013; 2: CD006041. doi: 10.1002/14651858.CD006041.pub3.

13. Sirák I, Hatlová J, Petera J et al. Receptor pro epidermální růstový faktor a jeho úloha v radioterapii. *Klin Onkol* 2008; 21(6): 338–347.
14. Steele RJ, Kelly P, Ellul B et al. Epidermal growth factor receptor expression in colorectal cancer. *Br J Surg* 1990; 77(12): 1352–1354.
15. Mayer A, Takimoto M, Fritz E et al. The prognostic significance of proliferating cell nuclear antigen, epidermal growth factor receptor, and MDR gene expression in colorectal cancer. *Cancer* 1993; 71(8): 2454–2460.
16. Khorana AA, Ryan CK, Cox et al. Vascular endothelial growth factor, CD68, and epidermal growth factor receptor expression and survival in patients with stage II and stage III colon carcinoma: a role for the host response in prognosis. *Cancer* 2003; 97(4): 960–968.
17. Withers HR, Taylor JM, Maciejewski B et al. The hazard of accelerated tumor clonogen repopulation during radiotherapy. *Acta Oncol* 1988; 27(2): 131–146.
18. M, Petersen C, Eichler W et al. Mechanism of repopulation in experimental squamous cell carcinoma. In: Kogelnik HD, Lukas P, Sedlmayer F (eds). *Progress in radiation-oncology*. 7th ed. Bologna: Monduzzi: 2002: 417–422.
19. Begg AC. Prediction of repopulation rates and radio-sensitivity in human tumours. *Int J Radiat Biol* 1994; 65(1): 103–108.
20. Fowler JF. Rapid repopulation in radiotherapy: a debate on mechanism. The phantom of tumor treatment-continually rapid proliferation inmasked. *Radiother Oncol* 1991; 22(3): 156–158.
21. Schmitdt-Ullrich RK, Contessa JN, Dent P et al. Molecular mechanism of radiation-induced accelerated repopulation. *Radiat Oncol Investig* 1999; 7(6): 321–330.
22. Richter I, Dvořák J, Bartoš J. Neoadjuvantní chemoradioterapie karcinomu rekta v kombinaci s inhibitory receptoru pro růstový epidermální faktor. *Klin Onkol* 2014; 27(3): 166–172.
23. Dvořák J, Sitorová V, Ryška A et al. The prognostic significance of changes of tumor epidermal growth factor receptor expression after neoadjuvant chemoradiation in patients with rectal adenocarcinoma. *Strahlenther Onkol* 2012; 10: 145–147.
24. Richter I, Dvořák J, Urbanec M et al. The prognostic significance of change tumor epidermal growth factor receptor expression after neoadjuvant chemoradiation in patients with rectal adenocarcinoma. *Contemporary Oncology*, accepted 16. 7. 2014.
25. Azria D, Bibeau F, Barbier N et al. Prognostic impact of epidermal growth factor receptor (EGFR) expression on loco-regional recurrence after preoperative radiotherapy in rectal cancer. *BMC Cancer* 2005; 5: 62.
26. Li S, Kim JS, Cho MJ et al. Epidermal growth factor receptor as a prognostic factor in locally advanced rectal-cancer patients treated with preoperative chemoradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2006; 65(3): 705–712.
27. Giralt J, de las Heras M, Cerezo L et al. The expression of epidermal growth factor receptor results in a worse prognosis for patients with rectal cancer treated with preoperative radiotherapy. *Radiother Oncol* 2005; 74(2): 101–108.
28. Kopp R, Rothbauer E, Ruge M et al. Clinical implications of the EGF receptor ligand system for tumour progression and survival in gastrointestinal carcinomas: evidence for new therapeutic options. *Recent Results Cancer Res* 2003; 162: 115–132.
29. Li S, Kim JS, Kim JM et al. Epidermal growth factor receptor as a prognostic factor in locally advanced rectal cancer patients treated with preoperative chemoradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2006; 65(3): 1019–1028.
30. Kim JS, Kim JM, Li S et al. Epidermal growth factor receptor as a predictor of tumour downstaging in locally advanced rectal cancer patients treated with preoperative radiotherapy. *Int J Radiation Oncol Biol Phys* 2006; 66(1): 195–200.
31. Bertolini F, Bengala C, Losi L et al. Prognostic and predictive value of baseline and post-treatment molecular marker expression in locally advanced rectal cancer treated with neoadjuvant chemoradiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2007; 68: 1455–1468.
32. Zlobec I, Vuong T, Compton CC et al. Combined analysis of VEGF and EGFR predicts complete tumour response in rectal cancer treated with preoperative radiotherapy. *Br J Cancer* 2008; 98(2): 450–456. doi: 10.1038/sj.bjc.6604172.
33. Bengala C, Bettelli S, Bertolini F et al. Prognostic role of EGFR gene copy number and KRAS status in patients with locally advanced rectal cancer treated with preoperative chemoradiotherapy. *Br J Cancer* 2010; 103(7): 1019–1024. doi: 10.1038/sj.bjc.6605853.
34. Spindler KL, Nielsen JN, Lindebjerg J et al. Prediction of response to chemoradiation in rectal cancer by a gene polymorphism in the epidermal growth factor receptor promoter region. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2006; 66(2): 500–504.
35. Cunningham D, Humblet Y, Siena S et al. Cetuximab monotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2004; 351(4): 337–345.
36. Finocchiaro G, Capuzzo F, Janne PA et al. EGFR HER2, and K-ras as predictive factors for cetuximab sensitivity in colorectal cancer. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2007; 25: 168.
37. Van Cutsem E, Kohne CH, Láng I et al. Cetuximab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorine as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: update analysis of overall survival according to tumor KRAS and BRAF status. *J Clin Oncol* 2011; 29(15): 2011–2019. doi: 10.1200/JCO.2010.33.5091.
38. 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.
39. Maughan TS, Adams RA, Smith CG et al. Addition of cetuximab to oxaliplatin-based first-line combination chemotherapy for treatment of advanced colorectal cancer: results of the randomised phase 3 MRC COIN trial. *Lancet* 2011; 377(9783): 2013–2114. doi: 10.1016/S0140-6736(11)60613-2.
40. Tveit KM, Guren T, Glimelius B et al. Phase III trial of cetuximab with continuous or intermittent fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin (Nordic FLOX) versus FLOX alone in first-line treatment of metastatic colorectal cancer: the NORDIC-VII study. *J Clin Oncol* 2012; 30(15): 1755–1762. doi: 10.1200/JCO.2011.38.0915.
41. Van Cutsem E, Peeters M, Siena S et al. Open-label phase III trial of panitumumab plus best supportive care compared with best supportive care alone in patients with chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2007; 25(1): 1658–1664.
42. Oliner KS, Douillard JY, Siena S et al. Analysis of KRAS/NRAS and BRAF status in the phase III PRIME study of panitumumab (pmab) plus FOLFOX versus FOLFOX as first-line treatment (tx) for metastatic colorectal cancer (mCRC). *J Clin Oncol* 2013; 31 (Suppl): abstr. 3511.
43. Nyati MK, Morgan MA, Feng FY et al. Integration of EGFR inhibitors with radiochemotherapy. *Nat Rev Cancer* 2006; 6: 876–885.
44. Chinnaiyan P, Huang S, Vallabhaneni G et al. Mechanism of enhanced radiation response following epidermal growth factor receptor signaling inhibition by erlotinib (Tarceva). *Cancer Res* 2005; 65(8): 3328–3335.
45. Rau B, Sturm I, Lage H et al. Dynamic expression profile of p21WAF1/CIP1 and Ki-67 predicts survival in rectal carcinoma treated with preoperative radiochemotherapy. *J Clin Oncol* 2003; 21(18): 3391–3401.
46. Alberts SR, Sargent DJ, Nair S et al. Effect of oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin with or without cetuximab on survival among patients with resected stage III colon cancer: a randomised trial. *JAMA* 2012; 307(13): 1383–1393. doi: 10.1001/jama.2012.385.
47. Mishani E, Abourbeh G. Cancer molecular imaging: radio-nuclide-based biomarkers of the epidermal growth factor receptor (EGFR). *Curr Top Med Chem* 2007; 7(18): 1755–1772.

A Rare Neoplastic Growth on the Ear Lobe

Neobvyklá nádorová infiltrace ušního lalůčku

Rovere R. K.¹, Hilgert S. F.², da Costa Camara P.³, de Lima A. S.⁴

¹ Department of Medical Oncology, Santo Antonio Hospital, Blumenau, Santa Catarina, Brazil

² Santo Antonio Hospital, Blumenau, Santa Catarina, Brazil

³ Department of Surgical Oncology, Santo Antonio Hospital, Blumenau, Santa Catarina, Brazil

⁴ Private Practice of Dermatology, Brusque, Santa Catarina, Brazil

Summary

We report a case of an 83-year-old previously healthy female patient presenting with a swiftly evolving erythematous violaceous, infiltrative, ulcerated onion-like mass with hyperkeratotic surface on the left ear lobe. The lesion was excised and resulted as an atypical fibroxanthoma, an extremely rare neoplastic growth, being a superficial variant of pleomorphic malignant fibrous histiocytoma. A brief review of diagnosis, treatment and prognosis is discussed.

Key words

skin – clear cell atypical fibroxanthoma – immunohistochemistry – differential diagnosis – head and neck neoplasms – neoplasms – prognosis

Souhrn

Prezentujeme případ 83leté ženy, dosud bez závažných onemocnění, u které byla zjištěna rychle rostoucí, zarudlá nafialovělá infiltrace levého ušního lalůčku, s hyperkeratotickým povrchem cibulovitěho vzhledu a ojedinělou ulcerací. Po odstranění byla léze diagnostikována jako atypický fibroxanthom – zcela ojedinělý tumor představující kožní variantu maligního fibrózního histiocytomu. Článek v krátkosti popisuje diagnostiku, terapii a prognózu onemocnění.

Klíčová slova

kůže – světohubinný atypický fibroxanthom – imunohistochemie – diferenciální diagnóza – nádory hlavy a krku – novotvary – prognóza

Case report

An 83-year-old previously healthy female patient, agriculturist, presents with a history of an erythematous violaceous infiltrative, ulcerated onion-like mass with hyperkeratotic surface on the left ear lobe (Fig. 1–4). As the patient had a long history of chronic sun exposure and lived in one of the highest melanoma rates areas in the world [1], it was initially thought to be a metastatic melanoma by the surgeon.

The lesion was then completely excised and sent for pathological analysis, with the result coming as a malignant ulcerated fusocellular neoplasia with negative margins. Further, an immuno-

histochemical analysis was performed and was negative for all markers, including protein S 100, all the cytokeratins, Melan A/MART 1, protein p53, CD 23 and desmin, compatible with an atypical fibroxanthoma, a very rare form of skin cancer. The atypical fibroxanthoma is a superficial variant of pleomorphic malignant fibrous histiocytoma [2]. Our case has followed the classic presentation as a head and neck tumor in an elderly individual, and to the best of our knowledge just one case in medical literature has been reported in a different topography-on the dorsum of the hand, described almost three decades ago [3].

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.



Rodrigo Kraft Rovere, MD

Oncology Unit

Santo Antonio Hospital

Rua Itajai 545

Blumenau, Santa Catarina

CEP 89050100 Brazil

e-mail: rodrigorovere@hotmail.com

Submitted/Obdrženo: 31. 3. 2014

Accepted/Přijato: 1. 4. 2014

<http://dx.doi.org/10.14735/amko2014367>

In a retrospective analysis of Mohs surgery, only 0.2% of the malignant findings were fibroxanthomas out of 42,279 patients [4].

Conclusion

Atypical fibroxanthoma normally appears as a swiftly growing nodular or nodulo-ulcerative lesion. It may be composed predominantly of either pleomorphic, spindle, epithelioid cells, or a mixture of these cells. The differential diagnosis includes pleomorphic dermal sarcoma, squamous cell carcinoma, malignant melanoma and leiomyosarcoma [5].

It occurs mostly in older adults and in sun exposed areas [6], with male pre-



Fig. 1. A solitary erythematous nodule with hyperkeratotic and ulcerated surface on the left ear lobe (front view).



Fig. 2. A solitary erythematous nodule with prominent vessels, hyperkeratotic and ulcerated surface on the left ear lobe (side view).

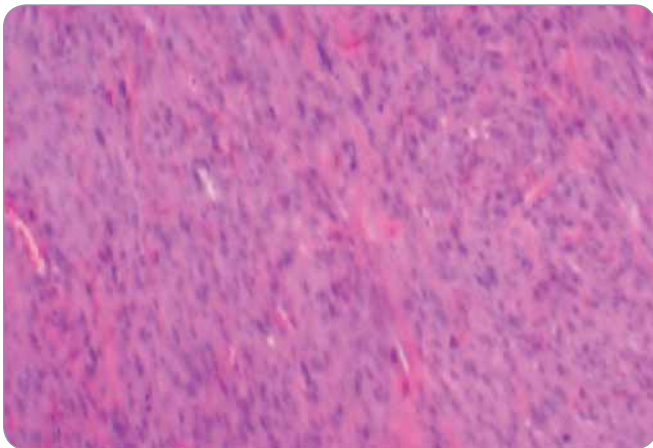


Fig. 3. Fusocellular proliferation in multi-directional bundles (100x).

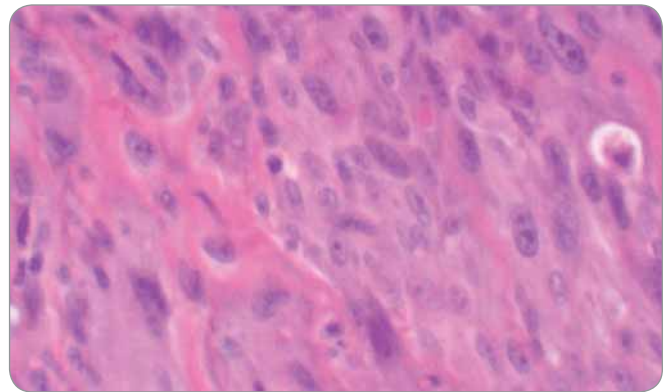


Fig. 4. Proliferation of elongated cells with poorly defined limits, dense eosinophilic cytoplasm, vesiculous or dense nuclei, irregular nuclear membrane and small to moderate diameter variation (400x).

dominance [7] and is a diagnosis of exclusion. The treatment is surgical and the preferred method is the aforementioned Mohs surgery [8]. Even though fibroxanthoma may be locally aggressive [9], the prognosis is usually very good if margins are adequate and these tumors rarely metastasise [7,10].

References

1. Naser N. Cutaneous melanoma: a 30-year-long epidemiological study conducted in a city in southern Brazil, from 1980–2009. *An Bras Dermatol* 2011; 86(5): 932–941.
2. Bedir R, Agirbas S, Sehitoglu I et al. Clear cell atypical fibroxanthoma: a rare variant of atypical fibroxanthoma and review of the literature. *J Clin Diagn Res* 2014; 8(6): FD09–FD11. doi: 10.7860/JCDR/2014/8798.4466.
3. Patterson JW, Konerding H, Kramer WM. „Clear cell” atypical fibroxanthoma. *J Dermatol Surg Oncol* 1987; 13(10): 1109–1114.
4. Anderson HL, Joseph AK. A pilot feasibility study of a rare skin tumor database. *Dermatol Surg* 2007; 33(6): 693–696.
5. Hussein MR. Atypical fibroxanthoma: new insights. *Expert Rev Anticancer Ther* 2014; 14(9): 1075–1088.
6. Hammerschmidt M, Azevedo LM, Ruaro A et al. Case for diagnosis. Atypical fibroxanthoma. *An Bras Dermatol* 2012; 87(4): 647–648.
7. Wollina U, Schonlebe J, Ziemer M et al. Atypical fibroxanthoma: a series of 56 tumors and an unexplained uneven distribution of cases in southeast Germany. *Head Neck*. In press 2014. doi: 10.1002/hed.23673.
8. McCoppin HH, Christiansen D, Stasko T et al. Clinical spectrum of atypical fibroxanthoma and undifferentiated pleomorphic sarcoma in solid organ transplant recipients: a collective experience. *Dermatol Surg* 2012; 38(2): 230–239. doi: 10.1111/j.1524-4725.2011.02180.x
9. Inskip M, Magee J, Weedon D et al. Atypical fibroxanthoma of the cheek-case report with dermatoscopy and dermatopathology. *Dermatol Pract Concept* 2014; 4(2): 77–80. doi: 10.5826/dpc.0402a16.
10. Cooper JZ, Newman SR, Scott GA et al. Metastasizing atypical fibroxanthoma (cutaneous malignant histiocytoma): report of five cases. *Dermatol Surg* 2005; 31(2): 221–225.

Těm, které by to mohlo zajímat – fotodiagnostika a fotodynamická léčba

To Whom it May Concern – Photodiagnosis and Photodynamic Therapy

Horváth T.

Chirurgická klinika LF MU a FN Brno
CBC Vznik s.r.o., Brno

Souhrn

Současná fotodiagnostika a fotodynamika.

Klíčová slova

fotodiagnostika (PD) – fotodynamická léčba (PDT) – přehled

Summary

Current photodiagnosis (PD) and photodynamics (PDT).

Key words

photodiagnosis (PD) – photodynamic therapy (PDT) – overview

Práce byla podpořena CBC Vznik s.r.o.

This study was supported by CBC Vznik s.r.o.

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

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

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

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



doc. MUDr. Teodor Horváth, CSc.

Chirurgická klinika LF MU a FN Brno

Jihlavská 20

625 00 Brno

e-mail: thorvath@fnbrno.cz

Obdrženo/Submitted: 14. 6. 2014

Přijato/Accepted: 15. 6. 2014

<http://dx.doi.org/10.14735/amko2014369>

I. Obecně

Fotodynamická terapie (photodynamic therapy – PDT) doplňuje léčebné postupy specifickým příspěvkem fotoreakce, tj. expozice netoxických světlocitlivých látek světlu určité vlnové délky, čímž se tyto látky mění na toxické pro pokročile dysplastické a maligní buňky, a též zánětem změněné tkáně, které je selektivně vychytávají. PDT je schopna také likvidovat bakterie, plísň i viry. Tímto širokým polem působnosti proniká stále více napříč interními i chirurgickými obory jako vítaná komplementární metoda využitelná v časných i pokročilých stadiích nemoci, a to jak na upřesnění rozsahu lokálního postižení, tak v jeho léčbě. PDT má tři klíčové složky: světlocitlivý lék, zdroj světla (vlnění) a tkáňový kyslík. Jejich použití v kombinaci vede k chemické destrukci jakékoliv tkáně selektivně vychytávající světlocitlivý medikament (fotosenzitizér), které jsou pak exponované světlu příslušné vlnové délky. Jsou

popsány dva hlavní mechanismy účinku PDT: u I. typu se tak děje skrze chemicky reaktivní molekuly obsahující kyslík (ROS – reactive oxygen species) představující volné radikály – kyslíkové ionty a peroxidy. U II. typu PDT je účinnou složkou reakcí dioxygen – vzorcem O_2^* – čili anorganický kyslík ve vzbuzeném stavu, jenž se v kosmopolitním odborném písemnictví nazývá excited singlet oxygen.

Některé fotosenzitizéry se přirozeně hromadí přednostně v endotelových buňkách cév, čímž umožňují tzv. vasikulárně cílenou PDT. V preklinickém výzkumu je selektivní nanotechnologická systémová PDT nádorových mikrometastáz využitím imunokonjugátů chromoforů (atomové skupiny v molekulách organických látek, jež způsobují barevnost sloučeniny) napojených na protilátky cílené na nádorovou buňku, jejichž fototoxická a fluorescence jsou aktivovány lyzozomální proteolýzou a červeným světlem s vlnovou délkou

blízkou infračervené oblasti spektra, jejichž průnik do tkáně je nejhlubší – až několikacentimetrový.

Exponováním polem experimentální PDT a laserové medicíny vůbec je studium protinádorové vakcinace. Lze diferencovat dva principy:

1. *In vitro*, a to tak, že nádorová tkáň odebraná pacientovi se vystaví fotodynamickému působení mimo tělo nemocného v arteficiálních kontrolovaných podmínkách (tkáň, fotosenzitizér, světlo příslušné vlnové délky) a vznikající imunogenní biologické fragmenty jsou témuž pacientovi zpětně aplikovány.
2. Protinádorová vakcinace *in vivo* prostým vystavením nádorů působení červeného světla (zde bez světlocitlivého medikamentu), čímž je vyvolána imunogenní odezva.

Jistou brzdou klinického využití PDT bylo donedávna relativně dlouhé přetr-

vávání světlo senzitivity zdravých tkání. Nesporné výhody PDT však stimulují vývoj medikamentů, po jejichž aplikaci se světlo senzitivita ve zdravých tkáních již nepočítá na týdny, ale na dny. Příkladem budiž mono-L-aspartyl chlorin e6 (MACE), jenž je nyní k dispozici již v několika firemních provedeních.

Dalším pozoruhodným jevem uplatňujícím se ve fotomedicině jsou autofluorescence a fluorescence. *Fotodiagnostika* (photodiagnosis – PD) využívá buď přirozené okamžité bioluminescence (světélkování) živých tkání či autofluorescence, anebo fluorescence, tj. bioluminescence vyvolané aplikací fotosenzitivního medikamentu vychytávaného nemocnou tkání, což po osvětlení laserovým světlem určité vlnové délky odhalí rozsah postižení tkání nemocí v bílém světle často nediferencovatelný a tím umožní radikální chirurgického zákroku, samozřejmě za předpokladu, že je v daném terénu realizovatelný. Jednotlivým druhům medikamentů náleží v této záležitosti odlišná vlnová délka elektromagnetického vlnění, takže jsou rozeznatelné pouze po osvětlení světlem příslušné barvy světelného spektra.

Aktuální klinický dopad těchto faktů byl prezentován na Mezinárodní konferenci fotodynamické společnosti ve skotském Dundee koncem května tohoto roku. Několik podstatných informací a záplava vzrušujících detailů s nimi souvisejících vtahuje do myšlenkového souznění virtuózní specialisty nejrozumnějších lékařských i nelékařských oborů stimulující intelektuální výboje v duchu prastarého ideálu *salus aegroti suprema lex* ruku v ruce s novodobou myšlenkou trvale udržitelného růstu. Výsledkem je plnost hlubokého profesního osvětlení i naděje. *Relata referro:*

II. Speciálně Chirurgie

Oprávněný zájem vyvolávají výsledky PDT u rozsáhle infikovaných ran, jako jsou třeba postoperační nekrotizující fasciitidy u vzdorných nozokomiálních infekcí s methicilin rezistentními kmeny zlatého stafylokoků (methicilin-rezistentní *Staphylococcus aureus* – MRSA) nebo celou škálou bakterií produkujících širokou paletu β-laktamáz (ex-

tended spectrum beta lactamases – ESBL), ale též nehojící se infikované rány v terénu handicapovaném polohou (pata, břec, kožní záhyby), změnami prokrvení anebo metabolickými poruchami.

PDT je v současnosti studována i ze zorného úhlu alternativy peritonektomie u incipientních rozsevů nádorového procesu do peritoneálního prostoru anebo obliteračních pleurálních postupů vpravením talku či kultury *corynebacteria* do pleurální dutiny.

Současná rutinní peroperační neurochirurgická fotodiagnostika spočívá ve fluorescenčním navedení, resp. upřesnění resekční linie mozkových gliomů (fluorescence image guidance – FGR) za pomoci kyseliny delta-aminolevulinové (dALA), která je první komponentou porfyrinové syntézy vedoucí k produkci hemu u savců a chlorofylu u rostlin. Jde o non-fluorescentní metabolický prekurzor, jehož perorální podání v podobě čerstvě připraveného roztoku v pitné vodě tři hodiny před operací vede v nádorové tkáni k intracelulárnímu nahromadění fluorescentních porfyrinů detekovatelných modrým světlem. Představuje tak dnes již široce aplikovaný příklad teranostického postupu, v němž se diagnostika plodně snoubí s léčbou v jediné komplexní akci.

V ORL a stomatochirurgii dominuje PDT použití v léčbě HPV infekcí – prekanceróz a nádorů orofaryngu, jmenovitě dlaždicobuněčného papilomu a dlaždicobuněčného papilokarcinomu orofaryngeální krajiny, zejm. pokročilých s vyčerpanými možnostmi jak chirurgie, tak chemoradioterapie.

Dermatologie

PDT soutěží s chirurgií v péči o nemocné s bazocelulárním karcinomem a Bowenovou nemocí kůže neboli zvláště v esteticky exponovaných oblastech. Známé a též hojně využívané je uplatnění PDT v léčbě těžkých forem akné.

Gastrointestinální onkologie a infektologie

Využití autofluorescence a fotodynamické terapie u prekanceróz jícnu, jakou je Barrettův jícen, ale i u časných i pokročilých nádorových postižení jícnu, a to

jak dlaždicobuněčnou rakovinou, tak adenokarcinomem.

PD a PDT jsou použitelné u nádorů kardie a žaludku zejm. u pacientů znevýhodněných interním nálezem.

PD a PDT je možné využít v záchytu i v léčbě polypů kolorekta s pokročilou dysplazií anebo mikroinvazí ve stopce.

V délce přežití pacientů postižených cholangiocelulárním karcinomem se PDT nesporně ukazuje jako přínosná metoda. U karcinomů pankreatu je PDT využívána zatím pouze v klinických studiích v podobě intersticiální paliace.

Na PDT příznivě reagují též vzdorné soory dutiny ústní v imunologicky handicapovaném terénu, jako např. po intenzivní protinádorové chemoterapii. Dalším polem působnosti PDT je možnost eradikace infekce HPV a její příznivý účinek doprovázející chronickou gingivitidu.

Gynekologie, proktologie a urologie

Fotodiagnostu, fluorescenční i autofluorescenční, lze využít též v časně detekci karcinomu močového měchýře a děložního čípku. Fotodynamická léčba má místo v péči o nemocné s recidivujícím uroepiteliálním karcinomem, karcinomem penisu a infekcí lidským papilomavirem či u prekanceróz a nádorů z oblasti cervixu, vulvy, vaginy, penisu a anu.

PDT je účinná v řešení časných i pokročilých/relabujících karcinomů děložního hrdla a nádorů vulvy, v obou případech zvláště u těch s vyčerpanými možnostmi chemoradioterapie.

V mammologii stojí za zamyšlení efekt PDT u Pagetova karcinomu mamilly.

Hematoonkologie

Již známým, ale stále podnětnějším zjištěním je skutečnost, že leukemické buňky multirezistentní na protinádorovou chemoterapii nejeví zkříženou rezistenci na PDT. A navíc hypotéza o možné PDT likvidaci přeživších kmenových nádorových buněk se nejeví neoprávněnou.

Oftalmologie

PDT vlhké makulární degenerace sítnice jsou příkladem vaskulárně cílené léčby. Podaný fotosenzitizér je akumulovaný v endotelu. Laserová aktivace fotosenzitizéru poškodí endotelovou buňku,

což má za následek vytvoření intravaskulárního koagula, které zablokuje abnormální cévy. Toto uzavření odstraňuje tvorbu edému pod retinou, komplexní příčinu poruchy centrálního vizu.

Pneumoonkologie

Časná diagnostika plicní rakoviny se léta potýká s paradigmatem klinického přecenění anebo podcenění nálezu dysplazie, resp. premalignity, tj. *overdiagnosis* vs *underdiagnosis*. Autofluorescenční bronchoskopická diagnostika (PD) může dešifrovat irelevantní, časnou a pozdní diagnózu, což jsou pojmy biologicky odlišné. Činí tak jejich morfolologickým rozlišením v pomyslné oblasti jejich vzájemného průniku. V této oblasti může být při rutinním posuzování jedna z nich pokládána právě za tu druhou, a to se všemi důsledky.

PDT se v pneumoonkologii uplatňuje jako alternativa chirurgie v časných stádiích nemalobuněčného karcinomu plic, dále jako léčebný nástroj synchronních a metachronních duplicít plicní rakoviny, a to jak bronchoskopicky dostupných (klasická intraluminální), tak v periferních lokalizacích (intersticiální), zejm. u osob bez funkčních rezerv a také

u nezanedbatelného počtu případů s vyčerpanými možnostmi chirurgie, chemo- a radioterapie.

III. Závěrem

Fotodiagnostika a fotodynamická léčba vstupují do závažných medicínských problematik z nových zorných úhlů. A nejenom to. Část z nich úspěšně řeší.

Detaily na www.icpa2014.org. Sborník z konference je k dispozici ve vědeckých knihovnách FN Brno-Bohunice a Masarykova onkologického ústavu.

Poznámky k oddílu I. Obecně

Pozn. 1. Mezi jednotlivými druhy elektromagnetického záření není ostrá hranice, přechody jsou plynulé, v nich se jednotlivé druhy záření překrývají. Vlnové délky (m) elektromagnetického spektra reprezentují tyto druhy záření: gama 10^{-12} ; RTG 10^{-10} ; ultrafialové 10^{-8} ; **viditelné světlo** 10^{-6} ; infračervené 10^{-5} ; mikrovlny 10^{-2} ; radiové vlny 10^3 .

Pozn. 2. Vlnové délky jednotlivých barev světelného spektra: fialová 360–430 nm, modrá 430–455 nm, jasně modrá 455–490 nm, zelená 490–550 nm, žlutá

550–590 nm, oranžová 590–650 nm, červená 650–760 nm.

Pozn. 3. Autofluorescence patří do oblasti jevů bioluminiscence – emise světla molekulou organické luminiscenční látky ve větší míře, než odpovídá záření absolutně černého tělesa stejné teploty. Je způsobena přechodem elektronu ze vzbuzeného stavu do stavu základního. U autofluorescence je vzbuzení vyvoláno pohlcením světelného kvanta dostatečné energie a k emisi dochází bezprostředně.

Pozn. 4. Fluorescence je emise světla substancí, která absorbovala světlo anebo jiné elektromagnetické vlnění. Vzniká též excitací molekul do vyššího energetického stadia jejich ostřelováním elektrony. Je formou luminiscence. Ve většině případů má emitované světlo delší vlnovou délku než absorbované záření. Je-li absorbované elektromagnetické záření intenzivní, může jeden elektron absorbovat dva fotony, což může vést k emisi záření o kratší vlnové délce než absorbovaná radiace. Možná je též emise záření stejné vlnové délky, jejímž terminus technicus je rezonanční fluorescence.

Aktuality z odborného tisku

Comparison of Doxorubicin and Cyclophosphamide versus Single-agent Paclitaxel as Adjuvant Therapy for Breast Cancer in Women with 0 to 3 Positive Axillary Nodes: CALGB 40101 (Alliance)

Shulman LN, Berry DA, Cirincione CT et al.

J Clin Oncol 2014; 32(22): 2311–2317. doi: 10.1200/JCO.2013.53.7142. PubMed PMID: 24934787.



Komentář

Článek prezentuje výsledky studie, která ověřovala hypotézu, že adjuvantní systémová léčba u časného karcinomu prsu založená na monoterapii paklitaxelem nepřináší horší výsledky ve srovnání s kombinovaným režimem s doxorubicinem. Do studie byly zařazeny pacientky, jejichž nádorové onemocnění bylo omezeno na prsní žlázu a maximálně tři axilární uzliny. Pacientky byly randomizovány do čtyř ramen: 4 × AC (60/600 mg/m²), 6 × AC (60/600), 4 × T (175), 6 × T (175), přičemž naprostá většina aplikací byla podána v „dose-dense“ režimu s podporou růstových faktorů. V ramenech s paklitaxelem bylo možné jít alternativní cestou v podobě týdenních aplikací 12 nebo 18 cyklů (80 mg/m²). Celkem bylo hodnoceno 3 873 patientek, medián sledování 6,1 roku. Většina patientek byla starší než 49 let (61 %), měla tumor do 2 cm (65 %), bez postižení lymfatických uzlin (90 %), s prokázanou expresí ER/PR receptorů (68 %) a HER2 negativní (84 %). Studie z hlediska svého zadání neprokázala non-inferioritu paklitaxelu vůči AC u dané skupiny patientek. V průběhu sledování zemřelo v důsledku onemocnění nebo jeho léčby 266 patientek, 116 v ramenech s AC (včetně devíti úmrtí spojených s léčbou: sedm úmrtí na AML/MDS a dvě úmrtí v důsledku srdečního selhání), 150 v ramenech s paklitaxelem (bez úmrtí v souvislosti s léčbou) (HR 1,27), 5leté OS a RFS byly 95 % a 94 % (OS AC vs T) a 91 vs 88 % (RFS AC vs T). Dalším výsledkem bylo, že podání šesti cyklů AC není lepší než aplikace čtyř cyklů. Přestože autoři studie na základě uvedených výsledků nedoporučují monoterapii paklitaxelem jako standardní adjuvantní léčbu, a s tím nelze jinak než souhlasit, tak si dovoluji namítnout, že profil toxicity paklitaxelu a výsledky, kterých dosáhl, jistě dávají možnost použít tento režim v týdenním podání jako alternativu vyhrazenou pro limitovanou skupinu patientek, kde interkurence kontraindikují podání kardiotoxické léčby nebo pokud z jiného důvodu nechceme jít do režimu TC. Nomogramy, případně molekulární prognostické testy ukazují, že daná pacientka má zvýšené riziko recidivy onemocnění a mohla by mít benefit z adjuvantní cytostatické léčby.

Abbreviated Breast Magnetic Resonance Imaging (MRI): First Postcontrast Subtracted Images and Maximum-intensity Projection-a Novel Approach to Breast Cancer Screening with MRI

Kuhl CK, Schrading S, Strobel K et al.

J Clin Oncol 2014; 32(22): 2304–2310. doi: 10.1200/JCO.2013.52.5386. PMID: 24958821.



Komentář

Velmi zajímavá práce, ve které se autoři zabývali otázkou, zda pro účely screeningového vyšetření prsou magnetickou rezonancí (MRI) je nutné provedení standardního diagnostického MRI vyšetření. Standardní MRI vyšetření prsou trvá přibližně 40 min, což může být příčinou negativního postoje patientek k vyšetření a zároveň významně omezuje kapacitu přístroje a možnost vyšetřit více patientek, díky čemuž by bylo možné snížit náklady na jedno vyšetření, a v neposlední řadě klade zvýšené nároky na interpretaci snímků. Autoři provedli prospektivní „interpretační“ studii MRI vyšetření prsou, která byla provedena v rámci screeningu žen se zvýšeným rizikem vzniku karcinomu prsu nebo recidivy onemocnění v druhostranném prsu (hodnocení se nevztahovalo na původně postižený prs, pokud byla provedena parciální mastektomie). Dva radiodiagnostici, vysoce erudovaní v dané problematice, provedli nezávisle na sobě nejprve hodnocení několika vybraných snímků získaných ze standardního diagnostického MRI vyšetření (označeno jako zkrácený protokol) a poté všech snímků z tohoto vyšetření. Zkrácený protokol obsahoval pouze snímky z prvních dvou pulzních sekvencí, tj. 27–33 snímků z akvizice před a stejný počet snímků z akvizice po aplikaci i.v. kontrastu. Autoři nejdříve provedli subtrakci obrazu před kontrastem z obrazu po kontrastu a získali výsledných cca 27–33 snímků, které zfúzovali do „hlavního snímku“. Studie byla realizována s 2letým odstupem od posledního vyšetření a bylo hodnoceno celkem 606 MRI vyšetření provedených u 443 patientek. Detekováno bylo celkem 11 nádorů (4 × DCIS, 11 × invazivní karcinom), u dalších osmi patientek byly nalezeny rizikové léze (např. ADH, papilom), nebyl zjištěn žádný „intervalový“ nádor. Indikováno bylo dalších 23 biopsií, ale s nálezem benigní léze (např. adenóza, tuková nekróza). Průměrný čas potřebný na provedení zkráceného protokolu vyšetření byl 184 s (vs 1 024 s pro celé vyšetření), průměrný čas pro vyhodnocení celého zkráceného protokolu byl 28 s, pro zhodnocení hlavního snímku 2,8 s. Senzitivita k zachytu nádorových lézí (invazivní karcinom + DCIS) do-

sahovala v případě hodnocení pouze hlavního snímku 90,9 %, v případě celého zkráceného vyšetření a celého diagnostického vyšetření 100 %. Negativní prediktivní hodnota činila 99,8 % pro hlavní snímek a 100 % pro hodnocení celého zkráceného a celého diagnostického vyšetření. Specifita a pozitivní prediktivní hodnota se u zkráceného a celého diagnostického vyšetření signifikantně nelišila. Tyto výsledky považují autoři za velmi nadějně k tomu, aby – v případě dalšího nezávislého potvrzení – byly použity k úpravě protokolu MRI screeningu karcinomu prsu v klinické praxi, a tím umožnily zvýšení dostupnosti tohoto nezátěžujícího vyšetření širší populaci žen. Tento závěr je jistě povzbuzující, neboť populace žen indikovaných k MRI screeningu stále narůstá, přičemž dostupnost MRI vyšetření se omezuje s přibývajícím požadavky na tato vyšetření v rámci onkologie a dalších oborů.

‘An Ounce of Prevention is Worth a Pound of Cure’: the Case for and Against GnRH-Agonist for Fertility Preservation

Blumenfeld Z, Katz G, Evron A.

Ann Oncol 2014; 25(9): 1719–1728. doi: 10.1093/annonc/mdu036. PubMed PMID: 24651411.



Komentář

Autoři provedli analýzu výsledků 15 retrospektivních a pěti randomizovaných kontrolovaných studií, které hodnotily přínos paralelního podávání agonisty GnRH (gonadotropin releasing hormon) za účelem zachování funkce vaječníků a fertility u 1 837 žen léčených chemoterapií. Tento problém není uspokojivě vyřešen, přičemž množství žen, kterých se dotýká, stále narůstá. Navíc, v poslední době se ukazuje, že kryoprezervace embryí nebo ovariální tkáně, tj. postupy, do kterých se z hlediska zachování fertility pacientek vkládaly velké naděje, nepřinášejí očekávané výsledky. U pacientek s hematologickými malignitami bylo dokonce zaznamenáno zvýšené riziko relapsu onemocnění v případě reimplantace ovariální tkáně. Infiltrace ovariální tkáně populací nádorových buněk byla prokázána nejenom u leukemií a lymfomů, ale např. i u Ewingova sarkomu. Autoři zjistili, že čtyři prospektivní randomizované kontrolované studie, 15 retrospektivních studií a sedm metaanalýz, prokazovaly jednoznačný přínos podávání GnRH agonisty pro zachování cyklické funkce vaječníků (91 vs 41 %). Rovněž byla zjištěna signifikantně vyšší pravděpodobnost otěhotnění u těchto žen (OR až 12,87). Oproti tomu stálo devět studií (593 pacientek), které tento přínos neprokázaly. V jejich případě však autoři upozorňují na řadu nedostatků, zejm. nízký počet pacientek v případě jediné randomizované kontrolované studie, která zde byla. Nemá význam zde přepisovat výsledky z jednotlivých analyzovaných studií, ty získáte v publikovaném článku. Pro klinickou praxi je tato informace povzbuzující. Je však nutné mít stále na zřeteli, že významnou roli zde hraje i věk pacientky a vlastní léčba, kdy obecně intenzivní režimy pro léčbu hematologických malignit a sarkomů, nebo např. CMF či režimy s taxany, mají vyšší pravděpodobnost selhání funkce vaječníků. Velmi důležité je rovněž začít s podáváním GnRH agonisty před zahájením cytostatické léčby, přičemž většina analyzovaných studií měla tento počátek o 7–14 dní předsunutý před chemoterapií.

Circulating Tumour Cells: the Evolving Concept and the Inadequacy of Their Enrichment by EpCAM-based Methodology for Basic and Clinical Cancer Research

Grover PK, Cummins AG, Price TJ et al.

Ann Oncol 2014; 25(8): 1506–1516. doi: 10.1093/annonc/mdu018. PubMed PMID: 24651410.



Komentář

Velmi zajímavý článek přinášející kritický pohled na klinické použití stávajících metod určených k detekci cirkulujících nádorových buněk (CTC). Autoři úvodem shrnují stávající metody určené pro získávání, detekci a kvantifikaci CTC a následně se věnují metodám, které pro detekci CTC využívají exprese adhezivní molekuly epiteliálních buněk (EpCAM), případně kombinace cytokeratinů. Metody založené na tomto principu jsou v klinické a laboratorní praxi nejrozšířenější (např. CellSearch® systém od Veridexu, Epithelial Enrich™ systém od Dynaval Biotech, AdnaTest® od AdnaGen). Přestože nelze zpochybnit, že detekce CTC je u řady nádorů prokazatelně spojena s negativní prognózou, stejně tak je evidentní i relativní neúspěšnost uvedených metod detekovat CTC u zjevně masivně diseminovaných nádorů. A vysvětlení je nutné hledat právě ve způsobu detekce CTC. Je-li založena na antigenu EpCAM nebo některých cytokeratinech, tak při heterogenitě nádorových buněk, včetně těch cirkulujících, uniká těmto metodám významná frakce buněk, které podstoupily epiteliálně-mezenchymální přeměnu (EMT), nádorové kmenové buňky a nádorové epiteliální buňky se sníženou expresí EpCAM v důsledku genetických či epigenetických změn. Autoři, kteří reprezentují pracoviště, jež stálo u zrodu detekčních metod CTC, tak upozorňují na významné slabiny výše uvedených metod a nabádají k obezřetnosti při jejich použití v klinické praxi a ve výzkumu. Na straně druhé ukazují možnosti, jak tyto nedostatky překlenout.

Relevant Risk of Carboplatin Underdosing in Cancer Patients with Normal Renal Function using Estimated GFR: Lessons from a Stage I Seminoma Cohort**Cathomas R, Klingbiel D, Geldart TR et al.***Ann Oncol 2014; 25(8): 1591–1597. doi: 10.1093/annonc/mdu129. PubMed PMID: 24669017.***Komentář**

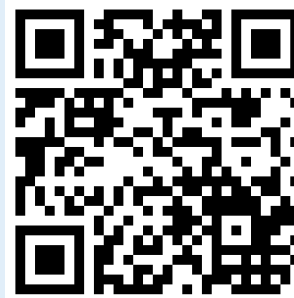
Autoři se ve své práci věnují otázce možného poddávkování pacientů, u kterých je v IA nebo IB klinickém stadiu diagnostikován seminom a u kterých je v rámci zajišťovací léčby po orchiektomii stále častěji používáno jednorázové podání karboplatiny (AUC7). Na straně jedné vychází ze skutečnosti, že již snížení dávky CBDCA o 10 % prokazatelně zvyšuje počet relapsů onemocnění u takto léčených pacientů, na straně druhé z rizika poddávkování CBDCA, které v reálné klinické praxi hrozí, neboť výpočet dávky karboplatiny je nejčastěji založený na odhadu glomerulární filtrace (GFR) místo přesného výpočtu GFR pomocí měření clearance izotopovými metodami (např. (51)Cr EDTA nebo (99m)Tc DTPA). Odhad GFR se provádí pomocí predikčních rovnic zahrnujících sérové hladiny kreatininu a demografické či antropometrické parametry. Studie byla založena na paralelním stanovení GFR izotopovými metodami a odhadem GFR predikčními metodami (Cockcroft-Gault, CKD-EPI, Jelliffe, Martin, Mayo, MDRD, Wright) v konsekutivním souboru 426 pacientů. Při srovnání izotopových a predikčních metod výpočtu GFR zjistili, že použitím predikčních metod dochází, v závislosti na metodě, u významného počtu pacientů k poddávkování karboplatiny. Stalo by se tak u 4 % pacientů při použití výpočtu Mayo, 9 % dle Martina, 18 % u Cockcroft-Gaultova výpočtu, 24 % Wrightova výpočtu, 63 % Jelliffeho výpočtu, 49 % podle MDRD a 41 % podle CKD-EPI. Na základě těchto výsledků nedoporučují, aby u uvedené skupiny pacientů byla k výpočtu dávky karboplatiny používána některá z predikčních metod odhadu GFR. Raději by mělo být provedeno vyšetření GFR izotopovými metodami. Z pohledu klinické praxe, kdy i v našich zdravotnických zařízeních je GFR určována predikčními metodami – nejčastěji podle vzorce navrženého Cockcroftem a Gaultem, je toto doporučení jistě respektovatelné.

*Články vybral a komentoval
doc. MUDr. Marek Svoboda, Ph.D.
výkonný redaktor*

**Návrhy na zajímavé články, doplněné případně i o komentář,
zasílejte na naši e-mailovou adresu klinickaonkologie@mou.cz.**

Využijte služeb

**Knihovny pro studium onkologických oborů
Masarykova onkologického ústavu**



Prof. Žaloudík šedesátiletý

Fait V.

V létě oslavil 60 let prof. Žaloudík, jedna z nejvýraznějších osobností naší onkologie, ale současně i chirurgie a celé medicíny. Je těžké jej stručně postihnout, přesto se o to, jako jeho dlouholetý spolupracovník a troufám si říci i přítel, pokusím.

Chirurg, onkolog, lékař, vědec, filozof, politik, hudebník, rybník, milovník přírody... Jeho renezanční osobnost si většinu lidí okamžitě získá, i krátké setkání s ním je inspirující. Každý, kdo jej někdy slyšel přednášet, a to víceméně na jakémkoliv téma, musí dosvědčit, že se vždy jedná o skvělý zážitek. Tomu, kdo tuto možnost neměl, doporučuji přečíst si některé jeho články ve Zdravotnických novinách nebo na blogu. Nejedná se sice o odborné články v pravém slova smyslu, ale myšlenky v nich obsažené mají na naši medicínskou praxi mnohdy větší dopad než články s vysokým impact faktorem. Nicméně i těchto má na kontě úctyhodnou řadu.

Jakožto člověk, který s Honzou strávil roky na jednom pracovišti a dlouhé hodiny u operačního stolu, jsem měl možnost s ním probírat spousty témat, od odborných přes různé zážitky a historky až po naprosté absurdity, srovnatelné snad s montypythonovskou poetikou. Vždy mě udivoval jeho obrovský rozhled a schopnost rychle postihnout jádro problému. Jak v odborných tématech, tak v oblastech kulturních, geografických, ekonomických i politických. Schopnost popsat a pojmenovat nejdůležitější poznatky mohu ilustrovat na osobním zážitku. Nedlouho po mém nástupu do onkologického ústavu došlo v západní Evropě k eskalaci zájmu o kryochirurgii, kterou se Honza dlouhodobě zabý-

val. Na celosvětový kongres o této problematice, kam byl delegován, ovšem z osobních důvodů nemohl odjet a pověřil reprezentací mne. V té době jsem měl o kryochirurgii jen mlhavé představy, takže jsem s tímto úkolem měl docela problém. Honza jej vyřešil tím, že mi dal s sebou svoji dizertační práci, abych si ji ve vlaku přečetl. K mému zděšení jsem na místě zjistil, že mi celosvětoví odborníci již prakticky nemají co nového říci a že spíše mohu poučit já je.

Kariéra Honzy Žaloudíka byla od počátků vždy úzce spojena s brněnským onkologickým ústavem, ať už se v průběhu času jmenoval jakkoliv, a to i v dobách, kdy jej oficiálně opustil. Vyrůstal jako chirurg, vždy však ve velmi těsném spojení s onkologií v širším slova smyslu, takže jeho uvažování a činy byly spíše onkologické a onkochirurgické. Podobným způsobem pak učil uvažovat i většinu svých spolupracovníků, ke kterým se rád hrdě hlásím. Právě komplexní pohled na onkologii je patrně nejvýraznější stopou, kterou po sobě prof. Žaloudík v naší medicíně zanechává. Za všech okolností si udržuje nadhled a zásady svého konání nepodřizuje osobnímu prospěchu. Jeho pevné postoje však nejsou každému po chuti, což přispělo k některým překvapivým zvratům v jeho kariéře. Budiž mu ke cti, že z těchto peripetií vždy vycházel posílen. Navíc, bez ohledu na místo a funkci, kterou kdy zastával, v popředí jeho konání je vždy „salus aegroti“, a to především prospěch onkologicky nemocných. Pravděpodobně ve funkcích, kdy právě neoblékal bílý plášť, pro tyto nemocné vykonal a vykonává úplně nejvíce.



Takže závěrem:

Milý Honzo, přeji Ti hodně zdraví, co nejlepší podmínky pro práci, a to ve všech patrech, ve kterých se pohybuješ. Pochopitelně i co největší spokojenost v osobním životě. A nakonec neskromné přání, abychom mohli opět spolupracovat co nejužším způsobem, včetně toho, že se opět občas potkáme u operačního stolu. K tomuto přání se s radostí připojuji i ostatní, jmenovitě Vojta, Olda a další, domnívám se ale, že mluvíme ze srdce i za většinu naší onkologické i chirurgické obce.

*doc. MUDr. Vuk Fait, CSc.
vedoucí redaktor
časopis Klinická onkologie*

Onkologie v obrazech

Karcinomová lymfangiopatie při pokročilém karcinomu prsu

Fait V.

Oddělení chirurgické onkologie, Masarykův onkologický ústav, Brno

Čtyřiašedesátiletá pacientka s pokročilým karcinomem prsu. V průběhu sledování dochází ke vzniku zarudnutí na zádech, které pacientku znepokojuje. Klinicky bez zvýšení kožní teploty, bez výrazného otoku, přítomny pouze začervenalé dilatace podkožního prostoru. Diferenciálně diagnosticky připadá v úvahu kromě karcinomové lymfan-

giopatie ještě prostý lymfedém a lymfangiosarkom. Následná biopsie cílená do oblasti rozšířených cév potvrzuje karcinomovou lymfangiopatii.

Pro diagnostiku je důležitý především klinický nález a biopsie, dermoskopie v těchto případech mnoho nevyjasní, i když rozšířené a vinuté cévy upozorňují na pravděpodobnou maligní příčinu.



doc. MUDr. Vuk Fait, Csc.

Oddělení chirurgické onkologie
Masarykův onkologický ústav

Žlutý kopec 7

656 53 Brno

e-mail: inbox@vukfait.com

Obdrženo/Submitted: 25. 9. 2014



Obr. 1. Klinický nález.



Obr. 2. Dermoskopický obraz.



Když přemýšlíte
o svých pacientech
s GEP NET...

Od léčby symptomů k protinádorové terapii pacientů s GEP-NET
Prokázané 66% snížení rizika progresu nádoru oproti placebu¹



SÍLA, POSTAVENÁ NA DŮKAZECH

Sandostatin® LAR 20 mg, Sandostatin® LAR 30 mg - prášek a rozpouštědlo pro injekční suspenzi

Složení: Léčivá látka: octreotidum 20 mg nebo 30 mg. **Indikace:** Léčba pacientů s akromegalií, kteří adekvátně reagovali na léčbu Sandostatinem. Léčba pacientů s akromegalií, u kterých je chirurgická léčba nebo radioterapie nevhodná nebo neúčinná nebo v mezidobí, než nastoupí plný účinek radioterapie. Potlačení symptomů souvisejících s funkčními gastro-entero-pankreatickými endokrinními nádory: karcinoidy vyvolávajícími karcinoidní syndrom, VIPomy, glukagonomy, gastrinomy/Zollinger-Ellisonův syndrom, inzulinomy, GRFomy. Pokročilé neuroendokrinní nádory středního stěva nebo neznámé lokalizace primárního nádoru. **Dávkování:** 20 mg nebo 30 mg každé 4 týdny formou i.m. injekce hluboko do gluteálního svalu. *U pacientů s akromegalií může být při nedostatečné odpovědi na léčbu dávka zvýšena až na 40 mg každé 4 týdny. * **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na léčivou látku nebo kteroukoli pomocnou látku tohoto přípravku. **Zvláštní upozornění/opatření:** Ženy s akromegalií ve fertilním věku by měly během léčby octreotidem užívat adekvátní antikoncepci. *Během léčby octreotidem musí být sledovány funkce jater. * U pacientů dlouhodobě léčených octreotidem by měla být sledována funkce štítné žlázy. Byly hlášeny méně časté případy bradykardie. Může být nutná úprava dávkování léčivých přípravků jako jsou např. beta-blokátory, blokátory kalciového kanálu nebo látky kontrolující rovnováhu tekutin a elektrolytů. Před zahájením léčby a dále pak v 6měsíčních intervalech se doporučuje provádět UZ vyšetření žlučníku na přítomnost žlučových kamenů. Octreotid může ovlivňovat regulaci glykemie. Doporučuje se pečlivé monitorování pacientů s diabetem mellitus I. a II. typu a pacientů s inzulinomy. Octreotid může u některých pacientů měnit absorpci tuků. U některých pacientů léčených octreotidem byly pozorovány snížené hladiny vitamínu B12 a abnormální Schillingův test. **Interakce:** Zhoršené vstřebávání cyklosporinu, cimetidinu; zvýšená biologická dostupnost bromokriptinu. Octreotid může snižovat metabolickou clearance látek metabolizovaných enzymy cytochromu P450. **Těhotenství a kojení:** U těhotných a kojících žen smí být octreotid podáván jen v krajně naléhavých případech. **Nežádoucí účinky:** Velmi časté: průjem, bolesti břicha, nauzea, zácpa, nadýmání, bolesti hlavy, cholelitiáza, hyperglykemie, lokální bolest v místě injekce. Časté: dyspepsie, zvracení, nadmutí břicha, steatorea, únik stolice, změna barvy stolice, závratě, hypotyreóza, porucha funkce štítné žlázy (např. pokles TSH, pokles celkového T4 a pokles volného T4), cholecystitis, žlučový písek, hyperbilirubinemie, hypoglykemie, porušená glukózová tolerance, anorexie, zvýšené hladiny transamináz, svědění, vyrážka, alopecie, dyspnoe, bradykardie.

Podmínky uchovávání: Při teplotě 2 až 8°C (v chladničce), v původním obalu, chráněný před světlem. V den aplikace lze přípravek uchovávat při teplotě pod 25°C v původním obalu, suspenze musí být připravena bezprostředně před podáním. **Dostupné lékové formy/balení:** 1x 20 mg a 1x 30 mg (1 lahvička s lyofilizátem + 1 předplněná injekční stříkačka s rozpouštědlem).

Poznámka: Dříve než lék předepíšete, přečtěte si pečlivě úplnou informaci o přípravku. **Reg.č.:** Sandostatin LAR 20 mg: 56/125/00-C, Sandostatin LAR 30 mg: 56/126/00-C. **Datum registrace/prodloužení registrace:** 1. 3. 2000/9. 10. 2013. **Datum poslední revize textu SPC:** 29. 1. 2014. **Držitel rozhodnutí o registraci:** Novartis s.r.o., Praha, ČR.

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

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

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

doc. 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 Puzanov, Nashville

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

Čestní členové redakční rady

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

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

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

© Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně, Praha 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: predplatne@ambitmedia.cz.

Informace o podmínkách inzerce poskytuje a objednávky přijímá: Mgr. Blanka Turínová, e-mail: blanka.turinova@ambitmedia.cz, tel.: +420 724 811 983.

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

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

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

Toto číslo vychází 15. 10. 2014.




Revlimid®


Vidaza®


Abraxane®


Imnovid

Inovujeme,
abyste
mohli žít



Jsme členem

aifp


Asociace inovativního
farmaceutického průmyslu

Celgene s.r.o.
Novodvorská 994/138
142 00 Praha 4, Česká republika
Tel.: +420 241 097 500, fax: +420 241 097 600
www.celgene.eu

2014-MKT-011-CZ

Afinitor® ...a cesta může pokračovat

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

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



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

Složení: Léčivá látka: Everolimusum 5 mg nebo 10 mg. **Indikace:** Léčba postmenopauzálních žen s hormonálně pozitivním HER2 negativním pokročilým karcinomem prsu bez symptomatického viscerálního postižení s recidivou nebo progresí onemocnění po předchozí léčbě nesteroidním inhibitory aromatáz. Léčba neresekovatelných nebo metastazujících, dobře nebo středně diferencovaných pankreatických neuroendokrinních tumorů u dospělých pacientů s progresí onemocnění. Léčba pacientů s pokročilým renálním karcinomem, u kterých došlo k progresi onemocnění během VEGF-cílené terapie nebo po ní. **Dávkování:** Doporučená dávka je 10 mg jednou denně. Léčba by měla pokračovat tak dlouho, dokud je pozorován klinický přínos, nebo dokud se neobjeví nepřijatelné známky toxicity. Podávání dětem a mladistvým (<18 let) není doporučeno. U starších pacientů (≥65 let) a pacientů se zhoršenou funkcí ledvin není nutná úprava dávkování. U pacientů s mírným zhoršením funkce jater (Child-Pugh A) je doporučená dávka 7,5 mg denně, u pacientů se středním zhoršením funkce jater (Child-Pugh B) je doporučená dávka 5 mg denně, u pacientů se závažným zhoršením funkce jater (Child-Pugh C) se podávání Afinitoru v dávce 2,5 mg denně doporučuje jen v případech, kdy očekávaný prospěch převáží míru rizika. **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na léčivou látku, na jiné deriváty rapamycinu nebo na kteroukoli pomocnou látku přípravku. **Zvláštní upozornění/opatření:** U pacientů užívajících Afinitor byla popsána neléčivá 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 pneumonie, jiné bakteriální infekce, invazivní plísňové infekce a virové infekce včetně reaktivace virové hepatitidy B. Některé z těchto infekcí byly závažné a občas fatální. Před zahájením léčby by měly být předcházející infekce zcela vyléčeny. V souvislosti s užíváním everolimu byly hlášeny příznaky 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 mateřídoušku. 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 effluxní pumpy P-glykoproteinu (PgP). Při užívání Afinitoru v kombinaci s perorálně podávanými substráty CYP3A4 s úzkým terapeutickým indexem by mělo být z důvodu potenciálních lékových interakcí dbáno opatrnosti. Pacienti se vzácnými dědičnými problémy s intolerancí galaktózy, vrozeným deficitem laktázy nebo malabsorpcí glukózy a galaktózy by tento léčivý přípravek neměli užívat. Porucha hojení ran je obecným účinkem derivátů rapamycinu, včetně Afinitoru. **Interakce:** Inhibitory CYP3A4 nebo PgP, které mohou zvyšovat koncentrace everolimu v krvi: ketokonazol, itraconazol, posakonazol, vorikonazol, telithromycin, klaritromycin, nefazodon, ritonavir, atazanavir, sachinavir, darunavir, indinavir, nelfinavir, erythromycin,

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. *Pacienti současně užívající ACE inhibitory (např. ramipril) čelí zvýšenému riziku angioedému.* 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 únava. **Nežádoucí účinky:** Velmi časté: infekce, anémie, snížená chuť k jídlu, hyperglykemie, hypercholesterolemie, dysgezie, bolesti hlavy, pneumonitida, epistaxe, stomatitida, průjem, nauzea, zvracení, vyrážka, svědění, únava, periferní otoky, astenie, úbytek tělesné hmotnosti. Časté: trombocytopenie, neutropenie, leukopenie, lymfopenie, hypertriglyceridemie, 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, onychoklaxe, 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, 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:** 16.05.2014. **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 HR pozitivního HER2 negativního karcinomu prsu nebyla úhrada dosud stanovena.

* Všímnete 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, 5/2014

AFINITOR®
(everolimusum) tablety

NOVARTIS
ONCOLOGY

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