THE JOURNAL OF THE CZECH AND SLOVAK ONCOLOGICAL SOCIETIES

KLINICKÁ ONKOLOGIE

Z obsahu:

Molekulárně genetické vyšetření u akutní myeloidní leukemie

Molekulární genetika kolorektálního karcinomu

Klinický a funkční význam vybraných polymorfizmů *CASP8* a *CASP9* u karcinomu prsu

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

ročník 29 | 2016 | číslo 6

Léčba pacientů s NSCLC ve 2. linii[1]

Vargatef®
nintedanib

...čas na život

- **1. trojitý inhibitor angiokinázy** registrovaný pro léčbu druhé linie plicního adenokarcinomu[1]
- **Celkové přežití (OS) delší než 1 rok**[1,2]
  - 12,6 měsíců Vargatef® v kombinaci s docetaxelem vs. 10,3 měsíců monoterapie docetaxelem u pacientů s adenokarcinomem *(medián OS)*[1,2]
- **Zvladatelné nežádoucí účinky a udržení kvality života** na úrovni srovnatelné s monoterapií docetaxelem[1,2]

NSCLC = nemalobuněčný karcinom plic

Reference: 1. SPC Vargatef®, datum revize textu 9/2016. **2.** Reck M et al. Lancet Oncol. 2014;15:143-155.

Zkrácená informace o přípravku Vargatef®: Složení: Jedna tobolka obsahuje nintedanibum 100/150 mg (ve formě nintedanibi esilas). **Indikace:** Přípravek Vargatef je v kombinaci s docetaxelem indikován k léčbě dospělých pacientů s lokálně pokročilým metastazujícím nebo lokálně rekurentním nemalobuněčným karcinomem plic (NSCLC), histologicky prokázaným adenokarcinomem, po chemoterapii první linie. **Dávkování a způsob podání:** Doporučená dávka nintedanibu je 200 mg dvakrát denně podaných s odstupem přibližně 12 hodin v den 2 až 21 standardního 21denního cyklu léčby docetaxelem. Doporučená maximální denní dávka 400 mg nesmí být překročena. Tobolky přípravku Vargatef musí být užívány perorálně, pokud možno s jídlem, spolknuty celé s vodou, nesmějí se žvýkat ani drtit. Pacienti mohou pokračovat v léčbě nintedanibem po ukončení docetaxelu tak dlouho, dokud lze pozorovat přínos léčby, nebo do doby, kdy se objeví nepřijatelná toxicita. **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na nintedanib, arašídy nebo sóju nebo na kteroukoli pomocnou látku. **Zvláštní upozornění a opatření pro použití:** Průjem, který byl nejčastěji hlášeným nežádoucím účinkem, je třeba při prvních příznacích léčit adekvátní hydratací a léčivými přípravky proti průjmu, např. loperamidem, přičemž může být nutné přerušit léčbu, snížit dávku nebo ukončit léčbu přípravkem Vargatef. Nauzea a zvracení byly většinou mírné nebo středně závažné intenzity. U pacientů léčených přípravkem Vargatef v kombinaci s docetaxelem byla pozorována vyšší frekvence neutropenie stupně ≥3 dle CTCAE. Během léčby, obzvláště během kombinované léčby s docetaxelem, je třeba sledovat krevní obraz. Vzhledem ke zvýšené expozici se u pacientů s lehkou poruchou funkce jater (Child Pugh A) může zvýšit riziko nežádoucích účinků. Léčba přípravkem Vargatef se u pacientů se středně těžkou nebo těžkou poruchou funkce jater (Child Pugh B – C) nedoporučuje. Zvýšení hladin jaterních enzymů (ALT, AST, ALKP) či bilirubinu bylo ve většině případů reverzibilní. Inhibice VEGFR může být spojena se zvýšeným rizikem krvácení. U pacientů na chronické nízkodávkové terapii nízkomolekulárními hepariny nebo kyselinou acetylsalicylovou nebyla zjištěna zvýšená frekvence krvácení. Pacienty s aktivními mozkovými metastázami není doporučeno léčit přípravkem Vargatef. U pacientů léčených přípravkem Vargatef existuje zvýšené riziko venózní tromboembolie, včetně hluboké žilní trombózy. Opatrnosti je zapotřebí při léčbě pacientů se zvýšeným kardiovaskulárním rizikem. Opatrnosti je zapotřebí při léčbě pacientů po předchozí operaci břicha nebo s nedávnou anamnézou perforace dutých orgánů. Léčbu přípravkem Vargatef je proto možné zahájit nejméně 4 týdny po velkém operačním výkonu. Na základě mechanismu účinku může nintedanib narušit hojení ran. **Interakce:** Potentní induktory P-gp (např. rifampicin, karbamazepin, fenytoin a třezalka tečkovaná) mohou snižovat expozici nintedanibu. Při společném podávání s nintedanibem mohou silné inhibitory P-gp (např. ketokonazol nebo erythromycin) zvýšit expozici nintedanibu. Pravděpodobnost lékových interakcí s nintedanibem na základě CYP metabolismu je považována za nízkou. **Nežádoucí účinky:** Velmi častými nežádoucími účinky byly neutropenie, snížená chuť k jídlu, elektrolytová nerovnováha, periferní neuropatie, krvácení, průjem, zvracení, bolest břicha, zvýšení hladin jaterních testů, mukozitida a vyrážka. Častými nežádoucími účinky byly febrilní neutropenie, abscesy, sepse, dehydratace, venózní tromboembolie, hypertenze a hyperbilirubinemie. Podíl pacientů s gastrointestinální perforací byl nízký. **Zvláštní opatření pro uchovávání:** Uchovávat v původním obalu při teplotě do 25 °C, chránit před vlhkostí. **Datum poslední revize textu:** 9/2016. **Držitel rozhodnutí o registraci:** Boehringer Ingelheim International GmbH, Binger Strasse 173, 55216 Ingelheim am Rhein, Německo. **Registrační č.:** Vargatef 100 mg EU/1/14/954/001-003; Vargatef 150 mg EU/1/14/954/004. Výdej pouze na lékařský předpis. Přípravek není hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění. ▼ Tento léčivý přípravek podléhá dalšímu sledování. Před podáním se seznamte s úplnou informací o přípravku.

Materiál je určen pro odbornou veřejnost.

ZZVAR002_022016

Boehringer Ingelheim, spol. s r.o.
Na Poříčí 1079/3a, 110 00 Praha 1, www.boehringer-ingelheim.cz

LET'S WORK
ONCOLOGY FROM BOEHRINGER INGELHEIM

Boehringer Ingelheim

XLI BRNĚNSKÉ ONKOLOGICKÉ DNY

XXXI KONFERENCE PRO NELÉKAŘSKÉ ZDRAVOTNICKÉ PRACOVNÍKY

26. – 28. dubna 2017 | Veletrhy Brno

se v roce 2017 těší na Vaši účast!

Přihlaste Vaše sdělení do těchto sekcí:

Onkologická prevence a screening
Organizace a financování zdravotní péče
Epidemiologie nádorů, klinické registry, zdravotnická informatika
Vzdělávání, kvalita, bezpečnost a právní otázky v onkologické praxi
Diagnostické metody v onkologii
Radiointervenční metody
Radioterapie
Onkochirurgie
Rekonstrukční chirurgie
Systémová protinádorová léčba
Imunoonkologie
Personalizovaná medicína v onkologii
Lokální aplikace protinádorových léčiv a vakcín
Nežádoucí účinky protinádorové léčby
Paliativní péče, podpůrná a symptomatická léčba
Nutriční podpora v onkologii
Ošetřovatelská péče a rehabilitace
Psychosociální péče
Pacientské organizace a spolupráce s veřejností

Základní a aplikovaný výzkum v onkologii
Vývoj nových léčiv, farmakoekonomika, klinická farmacie v onkologii
Nádory prsu
Nádory kůže a maligní melanom
Nádory jícnu a žaludku
Nádory tlustého střeva a konečníku
Nádory slinivky, jater a žlučových cest
Neuroendokrinní a endokrinní tumory
Sarkomy
Nádory hlavy a krku
Nádory plic, průdušek a pleury
Gynekologická onkologie
Uroonkologie
Nádory nervového systému
Hematoonkologie
Hereditární nádorové syndromy
Nádory dětí, adolescentů a mladých dospělých
Jiné malignity (ostatní, jinde nezařaditelné malignity)
Varia (ostatní, jinde nezařaditelné příspěvky)

Připravujeme pro Vás zajímavý odborný a doprovodný program, včetně několika soutěží!

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

Expertní indikační komise

Využijte možnosti získat druhý názor. Zašlete **do 3. 4. 2017** Vaše případy k posouzení komisím pro nádory prsu, zažívacího traktu a urologické malignity.

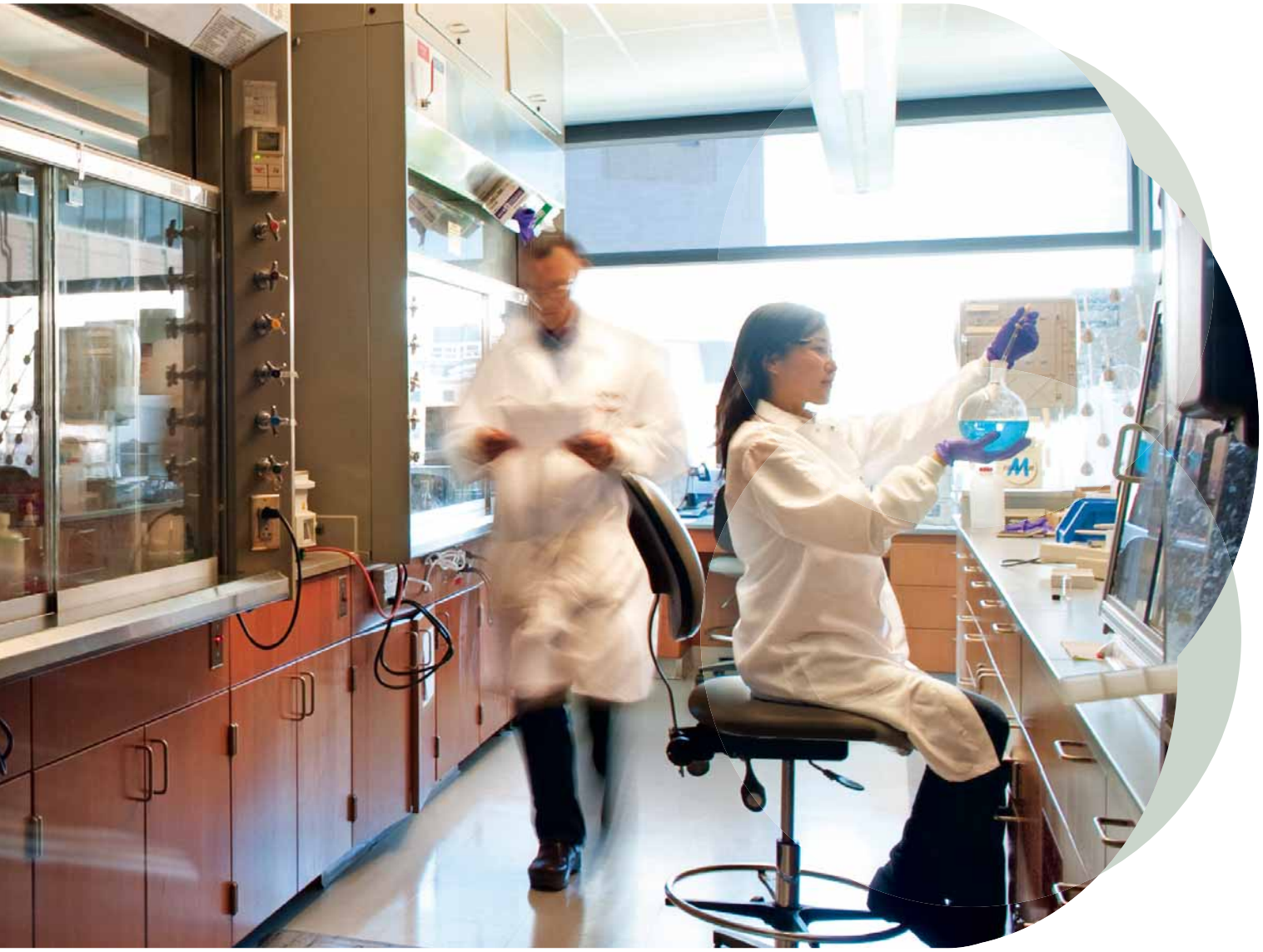
Podrobnější informace naleznete od 19. 12. 2016 na www.onkologickedny.cz.

Poznamenejte si!

Místo a datum konání: Veletrhy Brno, 26.–28. dubna 2017.

Registrace je možná pouze elektronicky a bude zahájena 2. 1. 2017.
Poslední termín k registraci aktivní účasti je 20. 2. 2017.
Ukončení on-line registrace k pasivní účasti je 3. 4. 2017.

Dotazy: bod@mou.cz



PŘEVRATNÉ OBJEVY NOVÝCH LÉKŮ VZNIKAJÍ V LABORATOŘÍCH,

ALE RODÍ SE UŽ V NAŠICH SRDCÍCH.

Přes 100 let pohání zaměstnance MSD společná touha: vyvíjet léky a vakcíny, které zlepšují miliony lidských životů. S podobnou péčí se věnujeme novým veterinárním přípravkům. Uvědomujeme si však, že je před námi ještě dlouhá cesta, proto klademe důraz na výzkum a vývoj. Stejné úsilí věnujeme zlepšování dostupnosti lékařské péče a spolupráci s těmi, kteří sdílejí naše nadšení pro zdravější svět. Víme, že to zvládneme. Dáváme do toho vše.

Chcete vědět více o našem poslání? Navštivte www.msd.cz

MSD *Be well*

125 YEARS SINCE 1891

Merck Sharp & Dohme s.r.o., Evropská 2588/33a, 160 00 Praha 6, tel.: +420 233 010 111, email: dpoc_czechslovak@merck.com
08-2018-CORP-1192224-0000

Editorial

V tomto čísle Klinické onkologie si můžeme se zájmem přečíst přehledový článek autorů Janečkové et al z Interní hematologické a onkologické kliniky FN Brno, který uceleně shrnuje současné poznatky o molekulární genetice akutní myeloidní leukemie (AML).

AML je nejčastější formou akutní leukemie v dospělém věku. Jde o klonální nádorovou proliferaci myeloidních prekurzorů v kostní dřeni, jejímž důsledkem je nahrazení normální krvetvorné tkáně leukemickým infiltrátem, selhání normální krvetvorby, často (ale ne vždy) provázené vyplavováním leukemických blastů do periferní krve. Výsledkem je vždy anémie, trombocytopenie, neutropenie; často infekce, koagulopatie; někdy projevy leukostatického postižení orgánů. Anamnéza onemocnění bývá krátká, k úmrtí může dojít nejčastěji následkem infektu nebo krvácení.

Snadná dostupnost nádorové tkáně – prostý odběr krve nebo aspirace kostní dřeně – činí z AML ideální cíl bádání na úrovni molekulárních metod. Již řadu let tvoří základ prognostické klasifikace AML konvenční nádorová cytogenetika – onemocnění s t(8;21) nebo inv(16) mají relativně příznivou prognózu, zatímco komplexní změny karyotypu -5, -7 patří mezi klasické změny se špatnou prognózou. Největší skupinu onemocnění tvoří AML se středním rizikem, kam patří normální karyotyp a některé další změny. Přítomnost mutací různých genů vede k rozdělení AML se středně rizikovou cytogenetikou na další podskupiny – sem patří zejména mutace genů *NPM1* a *FLT3*. Následuje v posledních letech plejáda dalších mutovaných genů, přehledně popsaných v článku Janečkové et al. U každé z těchto aberací se ptáme: jaký má vztah k patogenezi onemocnění? Jaký má vztah k ostatním známým prognostickým faktorům? Jak ovlivňuje možnost dosažení remise onemocnění a riziko relapsu? Je vhodným cílem pro sledování minimální reziduální nemoci? Je produkt mutace ovlivnitelný farmakologicky? Zodpovězení těchto otázek vyžaduje ucelenou, jednotně léčenou a dostatečně velkou kohortu pacientů a nezbytný čas na sledování a záznam statisticky relevantního počtu událostí. S rostoucí komplexností, počtem kombinací a „vzácností" jednotlivých podskupin zákonitě klesá praktická zodpověditelnost příslušných otázek. Rozvoj a dostupnost sekvenačních metod v blízké budoucnosti pravděpodobně přinesou další akceleraci poznání, možná ne nepodobnou situaci po objevu dalekohledu či mikroskopu, statistické limity dané počtem pacientů a časem potřebným k záznamu událostí se nicméně nemění.

Je možné, že jsme se na poli AML dostali na hranici smysluplnosti dalšího zpřesňování prognostických schémat. Ta jsou navíc validní v kontextu souborů pacientů, málo vypovídají o individuálních osudech – podobně jako když předvolební průzkumy neurčí výsledek konkrétních voleb, jen pravděpodobnost výskytu určitého výsledku.

Další smysl odhalování hlubších genetických změn, jejich kombinací a přítomnosti minoritních klonů v rámci jednoho nádoru vidíme v tom, že snad umožní odhalit cílenou léčbou ovlivnitelné pochody. V současné době se blíží do klinického použití inhibitory některých proteinů kódovaných některými z častěji se vyskytujících mutací *(FLT3, IDH, C-KIT)*. Zda v budoucnosti budeme léčit pacienty místo chemoterapie koktejly inhibitorů nebo zda průlom nastane rozvojem imunoterapie, buněčné terapie, genové terapie či nějakou dosud neznámou metodou, nevíme. První kroky jsou ale poznání mechanizmů onemocnění, dobrá a podrobná analýza genetických změn mezi ně patří.

MUDr. Jan Vydra
Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

Lynparza™
olaparib
capsules 50 mg

Mám rakovinu vaječníku.

OTESTUJTE MĚ

na BRCAm.

ZAČNĚTE MĚ LÉČIT

přípravkem Lynparza (olaparib).

Lynparza, jako udržovací léčba, prokázala významné prodloužení PFS (11,2 vs. 4,3 měs.; HR = 0,18; 95 % IS 0,10–0,31; P < 0,00001) u pacientek s relabujícím karcinomem vaječníku s BRCA mutací citlivým na léčbu platinou.[1]

Otestujte každou svou pacientku s karcinomem vaječníku* na přítomnost mutace BRCA a najděte tu, která bude mít užitek z léčby přípravkem Lynparza.

ZKRÁCENÁ INFORMACE O PŘÍPRAVKU LYNPARZA®

▼ Tento léčivý přípravek podléhá dalšímu sledování.

Kvalitativní a kvantitativní složení: Jedna tvrdá tobolka obsahuje olaparibum 50 mg. **Terapeutické indikace:** Přípravek Lynparza je indikován v monoterapii k udržovací léčbě dospělých pacientek s relabujícím high grade serózním epiteliálním nádorem vaječníku, vejcovodu, nebo primárně peritoneálním s mutací BRCA (zárodečnou a/nebo somatickou) citlivým na léčbu platinou, u nichž došlo k relapsu a které odpovídají (úplně nebo částečně) na chemoterapii založenou na platině. **Dávkování a způsob podání:** Přítomnost mutace genu (buď zárodečná nebo v nádoru) náchylnosti k rakovině prsu (BRCA) musí být u pacientky potvrzena před zahájením léčby přípravkem Lynparza. Doporučená dávka přípravku Lynparza je 400 mg (osm tobolek) dvakrát denně, což odpovídá celkové denní dávce 800 mg. Léčba pacientek přípravkem Lynparza má být zahájena nejpozději 8 týdnů po podání poslední dávky režimu s deriváty platiny. V případě výskytu nežádoucích účinků, jako je nauzea, zvracení, průjem nebo anémie, může být léčba přerušena a lze zvážit snížení dávkování. Doporučuje se snížit dávku na 200 mg 2x denně. Pokud je potřeba výsledné dávkování ještě snížit, může být zváženo snížení na 100 mg 2x denně.Souběžné podávání silných a středně silných inhibitorů CYP3A se nedoporučuje a má se uvažovat o alternativních látkách. Pokud musí být silné a středně silné inhibitory CYP3A podávány souběžně, doporučená snížená dávka olaparibu je 150 mg dvakrát denně (ekvivalentní celkové denní dávce 300 mg) se silným inhibitorem CYP3A nebo 200 mg dvakrát denně (ekvivalentní celkové denní dávce 400 mg) se středně silným inhibitorem CYP3A. Přípravek Lynparza může být podáván pacientkám s lehkou poruchou funkce ledvin (clearance kreatininu 51 až 80 ml/min) bez úpravy dávkování. U pacientek se středně těžkou poruchou funkce ledvin (clearance kreatininu 31 až 50 ml/min) je doporučená dávka přípravku Lynparza 300 mg dvakrát denně (to odpovídá celkové denní dávce 600 mg). Použití přípravku Lynparza se nedoporučuje u pacientek s těžkou poruchou funkce ledvin nebo v konečném stádiu renální nemoci (clearance kreatininu ≤ 30ml/min), protože nejsou k dispozici údaje o těchto pacientkách. Použití přípravku Lynparza u pacientek s poruchou funkce jater (hladina sérového bilirubinu 1,5krát vyšší než horní hranice normálních hodnot) není doporučeno vzhledem k tomu, že bezpečnost a účinnost nebyla stanovena. Populační analýza dostupných dat neodhalila žádné údaje, že by hmotnost pacientky ovlivňovala plazmatické koncentrace olaparibu, a neprokázala vztah mezi plazmatickými koncentracemi olaparibu a věkem pacientky. Přípravek Lynparza je určen k perorálnímu podání. **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na léčivou látku nebo na kteroukoli pomocnou látku. Kojení v průběhu léčby a 1 měsíc po podání poslední dávky. **Zvláštní upozornění:** Hematologická toxicita: Pokud se rozvine těžká hematologická toxicita nebo potřeba krevní transfuze, léčba přípravkem Lynparza má být přerušena a má být provedeno odpovídající hematologické vyšetření. Myelodysplastický syndrom/akutní myeloidní leukémie (MDS/AML): Pokud je v průběhu léčby přípravkem Lynparza potvrzen rozvoj MDS a/nebo AML, pacientka má být odpovídajícím způsobem léčena. Léčba přípravkem Lynparza má být přerušena v případě, že je doporučeno nasadit další protinádorovou léčbu. Přípravek Lynparza se nemá podávat v kombinaci s jinou protinádorovou léčbou. Pneumonitida: Pokud se u pacientek objeví nové nebo se zhorší stávající respirační příznaky, jako například dušnost, kašel a horečka, nebo se objeví abnormality na radiologických snímcích, léčba přípravkem Lynparza má být přerušena a pacientka by měla být okamžitě vyšetřena. Pokud je pneumonitida potvrzena, léčba přípravkem Lynparza má být přerušena a pacientka má být odpovídajícím způsobem léčena. Embryofetální toxicita: Vzhledem k mechanizmu účinku (inhibice PARP), může olaparib podávaný těhotným ženám způsobit poškození plodu. **Interakce:** Souběžné podávání olaparibu se silnými a středně silnými inhibitory CYP3A se nedoporučuje. Pokud se silné nebo středně silné inhibitory CYP3A musí podávat souběžně, dávka olaparibu se má snížit. Souběžné podávání olaparibu se silnými induktory CYP3A se nedoporučuje. V případě, že pacientka užívající olaparib má být léčena silným induktorem CYP3A, předepisující lékař si má být vědom, že účinnost olaparibu může být zásadně snížena. V případě, že pacientka, která užívá olaparib, má být léčena inhibitory P-gp, je třeba pečlivě monitorovat nežádoucí účinky olaparibu a doporučuje se korigovat tyto nežádoucí účinky snížením dávky. **Těhotenství a kojení:** Přípravek Lynparza se nesmí podávat v průběhu těhotenství a ženám ve fertilním věku, které nepoužívají spolehlivou antikoncepci v průběhu léčby a dále ještě 1 měsíc po podání poslední dávky přípravku Lynparza. Vzhledem k tomu, že nelze vyloučit snížení expozice substrátům pro CYP3A olaparibem cestou enzymové indukce, může být účinnost hormonální antikoncepce snížena při souběžném užívání olaparibu. Proto je třeba zvážit dodatečnou nehormonální metodu antikoncepce a pravidelné provádění těhotenských testů v průběhu léčby. Přípravek Lynparza je kontraindikován v průběhu kojení a ještě 1 měsíc po podání poslední dávky. **Nežádoucí účinky:** Monoterapie olaparibem byla provázena nežádoucími účinky nejčastěji mírné nebo střední závažnosti, které ve většině případů nevedly k nutnosti přerušit léčbu. Nejčastěji pozorovanými nežádoucími účinky v klinických studiích u pacientek užívajících monoterapii olaparibem (≥ 10 %) byly nauzea, zvracení, průjem, dyspepsie, únava, bolesti hlavy, poruchy chuti, snížená chuť k jídlu, závratě, anémie, neutropenie, lymfopenie, zvýšení středního objemu erytrocytů a zvýšený kreatinin. **Zvláštní opatření pro uchovávání:** Uchovávejte při teplotě do 30°C. **Balení přípravku:** Plastová HDPE lahvička s dětským bezpečnostním uzávěrem obsahující 112 tvrdých tobolek. Balení obsahuje 448 tobolek (4 lahvičky po 112 tobolkách). **Držitel rozhodnutí o registraci:** AstraZeneca AB, SE 151 85 Södertälje, Švédsko. **Registrační číslo:** EU/1/14/959/001. **Datum revize textu SPC:** 21.10.2016. **Referenční číslo dokumentu:** 21102016API

PLYN0058CZ112016

Výdej léčivého přípravku vázán na lékařský předpis. Přípravek není 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., U Trezorky 921/2, 15800 Praha 5, tel.: +420 222 807 111, fax: +420 227 204 748, na www.astrazeneca.cz nebo na webových stránkách Evropské agentury pro léčivé přípravky http://www.ema.europa.eu/.

Registrovaná ochranná známka LYNPARZA je majetkem AstraZeneca plc. © AstraZeneca 2016

* high-grade serózní epiteliální nádor vaječníku, vejcovodu, nebo primárně peritoneální

Literatura:

1. Ledermann J 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. The Lancet Oncology [online]. 2014, vol. 15, issue 8, s. 852-861 [cit. 2015-04-03]. DOI: 10.1016/s1470-2045(14)70228-1.

AstraZeneca

Obsah | Contents

Editorial 405

PŘEHLEDY | REVIEWS

Molekulárně genetické vyšetření u akutní myeloidní leukemie 411
Molecular Genetic Testing for Acute Myeloid Leukemia
Janečková V., Semerád L., Ježíšková I., Dvořáková D., Čulen M., Šustková Z., Mayer J., Ráčil Z.

Molekulární genetika kolorektálního karcinomu 419
Molecular Pathogenesis of Colorectal Cancer
Král J., Slyšková J., Vodička P., Špičák J.

Zapojení PIWI-interagujících RNA do procesů kancerogeneze prostřednictvím regulace genové exprese 428
Involvement of PIWI-interacting RNAs in Cancerogenesis via the Regulation of Gene Expression
Rybecká S., Štítkovcová K., Vychytilová-Faltejsková P., Slabý O.

PŮVODNÍ PRÁCE | ORIGINAL ARTICLES

Quality of Life, Anxiety and Depression in Patients with Differentiated Thyroid Cancer under Short Term Hypothyroidism Induced by Levothyroxine Withdrawal 439
Kvalita života, úzkost a deprese u pacientů s diferencovaným karcinomem štítné žlázy během krátkodobé hypotyreózy indukované vysazením levothyroxinu
Badihian S., Jalalpour P., Mirdamadi M., Moslehi M.

Klinický a funkční význam vybraných polymorfizmů *CASP8* a *CASP9* u karcinomu prsu 445
Clinical and Functional Importance of Selected *CASP8* and *CASP9* Polymorphisms in Breast Carcinoma
Brynychová V., Václavíková R., Kubáčková K., Mrhalová M., Kodet R., Rauš K., Vrána D., Gatěk J., Bendová M., Souček P.

KAZUISTIKY | CASE REPORTS

Pacientka s primárním intraventrikulárním gliosarkomem s dlouhodobým přežíváním – kazuistika 454
A Patient with Primary Intraventricular Gliosarcoma and Long-term Survival – a Case Report
Kalita O., Zlevorová M., Megová M., Vaverka M., Trojanec R., Tučková L.

SDĚLENÍ | COMMUNICATIONS

Intervenční cvičební program pro onkologické pacientky s karcinomem prsu 461
Intervention Exercise Program for Cancer Patients with Breast Cancer
Pokorná A., Střeštíková R.

AKTUALITY V ONKOLOGII | ONCOLOGY HIGHLIGHTS

Průvodce mladého onkologa infuzní terapií a výživou 465
Díl 6 – Hypernatremie. Diagnostika nutričního rizika. Závěr
Beneš P.

Konsenzuální doporučené postupy ESMO pro léčbu pacientů s metastatickým kolorektálním karcinomem 469
Tlapáková J.

AKTUALITY Z ODBORNÉHO TISKU | REPORTS FROM THE LITERATURE 471

PERSONALIA | PERSONAL NEWS

Blahopřání k narozeninám prof. MUDr. Vlastimilu Ščudlovi, CSc. 475
Hájek R.

RŮZNÉ | VARIOUS

Onkologie v obrazech 476
Méně obvyklý způsob diagnostiky karcinomu prsu
Koukalová R., Nenutil R., Řehák Z.

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

MSD

Imunoonkologie mění vyhlídky v léčbě nádorů

OPDIVO®
(nivolumab)

Opdivo významně prodlužuje život:

- pacientům s pokročilým maligním melanomem bez mutace BRAF[1,2,4]
- předléčeným pacientům s pokročilým NSCLC[3,4,5]
- předléčeným pacientům s pokročilým renálním karcinomem[4,6]

▼ Tento léčivý přípravek podléhá dalšímu sledování.

ZKRÁCENÁ INFORMACE O PŘÍPRAVKU
Název přípravku: OPDIVO 10 mg/ml koncentrát pro infuzní roztok
Kvalitativní a kvantitativní složení: Nivolumabum 10 mg v 1 ml koncentrátu. **Indikace:*** Melanom: v monoterapii nebo v kombinaci s ipilimumabem k léčbě pokročilého (neresekovatelného nebo metastatického) melanomu u dospělých. Nemalobuněčný karcinom plic (NSCLC): k léčbě lokálně pokročilého nebo metastatického NSCLC po předchozí chemoterapii u dospělých. Renální karcinom: jako monoterapie k léčbě pokročilého renálního karcinomu po předchozí terapii u dospělých. **Dávkování:** V monoterapii: dávka 3 mg/kg podávaná i.v. infuzí po dobu 60 minut každé dva týdny; v kombinaci s ipilimumabem: 1 mg/kg nivolumabu i.v. infuzí po dobu 60 minut s ipilimumabem 3 mg/kg i.v. infuzí po dobu 90 minut každé 3 týdny u prvních 4 dávek, v další fázi nivolumab i.v. infuzí po dobu 60 minut každé 2 týdny. Léčba má vždy pokračovat, dokud je pozorován klinický přínos nebo dokud ji pacient snáší. Způsob podání: Pouze k intravenóznímu podání, jako intravenózní infuze po dobu 60 minut. **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na léčivou látku nebo na kteroukoli pomocnou látku. **Zvláštní upozornění:*** Nivolumab je spojen s imunitně podmíněnými nežádoucími účinky. Pacienti mají být průběžně sledováni (min. do 5 měsíců po poslední dávce). Podle závažnosti NÚ má být nivolumab vysazen a mají se podat kortikosteroidy. Po zlepšení se musí dávka kortikosteroidů snižovat postupně po dobu nejméně 1 měsíce. V případě závažných, opakujících se nebo jakýchkoli život ohrožujících imunitně podmíněných NÚ musí být nivolumab trvale vysazen. U pacientů s výchozím skóre fyzické aktivity ≥ 2, s aktivními mozkovými metastázami, očním melanomem, autoimunitním onemocněním, symptomatickým intersticiálním plicním onemocněním a u pacientů, kteří již užívali systémová imunosupresiva, je třeba přípravek používat jen s opatrností. **Interakce:** Nivolumab je humánní monoklonální protilátka, není tedy metabolizován enzymy cytochromu P450 (CYP) nebo jinými enzymy metabolizujícími léky a nepředpokládá se, že inhibice nebo indukce těchto enzymů současně podávanými přípravky bude mít dopad na farmakokinetiku nivolumabu. Vzhledem k potenciální interferenci systémových kortikosteroidů nebo jiných imunosupresiv s farmakodynamickou aktivitou nivolumabu je třeba se jejich podávání na počátku, před zahájením léčby, vyhnout. Systémové kortikosteroidy nebo jiná imunosupresiva lze nicméně použít k léčbě imunitně podmíněných nežádoucích účinků. **Těhotenství a kojení:** Nivolumab se nedoporučuje během těhotenství a také fertilním ženám, které nepoužívají účinnou antikoncepci, pokud klinický přínos nepřevyšuje možné riziko. Není známo, zda se nivolumab vylučuje do lidského mléka. Na základě posouzení prospěšnosti kojení pro dítě a prospěšnosti léčby pro matku je nutno rozhodnout, zda přerušit kojení nebo přerušit léčbu nivolumabem. **Nežádoucí účinky:*** Velmi časté: únava, vyrážka, svědění, průjem a nauzea, snížená chuť k jídlu, zvýšení AST, ALT, alkalické fosfatázy, lipázy, amylázy, kreatininu, hypokalcémie, lymfopenie, leukopenie, trombocytopenie, anemie, hyperkalcemie, hyperkalemie, hypokalemie, hypomagnezemie, hyponatremie; u kombinace s ipilimumabem i hypotyreóza, bolest hlavy, kolitida, zvracení, bolest břicha, artralgie, horečka, a zvýšený celkový bilirubin. Další podrobnosti k NÚ, zvláště imunitně podmíněným, viz SPC. **Předávkování:** V případě předávkování musí být pacienti pečlivě monitorováni s ohledem na příznaky nežádoucích účinků a musí se okamžitě zahájit vhodná symptomatická léčba. **Uchovávání:** Uchovávejte v chladničce (2 °C – 8 °C) v původním obalu, aby byl přípravek chráněn před světlem. Chraňte před mrazem. **Balení:** 4 ml nebo 10 ml koncentrátu v 10ml injekční lahvičce s uzávěrem a tmavě modrým, resp. šedým odklápěcím uzávěrem. **Velikost balení:** 1 injekční lahvička. **Držitel rozhodnutí o registraci:** Bristol-Myers Squibb EEIG, Bristol-Myers-Squibb House, Uxbridge Business Park, Sanderson Road, Uxbridge, MiddlesexUB8 1DH, Velká Británie. **Registrační číslo:** EU/1/15/1014/001-002. **Datum první registrace:** 19. 6. 2015. **Datum poslední revize textu:** květen 2016.
Výdej léčivého přípravku je vázán na lékařský předpis. Přípravek není hrazen z veřejného zdravotního pojištění. Podrobné informace o tomto přípravku jsou dostupné na adrese zástupce držitele rozhodnutí o registraci v ČR: Bristol-Myers Squibb spol. s r.o., Budějovická 778/3, 140 00 Praha 4, www.b-ms.cz. Před předepsáním se seznamte s úplnou informací o přípravku.

*Všimněte si, prosím, změn v Souhrnu údajů o přípravku.

1. Weber, J.S. et al. Nivolumab versus chemotherapy in patients with advanced melanoma who progressed after anti-CTLA-4 treatment: a randomized, controlled, open-label, phase 3 trial. Lancet Oncol 2015; 16: 375–84.
2. Robert, C. et al. Nivolumab in Previously Untreated Melanoma without BRAF Mutation. N Engl J Med 2015;372:320-30.
3. Brahmer J. et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Squamous-Cell Non-Small-Cell Lung Cancer. N Engl J Med. 2015 Jul 9;373(2):123-35.
4. Opdivo® Souhrn údajů o přípravku, 2016
5. Borghaei H. et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer. N Engl J Med. 2015;373(17):1627-39.
6. Motzer, J.R. et al. Nivolumab versus Everolimus in Advanced Renal-Cell Carcinoma. N Engl J Med 2015; 373:1803-1813

1506CZ16PR06886-01, datum schválení 1. 6. 2016.

Bristol-Myers Squibb

10 let biosimilárních přípravků na trhu

Společnost SANDOZ je průkopníkem ve vývoji biosimilárních přípravků:

- První registrovaný přípravek Evropskou lékovou agenturou (EMA) – Omnitrope® (somatropin)[1]
- První registrovaný přípavek v USA Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv (FDA) – Zarzio® (filgrastim)[2*]
- 10ti leté zkušenosti s biosimilars v klinické praxi potvrzují jejich kvalitu, bezpečnost a účinnost[3]
- Biosimilární přípravky umožňují podání nákladné biologické léčby více pacientům[4]

Zkrácená informace o přípravku Omnitrope 5 mg/1,5 ml injekční roztok, Omnitrope 10 mg/1,5 ml injekční roztok, Omnitrope 15 mg/1,5 ml injekční roztok:
Název přípravku: Omnitrope 5 mg/1,5 ml, Omnitrope 10 mg/1,5 ml, Omnitrope 15 mg/1,5 ml. **Složení:** Jeden ml roztoku obsahuje somatropinum 3,3 mg (10 IU) nebo 6,7 mg (20 IU) nebo 10 mg (30 IU). Jedna zásobní vložka obsahuje 1,5 ml, což odpovídá 5 mg, 10 mg nebo 15 mg somatropinu. **Indikace:** *Kojenci, děti a dospívající:* Porucha růstu způsobená nedostatečnou sekrecí růstového hormonu (GHD). Poruchy růstu spojené s Turnerovým syndromem, chronickou ledvinovou nedostatečností. Porucha růstu (SDS tělesné výšky < 2,5 a upravená hodnota SDS podle rodičů < 1) u dětí/dospívajících malého vzrůstu, které se narodily malé vzhledem k SGA s porodní hmotností a/nebo délkou pod 2 směrodatné odchylky (SD), které nevykázaly vyrovnání růstu (hodnota SDS rychlosti růstu (HV) < 0 během posledního roku) do věku 4 let ani později. Praderův-Williho syndrom, ke zlepšení tělesného růstu a stavby těla. *Dospělí:* Substituční léčba při výrazném nedostatku růstového hormonu. *Začátek v dospělosti:* závažný nedostatek růstového hormonu spojený s nedostatky více hormonů jako následek prokázaného hypotalamického nebo hypofyzárního onemocnění a kteří měli nedostatek nejméně jednoho hormonu hypofýzy, s výjimkou prolaktinu. *Začátek v dětství:* nedostatek růstového hormonu v dětství způsobený kongenitálními, genetickými, získanými nebo idiopatickými případy. U pacientů se začátkem GHD v dětství by se mělo opakovat vyhodnocení sekreční kapacity růstového hormonu po ukončení longitudinálního růstu. U pacientů se zvýšenou pravděpodobností perzistentního GHD, tj. s kongenitální příčinou nebo sekundárním GHD z důvodu hypotalamického nebo hypofyzárního onemocnění nebo inzultu, se za dostatečný průkaz hlubokého GHD považuje koncentrace inzulinu podobného růstovému faktoru-I (IGF-I) SDS < 2 při léčbě růstovým hormonem po dobu alespoň 4 týdnů. **Dávkování a způsob podání:** Léčbu somatropinem by měli zahájit a sledovat lékaři s odpovídající kvalifikací a zkušenostmi s diagnózou a léčbou pacientů s poruchami růstu. *Pediatrická populace:* viz dávkovací tabulka dle indikace a hmotnosti pacienta v plné verzi SPC. *Dospělí:* U pacientů, kteří pokračují v léčbě po GHD v dětství je doporučená počáteční dávka 0,2 – 0,5 mg denně. U pacientů se začátkem GHD v dospělosti je zahájovací dávka 0,15 - 0,3 mg denně. Dávka je zvyšována podle koncentrace IGF-I. V obou případech je cílem léčby dosažení koncentrace insuline-like growth faktoru (IGF-I) v rozmezí 2 SDS od průměru přepočteného podle věku. Podrobné isntrukce a další informace k dávkování viz plná verze SPC. **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na léčivou látku nebo na kteroukoli pomocnou látku tohoto přípravku. Aktivní nádorové onemocnění. Uzavřené epifýzy u dětí. Pacienti s těžkým akutním onemocněním s komplikacemi po operaci na otevřeném srdci, operaci břišní dutiny, vícečetným poraněním, akutním respiračním selháním nebo podobných stavech nesmí být somatropinem léčeni. **Zvláštní upozornění a opatření pro použití:** Somatropin může snižovat senzitivitu na inzulin. Růstový hormon zvyšuje extratyreoidální konverzi T4 na T3, která může vést ke snížení koncentrace T4 a zvýšení koncentrace T3 v séru. Benigní intrakraniální hypertenze. Malé procento pacientů může vytvářet protilátky proti přípravku Omnitrope. Akutní onemocnění v kritickém stavu. PWS. Ačkoli je pankreatitida u dětí vzácná, měla by být zvažována u dětí léčených somatropinem, u nichž se objevila bolest břicha. Další upozornění viz plná verze SPC. **Interakce:** Glukokortikoidy. Látky metabolizované cytochromem P 450 3A4 (např. pohlavní steroidy, kortikosteroidy, antikonvulziva, cyklosporin). **Těhotenství a kojení:** Podávání somatropinu se v těhotenství a u žen ve fertilním věku, které nepoužívají antikoncepci, nedoporučuje. Při podávání přípravku v období kojení je třeba opatrnosti. **Účinky na schopnost řídit a obsluhovat stroje:** Žádný nebo zanedbatelný vliv. **Nežádoucí účinky:** Reakce v místě injekce, artralgie, parestézie, benigní intrakraniální hypertenze, myalgie, periferní edém, syndrom karpálního tunelu, muskuloskeletální ztuhlost. **Uchovávání:** V původním obalu chlazené (2 °C – 8 °C). Chraňte před mrazem. **Druh obalu a velikost balení:** 1,5 ml roztoku v zásobní vložce (z bezbarvého skla typu I) se silikonem potaženým brombutylovým pístem na jednom konci a brombutylovým terčíkem a s hliníkovým uzávěrem na druhém konci. Velikosti balení 1, 5 a 10. **Doba použitelnosti:** Omnitrope 5 mg/1,5 ml; 15 mg/1,5 ml: 2 roky. Omnitrope 10 mg/ 1,5 ml 18 měsíců. **Držitel rozhodnutí o registraci:** Sandoz GmbH, A-6250 Kundl, Rakousko. **Registrační číslo:** EU/1/06/332/004-018. **Datum registrace/prodloužení registrace:** 12.4.2006/12.4.2011. **Datum poslední revize textu:** 02/2015.

Zkrácená informace o přípravku Zarzio®:
Název přípravku: Zarzio 30 MU/0,5 ml a Zarzio 48 MU/0,5 ml. **Složení:** 1 ml roztoku obsahuje 60 resp. 96 milionů jednotek (MU) [odpovídá 600 resp. 960 mikrogramům (μg)] filgrastimu – rekombinantní methionylovaný humánní faktor stimulující kolonie granulocytů (G-CSF, granulocyte-colony stimulating factor) produkovaný v E. coli rekombinantní DNA-technologií. 1 předplněná injekční stříkačka obsahuje 30 resp. 48 milionů jednotek (MU) (odpovídá 300 resp. 480 μg) filgrastimu v 0,5 ml. **Indikace:** Zkrácení trvání neutropenie a snížení incidence febrilní neutropenie u pacientů léčených obvyklými cytotoxickými chemoterapeutiky pro malignitu (s výjimkou chronické myeloidní leukémie a myelodysplastických syndromů) a zkrácení doby trvání neutropenie u pacientů podstupujících myeloablativní terapii následovanou transplantací kostní dřeně, u nichž se předpokládá riziko prodloužené těžké neutropenie. U dospělých a dětí léčených cytotoxickými chemoterapeutiky je bezpečnost a účinnost filgrastimu podobná. Mobilizace periferních progenitorových kmenových buněk (PBPC, peripheral blood progenitor cells). U dětí nebo dospělých s těžkou kongenitální, cyklickou nebo idiopatickou neutropenií s absolutním počtem neutrofilů (ANC, absolute neutrophil count) ≤0,5 x 10⁹/l, a s těžkými anebo opakovanými infekcemi v anamnéze, je indikováno dlouhodobé podávání filgrastimu, aby se zvýšily počty neutrofilů a aby se snížila incidence a zkrátilo trvání příhod souvisejících s infekcí. Léčba persistující neutropenie (ANC ≤1,0 x 10⁹/l) u pacientů s pokročilou infekcí HIV, aby se snížilo riziko bakteriálních infekcí, pokud není vhodné zvolit jiné možnosti léčby neutropenie. **Dávkování a způsob podání:** Terapie filgrastimem se provádí pouze ve spolupráci s onkologickým centrem, které má zkušenosti s léčbou G-CSF a s hematologií, a které má potřebné diagnostické vybavení. Procedury mobilizace a aferézy je třeba provádět ve spolupráci s onkologicko-hematologickým centrem, které má v tomto směru přijatelné zkušenosti a kde je možné přesně provádět monitorování hemopoetických progenitorových kmenových buněk. Obvykle používaná cytotoxická chemoterapie: Doporučená dávka filgrastimu je 0,5 MU/kg/denně (5 μg/kg/den). První dávka filgrastimu se má podat nejméně 24 hodin po cytotoxické chemoterapii a nejméně 24 hodin po transfuzi kostní dřeně. Každodenní podávání filgrastimu má pokračovat, dokud není překročena doba očekávaného nejhlubšího poklesu počtu neutrofilů a dokud se počet neutrofilů nevrátí do normálního rozsahu. Po obvykle používané chemoterapii solidních tumorů, lymfomů a lymfoidních leukémií je očekávaná doba trvání léčby, potřebná pro splnění těchto kritérií, až 14 dní. Po indukčním a konsolidačním léčení akutní myeloidní leukémie může být trvání léčby podstatně delší (až 38 dní) v závislosti na typu, dávce a schématu podávání použitého cytotoxického chemoterapeutika. U pacientů léčených cytotoxickou chemoterapií je v typickém případě vidět přechodný vzestup počtu neutrofilů za 1–2 dny po zahájení terapie filgrastimem. Pro trvalou terapeutickou odpověď se však terapie filgrastimem nemá ukončit dříve, než byla překročena očekávaná doba nejhlubšího poklesu a než se počet neutrofilů opět vrátí do normálního rozmezí. Předčasné přerušení terapie filgrastimem, před dobou očekávaného nejhlubšího poklesu počtu neutrofilů, se nedoporučuje. Filgrastim naředěný v 5% roztoku glukózy se může podávat jako každodenní subkutánní injekce nebo jako každodenní intravenózní infuze trvající alespoň 30 minut. Ve většině případů se dává přednost subkutánní aplikaci. Podrobnosti a způsob podání viz plná verze SPC. **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na léčivou látku nebo na kteroukoli pomocnou látku. **Zvláštní upozornění:** Filgrastim se nesmí použít ke zvýšení dávky cytotoxického chemoterapeutika nad stanovené dávkovací režimy, nesmí se podávat pacientům s těžkou kongenitální neutropeni, u kterých se vyvine leukémie nebo kteří mají průkaz vývoje leukémie. U pacientů léčených filgrastimem byla hlášena hypersenzitivita, včetně anafylaktických reakcí. Existuje i zde možnost imunogenicity. Zvláštní upozornění se dále týkají splenomegalie a ruptury sleziny; leukocytózy; rizik spojených se zvýšenými dávkami chemoterapeutik; mobilizace PBPC; krize srpkovité anemie. Pro plné informace viz plná verze SPC přípravku. **Těhotenství a kojení:** Podávání přípravku se v těhotenství nedoporučuje. Na základě posouzení prospěšnosti kojení pro dítě a léčby pro matku je nutno rozhodnout, zda přerušit kojení nebo ukončit podávání přípravku. **Interakce:** Nedoporučuje se použití filgrastimu v době od 24 hodin před chemoterapií do 24 hodin po ní. Předběžné nálezy u malého počtu pacientů léčených současně filgrastimem a 5-fluorouracilem naznačují, že závažnost neutropenie může být zvýšena. **Účinky na schopnost řídit a obsluhovat stroje:** Nebyly provedeny žádné studie těchto účinků. **Nežádoucí účinky:** Bolesti kosterního svalstva, bolesti v kostech; zvýšení kyseliny močové a alkalické fosfatázy v krvi, laktátdehydrogenázy (LDH) a gama-glutamyltransferázy (GGT), snížení hladiny krevní glukózy; leukocytóza, trombocytopenie; bolesti hlavy; anemie, splenomegalie, ruptura sleziny; epistaxe; bolest v místě aplikace; glomerulonefritida. **Druh obalu a obsah balení:** Předplněné injekční stříkačky s injekční jehlou (nerezavějící ocel) s bezpečnostním krytem jehly nebo bez, obsahující 0,5 ml roztoku. Kryt jehly obsahuje přírodní pryž. Velikost balení: 5 předplněných injekčních stříkaček. **Uchovávání:** Uchovávejte v chladničce (2 °C – 8 °C). Uchovávejte předplněnou injekční stříkačku ve vnějším obalu, aby byl přípravek chráněn před světlem. **Doba použitelnosti:** 36 měsíců. **Držitel rozhodnutí o registraci:** Sandoz GmbH, Biochemiestrasse 10, A-6250 Kundl, Rakousko. **Registrační číslo:** EU/1/08/495/001-016. **Datum registrace/prodloužení registrace:** 6.2.2009/13.11.2013 **Datum revize textu:** 25.2.2016.

Pouze na lékařský předpis. Přípravky jsou hrazeny z veřejného zdravotního pojištění, výši a podmínky úhrady naleznete v aktuálním Seznamu léčiv a PZLU hrazených ze zdravotního pojištění na www.sukl.cz. Před předepsáním léku se, prosím, seznamte s podrobnými informacemi v platném Souhrnu údajů o přípravku nebo na adrese společnosti Sandoz.

1. www.ema.europa.eu. **2.** www.fda.gov. **3.** Weise M. Evolving Landscape on Data Requirements to Demonstrate Biosimilarity–The EU Perspective. Presented at EBG Biosimilars 2016 London. **4.** IMS Institute Report. Delivering on the Potential of Biosimilar Medicine 2016. * V USA je přípravek registrovaný pod obchodním názvem Zarxio®.

Sandoz s.r.o., Nagano III, U Nákladového nádraží 10, 130 00 Praha 3, telefon: +420 221 421 611, fax: +420 221 421 630
web: www.sandoz.cz, e-mail: office.cz@sandoz.com

SANDOZ A Novartis Division

BIO/2016/12/643649/015

Molekulárně genetické vyšetření u akutní myeloidní leukemie

Molecular Genetic Testing for Acute Myeloid Leukemia

Janečková V., Semerád L., Ježíšková I., Dvořáková D., Čulen M., Šustková Z., Mayer J., Ráčil Z.

Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

Souhrn

Východiska: Akutní myeloidní leukemie (AML) je klinicky i molekulárně značně heterogenní onemocnění. Standardně používané konvenční cytogenetické vyšetření a vyšetření FISH (fluorescenční *in situ* hybridizace) přinášejí významnou informaci o biologické i klinické povaze onemocnění a umožňují rozdělení AML pacientů do tří rizikových skupin. Stanovení prognózy však stále zůstává složité u cca 50 % nemocných s AML, kteří mají normální cytogenetický nález. V poslední dekádě byla u nemocných s cytogeneticky normální AML objevena celá řada rekurentních mutací genů, u kterých byl následně prokázán jejich vliv na prognózu. Objev těchto mutací byl umožněn rychlým vývojem molekulárně biologických metod, zejména metod sekvenování nové generace. Kromě prognostického významu je možné v některých případech využít genové mutace při monitoraci minimální reziduální nemoci v průběhu a po ukončení léčby AML a přestavují také potenciál pro vývoj nové cílené léčby. Důležitost vyšetření genových mutací u nemocných s cytogeneticky normální AML potvrzuje fakt, že WHO klasifikace AML zařadila od roku 2008 přítomnost genových mutací u cytogeneticky normální AML do definice několika samostatných jednotek. ***Cíl:*** V této práci přinášíme přehled nejvýznamnějších mutací genů, které prokazujeme u nemocných s cytogeneticky normální AML, popisujeme jejich význam pro prognózu nemocných, jejich význam při sledování minimální reziduální nemoci a jejich potenciál pro vývoj nové cílené léčby. Dále je stručně popsán význam akumulace genových mutací při klonálním vývoji onemocnění a zásadní vliv tohoto fenoménu při relapsu AML.

Klíčová slova

akutní myeloidní leukemie – genetika – mutace – prognóza – minimální reziduální nemoc – klonální vývoj

Summary

Background: Acute myeloid leukemia (AML) is a clinically complex and very heterogeneous disease at the molecular level. Conventional cytogenetic analysis and FISH (fluorescence *in situ* hybridization) tests provide important information about the biological and clinical background of the disease and enable the classification of AML patients into three risk groups. However, up to half of patients have normal cytogenetics. Determining prognosis and treatment strategies in this group of patients is challenging. The development of molecular genetic methods, including next generation sequencing in the last decade, has led to the discovery of a number of recurrent mutations that have contributed to increasing the accuracy of prognosis of those patients with cytogenetically normal AML. Besides the prognostic value of these mutations, they may also be used to monitor minimal residual disease during and after treatment of AML and additionally constitute potential targets for the development of new therapeutic agents. The importance of molecular genetic testing of all patients with AML is highlighted by the WHO classification of 2008 in which subgroups of AML are purely defined by molecular genetics markers. ***Aim:*** In this article, we provide an overview of the most significant mutations in patients with cytogenetically normal AML. We describe their significance for prognosis, their importance in monitoring minimal residual disease, and their potential for the development of new targeted therapies. Further, we briefly draw attention to the significance of gene mutation accumulation in clonal disease development and how it affects the time of AML relapse.

Key words

acute myeloid leukemia – genetics – mutation – prognosis – minimal residual disease – clonal evolution

Tato práce byla podpořena programovým projektem MZ ČR s reg. č. 15-25809A a z projektu Masarykovy univerzity, Brno MUNI/A/ /1028/2016.

This work was supported by the program project of the Czech Ministry of Health reg. No. 15-25809A and by the project of Masaryk University, Brno MUNI/A/1028/2016.

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 recommendation for biomedical papers.

MUDr. Lukáš Semerád
Interní hematologická
a onkologická klinika
LF MU a FN Brno
Jihlavská 20
625 00 Brno
e-mail: lukas.semerad@fnbrno.cz

Obdrženo/Submitted: 8. 9. 2016
Přijato/Accepted: 30. 9. 2016

http://dx.doi.org/10.14735/amko2016411

Úvod

Akutní myeloidní leukemie (AML) je klonální onemocnění krvetvorby charakterizované přítomností proliferujících, abnormálně diferencovaných buněk hematopoetického systému v kostní dřeni, periferní krvi a případně extramedulárních tkáních.

Standardní diagnostické postupy pro klasifikaci AML v současné době zahrnují nejen morfologické hodnocení nátěru periferní krve i kostní dřeně a analýzu povrchových nebo cytoplazmatických markerů pomocí průtokové cytometrie, ale také identifikaci chromozomálních změn pomocí metod konvenční cytogenetiky nebo metody FISH (fluorescenční *in situ* hybridizace) a vyšetření mutačního stavu vybraných molekulárních markerů.

Již od 90. let minulého století je známo, že cytogenetické aberace jsou spojeny s různým průběhem onemocnění. Na základě výsledků cytogenetického vyšetření byla v roce 1998 vytvořena první kategorizace AML do rizikových skupin dle Grimwade (tab. 1) [1]. Zařazení AML do rizikové skupiny má důležitý význam pro stanovení prognózy onemocnění a výběr vhodné léčebné strategie. Stanovení individuálního rizika onemocnění umožňuje vyčlenit skupinu nemocných s vysokým rizikem relapsu (RR) onemocnění, kteří benefitují z provedení alogenní transplantace v rámci 1. léčebné linie, a naopak skupinu nemocných s nízkým RR, u kterých alogenní transplantaci krvetvorby v rámci 1. léčebné linie standardně neprovádíme z důvodu vysoké morbidity a mortality spojené s touto vysoce intenzivní léčebnou metodou. Z cytogenetických aberací hrají základní roli v leukemogenezi rekurentní chromozomální strukturní variace, např. t(15;17), t(8;21), inv(16), t(16;16), t(9;21), t(9;11), del5, del7, které jsou již zavedenými diagnostickými a prognostickými markery.

Problém pro stanovení prognózy přestavuje značně heterogenní skupina pacientů s cytogeneticky normální AML (CN-AML). Do této skupiny spadá 40–50 % pacientů. Je proto vyvíjena snaha o hledání dalších faktorů, které umožní lepší stratifikaci CN-AML a definují skupinu nemocných, kteří budou profitovat z intenzifikace terapie a provedení alogenní transplantace krvetvorných buněk v 1. léčebné linii. Kromě klinických prognostických faktorů, jako je přítomnost hyperleukocytózy či nedostatečná blastoredukce při časném hodnocení v průběhu první indukční terapie, hrají důležitou roli v prognostické stratifikaci molekulárně genetické markery.

Etiopatogenetickým podkladem pro vznik AML je kumulace mutací v genech, které hrají významnou roli v regulaci dělení a diferenciace hematopoetických buněk. Typ mutací a jejich komplexnost ovlivňuje klinický průběh onemocnění a odpověď na léčbu. Význam komplexnosti mutačního stavu hematopoetické buňky dokládají v recentní práci Wakita et al, kteří analyzovali přítomnost 28 různých mutací u 271 pacientů s AML v souvislosti s jejich prognózou [2]. Bylo prokázáno, že u mladších nemocných ve středním cytogenetickém riziku je celkové přežití (overall survival – OS) významně sníženo v případě přítomnosti tří a více mutací genů (5leté OS 18,1 vs. 45,9 %; p = 0,0006), a to i ve skupině nemocných s *FLT3-ITD* negativitou (5leté OS 28,3 vs. 63,2 %; p = 0,001). Předpokládá se tedy, že vyšší počet mutací je znakem vysoké genetické nestability, která souvisí s horší odpovědí choroby na léčbu.

Význam molekulárně genetického vyšetření u nemocných s AML dokládá také ta skutečnost, že mutace v genech *NPM1* a *CEBPA* jsou od roku 2008 součástí klasifikace AML dle Světové zdravotnické organizace (WHO) [3] a spolu s mutacemi ve *FLT3* jsou začleněny do prognostické klasifikace AML dle European LeukemiaNet (ELN) z roku 2010 (tab. 2) [4]. Při recentní revizi WHO klasifikace v roce 2016 byla přidána rovněž provizorní kategorie AML s mutací v genu *RUNX1* [5].

Díky značnému poklesu ceny a automatizaci většiny kroků analytického postupu se široce rozšířily ve výzkumných i rutinně diagnostických laboratořích nové genomické metodické přístupy založené zejména na sekvenování nové generace. V rámci rozvoje celogenomového sekvenování byly v posledním desetiletí zjištěny další rekurentní somatické mutace, jejichž prognostický význam je intenzivně studován. Velkým přínosem je naprosto nový pohled na spektrum a frekvenci mutací, jejich kooperaci nebo vzájemnou výlučnost. Umožňují navíc sledovat skladbu buněčných subklonů a klonální evoluci v průběhu onemocnění.

Tab. 1. Cytogenetické riziko dle Grimwade et al (1998) [1].

Riziková skupina	Cytogenetická abnormalita
nízké riziko	t(8,21)
	t(15,17)
	inv(16)
střední riziko	normální cytogenetika
	+8, +21, +22, del(7q), del(9q)
	abnormality 11q23
	další strukturální či numerické změny
vysoké riziko	-5, -7, del(5q), abnormality 3q
	komplexní změny

Genomický pohled na AML

Leukemogeneze AML je vícekrokový proces, který vyžaduje spolupráci nejméně dvou tříd mutací [6,7]. Mutace třídy I aktivují dráhy signální transdukce a dávají proliferační výhodu hematopoetickým buňkám (např. mutace vedoucí k aktivaci tyrozinkinázových receptorů FLT3, c-kit a Ras), mutace třídy II ovlivňují transkripční faktory a poškozují hematopoetickou diferenciaci (např. rekurentní chromozomální aberace t(8;21), inv(16), t(15;17), které generují fúzní transkripty *RUNX1T1, CBFB/MYH11* a *PML/RARA*, a rovněž mutace v genech *RUNX1, CEBPA* a *MLL*.

Konsekvence mutací v dalších genech asociovaných s AML jako *DNMT3A, TET2, IDH1, IDH2, NPM1, ASXL1* nejsou dosud známy. Bývají nalezeny obvykle u CN-AML (tab. 3).

Klonální evoluce u AML

Celogenomové sekvenování u pacientů s AML ukázalo, že klonálně odvozená hematopoetická buňka akumuluje obrovský počet mutací v závislosti na věku, avšak naprostou většinu těchto mutací lze považovat za náhodné benigní události. Tyto mutace byly tedy zřejmě přítomny již v hematopoetické buňce, která byla transformována iniciující (driver) mutací [8]. Mnohé studie prokazují, že většina případů AML je charakterizována klonální heterogenitou v době diagnózy, s přítomností jak zakládajícího klonu, tak alespoň jednoho subklonu [9]. Byla publikována různá schémata klonální evoluce, která se mohou skrývat za relapsem onemocnění a být příčinou jeho rezistence [10–13]. Základní model uvádí dvě možné situace: 1. zakládající klon získává mutace a vyvíjí se v relabující klon; 2. subklony s různými mutacemi se vyskytují mezi zakládajícími klony a jeden ze subklonů z této populace expanduje v relaps [10]. U pacientů v morfologické remisi může pokračovat klonální hematopoéza těch klonálních populací, které jsou blízce příbuzné klonu zakládajícímu. Zároveň však byla pozorována expanze hematopoetické populace, která nebyla příbuzná s iniciální AML, ale nesla mutace v genech často mutovaných u AML a myelodysplastického syndromu (MDS). Tyto mutace bylo možné detekovat ve velmi nízkých frekvencích již v době diagnózy AML. Výsledky podporují hypotézu, že neleukemické hematopoetické kmenové a progenitorové buňky, které nesou určité mutace, mohou získat kompetitivní výhodu díky perzistenci těchto mutací během i po ukončení indukční chemoterapie [14]. Cytoredukční chemoterapie tak působí selekčním tlakem na leukemickou i neleukemickou hematopoetickou populaci [10,15].

V rámci Cancer Genome Atlas (TCGA) Research Network byly analyzovány genomy 200 pacientů a téměř v každém vzorku byla nalezena jedna potenciální driver mutace, která poskytuje hematopoetické progenitorové buňce růstovou výhodu vedoucí ke klonální expanzi [9]. Signifikantně mutované geny, které jsou relevantní pro patogenezi, byly organizovány do devíti funkčních kategorií – fúze transkripčních faktorů (18 % případů), NPM1 (27 %), tumor-supresorové geny (16 %), geny vztahující se k DNA metylaci (44 %), signální geny (59 %), geny modifikující chromatin (30 %), geny pro myeloidní transkripční faktory (22 %), geny pro kohezinový komplex (13 %) a geny pro komplex spliceozomu (14 %). Systém

Tab. 2. Cytogeneticko-molekulární riziko dle ELN 2010.

Riziková skupina dle ELN 2010	Cytogenetické/molekulární genetické nálezy
nízké riziko	t(8;21)(q22;q22); *RUNX1-RUNX1T1*
	inv(16)(p13.1q22) nebo t(16;16)(p13.1;q22); *CBFB-MYH11*
	mutace *NPM1* bez *FLT3-ITD* (normální karyotyp)
	mutace *CEBPA* (normální karyotyp)
střední riziko I	mutace *NPM1* a *FLT3-ITD* (normální karyotyp)
	wt *NPM1* a *FLT3-ITD* (normální karyotyp)
	wt *NPM1* bez *FLT3-ITD* (normální karyotyp)
střední riziko II	t(9;11)(p22;q23); *MLLT3-MLL*
	ostatní strukturální či numerické změny karyotypu
vysoké riziko	inv(3)(q21q26.2) nebo t(3;3)(q21;q26.2); *RPN1-EVI1*
	t(6;9)(p23;q34); *DEK-NUP214*
	t(v;11)(v;q23); *MLL* přestavby
	-5 nebo del(5q); -7; abnl(17p); komplexní změny

ELN – European LeukemiaNet

Tab. 3. Prognostický význam mutací u CN-AML.

Mutace	Incidence AML	Incidence CN-AML	Prognóza
NPM1	25–35 %	45–60 %	příznivá (platí pouze pokud *FLT3–*)
FLT3-ITD	~20 %	28–34 %	nepříznivá (alelický poměr < 0,5 = nepříznivá, pouze pokud *NPM1–*)
DNMT3A	18–22 %	30–37 %	nepříznivá
IDH1, IDH2	15–20 %	25–30 %	nejistá (nepříznivá u *IDH2 R172*)
TET2	~13 %	9–23 %	nejistá (nepříznivá u *FLT3+* nebo *NPM1–*)
ASXL1	5–11 %	5–12 %	nepříznivá
bialelická mutace *CEBPA*	10 %	10 %	příznivá (nepříznivá u mutace pouze v jedné alele)

CN-AML – cytogeneticky normální AML

Tab. 4. Indikace k provedení alogenní HSCT v 1. léčebné linii.

	5leté RR s alogenní HSCT	5leté RR bez alogenní HSCT	p	Indikace k alogenní HSCT v 1. léčebné linii
NPM1+/FLT3-ITD–	35 ± 7 %	20 ± 11 %	0,49	ne
NPM1+/FLT-ITD+ (nízký alelický poměr < 0,5)	22 ± 15 %	19 ± 20 %	0,566	ne
NPM1+/FLT3-ITD+ (vysoký alelický poměr > 0,5)	20 ± 13 %	80 ± 9 %	0,014	ano
NPM1–/FLT3– (bez přítomnosti bialelické mutace *CEPBA*)	25 ± 10 %	45 ± 7 %	0,08	ano
NPM1–/FLT3+ (nízký i vysoký alelický poměr)	42 ± 14 %	100 %	0,00016	ano

HSCT – transplantace krvetvorné tkáně, RR – riziko relapsu

vzájemné spolupráce a výlučnosti mezi mutačními událostmi v těchto genech pak pravděpodobně přispívá k patogenezi AML u konkrétního pacienta.

Sekvenování nové generace a prognostická klasifikace CN AML

Nejvýznamnějším prognostickým parametrem byly dosud rekurentní cytogenetické aberace [16]. Předmětem intenzivního výzkumu je nyní hodnocení molekulárně genetických lézí jako prognostických a prediktivních markerů [17–19]. V současné době jsou na základě doporučení ELN v klinické praxi používány tři molekulární markery (*NPM1, CEBPA* a *FLT3-ITD*) [4]. V budoucnu je očekáváno zařazení dalších markerů (např. *RUNX1, ASXL1* a *TP53*), které byly opakovaně asociovány s horší prognózou, přičemž prognostický význam dalších často mutovaných genů (např. *DNMT3A, IDH1, IDH2, TET2*) je stále nejasný.

FLT3

FLT3 je buněčný receptor s tyrozinkinázovou aktivitou patřící do stejné skupiny receptorů jako je c-kit nebo PDGF-R. FLT3 protein hraje důležitou roli v dělení a diferenciaci myeloidních buněk. Nejčastější mutací genu *FLT3* je interní tandemová duplikace (*FLT3-ITD*), která je prokazována u 20–30 % případů AML [20,21]. Mutace vede k trvalé aktivaci kinázové domény FLT3 receptoru a následné poruše diferenciace myeloidních buněk a jejich leukemické transformaci. Druhou méně častou mutací genu *FLT3* je bodová mutace v aktivační smyčce druhé tyrozinkinázové domény (*FLT3-TKD*). Tato mutace je prokazována u 5–8 % případů AML [6,22,23]. Obě tyto mutace v genu pro FLT3 jsou asociovány s vyšším počtem leukocytů, nižším počtem trombocytů a vyšším zastoupením blastů v kostní dřeni v době diagnózy. Relativně častěji je mutovaný gen *FLT3* prokazován u akutní monocytární leukemie (AML FAB M5), a to cca ve 40 % případů. Častěji je přítomen u CN-AML ve srovnání s AML s cytogenetickou abnormalitou [22]. Mutace *FLT3-ITD* je také často asociována s t(6;9) (88–90 %) a *MLL-PTD*. Kooperativní mutace byly nalezeny také u *FLT3-TKD* a *CBFB/MYH1* [7].

Mutace v genu *FLT3* mají jasně prokázaný negativní prognostický význam. Pravděpodobnost dosažení kompletní remise (complete remission – CR) onemocnění po indukční terapii není sice mutací *FLT3* ovlivněna, četnost CR u mladších nemocných je v případě *FLT-ITD* negativity 66,8 % a v případě *FLT3-ITD* pozitivity 71,2 %. Mutace *FLT3* jsou však spojeny s významně vyšším RR onemocnění. OS pacientů s CN-AML s mutací *FLT3-ITD* nebo *TKD* je tak horší oproti nemocným bez přítomnosti těchto mutací. Na OS nemocných má kromě samotné přítomnosti mutace *FLT3* vliv alelický poměr *FLT3* mutovaného/nemutovaného genu (*FLT3* mutant/wt). Bylo prokázáno, že nemocní s mutací *NPM1* a současnou mutací *FLT3* s nízkým alelickým poměrem *FLT3* mutant/wt mají stejně dobrou prognózu jako nízce rizikoví CN-AML nemocní s mutací *NPM1* bez mutace *FLT3* (5leté OS 47 ± 10 vs. 56 ± 5 %; p = nesignifikantní). Oproti tomu nemocní s mutací *NPM1* a vysokým alelickým poměrem *FLT3* mutant/wt mají OS významně zkrácené (5leté OS 29 ± 7 vs. 56 ± 5 %; p = 0,017). Prognóza pacientů s nízkým alelickým poměrem *FLT3* mutant/wt a nemutovaným genem *NPM1* je spojena s vyšší pravděpodobností relapsu onemocnění a horším OS (5leté RR 74 ± 20 vs. 48 ± 6 %; p = 0,017; 5leté OS 20 ± 12 vs. 39 ± 6 %; p = 0,014) [24].

Provedení alogenní transplantace krvetvorné tkáně (hematopoietic stem cell transplantation – HSCT) v rámci 1. léčebné linie snižuje RR onemocnění a vede k prodloužení OS u nemocných s mutací *NPM1* a vysokým alelickým poměrem *FLT3* mutant/wt (5leté RR 20 ± 13 vs. 80 ± 9 %; p = 0,014; 5leté OS 22 ± 10 vs. 70 ± 14 %; p = 0,03) (tab. 4). Naopak z provedení alogenní HSCT v 1. CR nebenefitují pacienti s mutací *NPM1* bez mutace *FLT3* (5leté RR 35 ± 7 vs. 20 ± 11 %; p = 0,49; 5leté OS 64 ± 7 vs. 79 ± 11 %; p = 0,296) a také nemocní s mutací *NPM1* s nízkým alelickým poměrem *FLT3* mutant/wt (5leté RR 22 ± 15 vs. 19 ± 20 %; p = 0,566; 5leté OS 67 ± 16 vs. 56 ± 17 %; p = 0,873). Pacienti s cytogeneticky normální AML bez přítomnosti mutace *NPM1* obecně profitují z provedení alogenní HSCT v rámci 1. lé-

čebné linie. Alogenní HSCT snižuje 5leté RR u pacientů s *NPM1* wt a *FLT3-ITD* (5leté RR 42 ± 14 vs. 100 %; p = 0,00016) a také u pacientů s *NPM1* wt a *FLT3* wt (5leté RR 25 ± 10 vs. 45 ± 7 %; p = 0,08) [24].

FLT3-ITD je nestabilní prognostický marker – až u 30 % pacientů, kteří nesli tuto mutaci při diagnóze choroby, byla pozorována ztráta nebo změna počtu tandemových duplikací v době relapsu [24].

NPM1

Nukleofosmin je fosfoprotein, který plní úlohu molekulárního chaperonu a transportního proteinu. NPM1 se uplatňuje v různých buněčných procesech – při biogenezi ribozomů, zdvojení centrozomu, reparaci DNA a odpovědi na buněčný stres, ovlivňuje funkci p53 a p19. *NPM1* wt chrání hematopoetické buňky před apoptotickými účinky p53 v podmínkách buněčného stresu. Existuje více než 40 různých variant mutací, přičemž nejčastější je inzerce 4 bp v exonu 12 způsobující aberantní delokalizaci proteinu z jádra do cytoplazmy. Buňky jsou následně citlivější k buněčnému stresu vyvolanému chemoterapií, což znamená lepší prognózu [25].

Mutace *NPM1* je nejčastější mutací u pacientů s AML (25–30 %) a je prokazována cca u 45–60 % pacientů s CN-AML mladších 60 let [26]. Nemocní s CN-AML a mutací *NPM1* bez přítomnosti jiné mutace lépe odpovídají na indukční chemoterapii a mají významně nižší RR onemocnění po ukončení léčby. Nejlepší léčebná odpověď na indukční terapii byla u nemocných s mutací *NPM1* a nemutovaným *FLT3* (86 %), následovala skupina nemocných s nemutovaným *NPM1* a mutací *FLT3-ITD* (76 %), ve skupině s nemutovaným *NPM1* i *FLT3* byla odpověď na indukci 68,5 % a nejnižší pravděpodobnost dosažení CR onemocnění po indukci byla pozorována ve skupině se současnou mutací *NPM1* a *FLT3-ITD* (63 %) [27,28]. Na základě těchto poznatků současná prognostická klasifikace dle ELN z roku 2010 zařazuje CN-AML s mutací *NPM1* bez mutace *FLT3* či *DNMT3A* do nízce rizikové skupiny, u které není v rámci 1. léčebné linie doporučeno provedení alogenní transplantace krvetvorných buněk [4].

CEBPA

Gen *CEBPA* kóduje myeloidní transkripční faktor. Je mutovaný u přibližně 10 % CN-AML a může se vyskytnout také současně s chromozomálními aberacemi, např. del(9q) a vzájemně se vylučují s balancovanými chromozomálními přestavbami [29]. V genu *CEBPA* se u AML vyskytují zejména dva typy mutací – 33 bp inzerce na C-konci, která zasahuje oblasti, které se podílejí na dimerizaci proteinu a jeho vazbě na DNA, a frameshift delece na N-konci s důsledkem zkrácené formy proteinu [30]. Výskyt obou těchto mutací v bialelické formě se vyskytuje u více než poloviny pacientů s prokázanou mutací *CEPB* a slouží jako příznivý prognostický faktor s nevýznamně delším OS a významně nižším výskytem relapsu. Pouze jedna mutace je přitom spojována s horší prognózou. Tento biologický paradox dosud nebyl zcela objasněn [31,32].

Mutace v epigenetických regulátorech

Epigenetické regulátory zodpovídají za regulaci transkripce prostřednictvím dvou hlavních mechanizmů – metylace DNA (enzymy kódované geny *DNMT3A, IDH1, IDH2* a *TET2*) a modifikace histonů (*ASXL1*). Výsledky studií zabývajících se klonální evolucí podporují hypotézu, že mutace v genech, které jsou zahrnuty v epigenetické regulaci (tj. *DNMT3A, ASXL1, IDH1, IDH2* a *TET2*), jsou přítomny již v preleukemické hematopoetické kmenové buňce a objevují se velmi časně ve vývoji AML [10,11,33]. Tyto původní preleukemické kmenové buňky jsou schopny diferenciace do více linií, dokáží přežít chemoterapii a expandovat během remise až k rozvoji potenciálního relapsu. Současné studie ukazují, že klonální hematopoéza se somatickými mutacemi, obvykle v genech *DNMT3A, TET2* a *ASXL1*, vzrůstá spolu s věkem a je asociována se zvýšeným rizikem rozvoje hematologické malignity [34]. Prognostický význam těchto mutací však nebyl jednoznačně stanoven.

DNMT3A

DNMT3A patří mezi DNA metyltransferázy, které katalyzují adici metylové skupiny na cytozinové zbytky CpG dinukleotidů. Funkční experimenty ukazují, že ztráta DNMT3A (DNA metyltransferáza 3 alfa) poškozuje diferenciaci hematopoetických buněk a působí zvýšenou akumulaci těchto buněk v kostní dřeni [35]. Mutace v *DNMT3A* nejčastěji (60–64 %) postihují arginin R882 a způsobují redukovanou aktivitu enzymu způsobující globální hypometylaci [36,37]. Ostatní méně časté mutace se nacházejí po celém genu, především v exonech 13–23. Zahrnují missense, nonsense, frameshift a mutace měnící místo sestřihu a jsou obvykle heterozygotní. Různé typy mutací mohou mít různý dopad na funkci enzymu. Delece *DNMT3A* v myších modelech vede k inhibici diferenciace hematopoetických kmenových buněk, avšak samotný deficit tohoto genu nevede ke vzniku AML. Zdá se tedy, že pro vznik AML je nutný vznik další tzv. driving mutace v jiných genech.

Mutace v genu *DNMT3A* jsou prokazovány u 17–20 % nemocných s AML, ve skupině pacientů s normálním cytogenetickým nálezem je prokazována až ve 27–30 % případů [38–40]. Jedná se tak o třetí nejčastější prokazovanou mutaci u nemocných s AML. Mutace *DNMT3A* je spojena s vyšším věkem nemocných, vyšším počtem leukocytů a krevních destiček v periferní krvi v době diagnózy. Významně častěji je prokazována u nemocných se současnou mutací genu *NPM1, IDH1/2* nebo mutací *FLT3-ITD*. Asociace mutace *DNMT3A* je silná zejména v případě mutace *NPM1*, až 80 % pacientů s mutací *DNMT3A* má současně přítomnou mutaci *NPM1*.

Z hlediska prognostického významu mutace *DNMT3A* jsou výsledky jednotlivých klinických studií diskrepantní. V původní práci Thol et al z roku 2011 bylo prokázáno signifikantně horší přežití nemocných s mutací *DNMT3A* a současnou mutací *NPM1* a *FLT3-ITD* oproti těmto pacientům s nemutovaným genem *DNMT3A* (medián OS 12,3 vs. 41,1 měsíce; p < 0,0001) [38,39]. Ve stejné práci však nebyl prokázán vliv mutace *DNMT3A* na OS nízce rizikových pacientů s mutací *NPM1* bez *FLT3-ITD*. Tyto výsledky nekorelují s dosud nejrozsáhlejší prací Gaidzik et al, ve které vliv mutace na OS a dobu do relapsu u CN-AML prokázán nebyl [41]. Gale et al vysvětlují diskrepantní výsledky tzv. Simpsonovým paradoxem, který je dán

vysokou koincidencí mutace *DNMT3A* s prognosticky příznivou mutací *NPM1* [37]. Aby mohl být tedy ukázán negativní prognostický význam mutace *DNMT3A*, musí být výsledky stratifikovány podle *NPM1* genotypu. Pokud hodnotíme skupinu CN-AML pacientů jako celek, nebyl prokázán vliv mutace *DNMT3A* na OS pacientů (p = 0,7). Pokud rozdělíme nemocné na dvě skupiny podle přítomnosti či nepřítomnosti mutace *NPM1*, byl v obou těchto skupinách prokázán negativní prognostický vliv mutace *DNMT3A* na OS nemocných. Mutace *DNMT3A* je tedy obecně považována za negativní prognostický marker u nemocných s AML.

V rámci optimalizace dávek daunorubicinu u standardní indukční terapie 3 + 7 bylo prokázáno, že nemocní s mutací *DNMT3A* výrazně více profitují z podání vyšší dávky daunorubicinu oproti jiným geneticky definovaným skupinám [38,39].

IDH1, IDH2

IDH1 a *IDH2* kódují NADP-dependentní izocitrát-dehygrogenázy, které katalyzují oxidativní dekarboxylaci izocitrátu na 2-oxoglutarát v citrátovém cyklu. Mutace v *IDH1 a IDH2* jsou hemizygotní, způsobující v *IDH1* záměnu argininu R132 a v IDH2 argininu R172 nebo R140 [42]. Nové mutace byly nalezeny pomocí masivního paralelního sekvenování zejména u CN-AML jak v *IDH1* [43], tak *IDH2* [44]. *IDH1* a *IDH2* se uplatňují především v buněčném metabolizmu a syntéze lipidů, v ochraně buňky před oxidativním stresem [45]. *IDH1* a *IDH2* způsobují aberantní hypermetylaci a potvrdila se vzájemná výlučnost mutací v *IDH1* a *IDH2* a v *TET2* [46,47].

Mutace genů *IDH1* a *IDH2* byla prokázána u 7,6, resp. u 8,7 % nemocných s AML [42]. Je asociována s vyšším věkem nemocných (p = 0,002), s nižším počtem leukocytů (p = 0,04) a vyšším počtem trombocytů v době diagnózy (p = 0,007). Mutace *IDH1* a *IDH2* je častěji prokazována u nemocných s CN-AML, zejména u nemocných s mutovaným *NPM1* bez *FLT3-ITD* (p < 0,001). Asociace s mutací *NPM1* neplatí pro mutaci *IDH2* v kodonu 172. Mutovaný *IDH1* zároveň silně asociuje s *MLL-PTD* [48].

Význam mutace *IDH1* a *IDH2* pro určení prognózy není zcela jasně definován, výsledky jednotlivých prací se liší. Paschka et al ve své práci neprokazují vliv mutace na dosažení remise onemocnění po indukční terapii [42]. Negativní vliv mutace *IDH1* a *IDH2* na OS byl v jeho práci prokázán pouze ve skupině nemocných s CN-AML s mutovaným *NPM1* bez mutace *FLT3-ITD* (5leté OS 41 vs. 65 %; p = 0,03). Pokud hodnotíme skupinu nemocných s CN-AML jako celek, nebyl vliv mutace *IDH1* a *IDH2* na OS nemocných prokázán. Patel et al naopak u nemocných s AML ve středním cytogenetickém riziku prokázali významně lepší 3leté OS nemocných, kteří byli nositeli mutace *NPM1* a současně mutace *IDH1* a *IDH2*, ve srovnání s nemocnými, kteří měli mutovaný pouze *NPM1* bez *IDH1* a *IDH2* (3leté OS 89 vs. 31 %; p < 0,001) [49]. V tomto srovnání však nebyl brán v potaz negativní vliv mutace *FLT3-ITD* na OS nemocných. Analýza jednotlivých geneticky definovaných podskupin v práci Patel et al potvrdila negativní prognostický význam mutace *IDH2* v kodonu 172 na OS nemocných ve středním riziku, což je pravděpodobně dáno malou asociací této konkrétní mutace s mutací genu *NPM1*.

TET2

Enzym TET2 je dioxygenáza, která dokáže konvertovat 5-metylcytozin (5-mC) na 5-hydroxymetylcytozin (5-hmC), který je meziproduktem DNA demetylace [50]. Pacienti nesoucí mutaci v *TET2* jsou tedy charakterizováni hypermetylovaným fenotypem s místně specifickou metylací cytozinu cílových genů a zároveň poklesem 5-hmC. Pokles 5-hmC je tedy pravděpodobně průvodním jevem stárnutí hematopoetického systému, na němž se podílí právě mutace v *TET2*. Ztráta TET2 vyvolává vzrůstající sebeobnovu hematopoetických kmenových buněk a kompetitivní růstovou výhodu [51].

Mutace genu *TET2* jsou prokazovány v 7–13 % případů AML. Tato mutace je asociována s vyšším věkem nemocných, vyšším počtem leukocytů a nižším počtem trombocytů v době diagnózy. Častěji je také prokazována u nemocných s mutací *NPM1, CEPBA* a *ASXL*1 [46]. Naopak mutace *TET2* není téměř nikdy prokazována u nemocných s mutovaných *IDH1/2*.

Prognostický vliv mutace *TET2* je nejasný. Chou et al prokázali negativní prognostický význam a horší OS nemocných s mutací *TET2* ve středním cytogenetickém riziku (medián OS – medián OS nebyl dosažen vs. 14,7 měsíce; p = 0,021) [52]. Silná asociace mutace *TET2* s horším OS byla pozorována zejména ve skupině pacientů s *FLT3-ITD* pozitivitou (medián OS 5,0 vs. 16,9 měsíce; p = 0,001) a ve skupině pacientů s nemutovaným *NPM1* (medián OS 12,3 vs. 61,0 měsíce; p = 0,055). Tyto výsledky však nebyly potvrzeny v práci Gaidzik et al, která neprokázala žádný vliv mutace *TET2* na OS nemocných s AML, a to ani ve skupině nemocných ve středním cytogenetickém riziku či s normálním cytogenetickým nálezem [53]. Do této práce však byli zahrnuti pouze mladší nemocní do 60 let, což z důvodu asociace mutace *TET2* s vyšším věkem nemocných pravděpodobně ovlivnilo výsledky.

Chou et al dále dokládají nevhodnost mutace *TET2* pro sledování minimální reziduální nemoci v průběhu a po ukončení léčby. Mezi 13 pacienty, kteří byli vstupně *TET2* pozitivní a u kterých došlo po ukončení léčby k relapsu onemocnění, šest pacientů ztratilo při relapsu onemocnění původní mutaci *TET2* [52].

ASXL1

ASXL1 (aditional sex comb-like 1) patří do rodiny Polycomb proteinů podílejících se na regulaci remodelace chromatinu. Ve spolupráci s HP1 ovlivňuje metylaci histonů prostřednictvím regulace aktivity demetylázy LSD1 [54]. Funkce ASXL1 v hematopoéze je však dosud nejasná. Mutace v genu *ASXL1* byly nalezeny u chronické myelomonocytární leukemie (CMML), MDS, sekundárních AML, které se vyvinuly z CMML, i *de novo* AML [55,56].

Mutace *ASXL1* jsou typu delecí nebo bodových mutací. Jejich výskyt u pacientů s AML je 9–18 % [57–59]. U nemocných se středně rizikovou AML je mutace *ASXL1* asociována s mužským pohlavím (23,5 vs. 9,9 %; p < 0,001), s vyšším věkem nemocných (medián 71,8 vs. 61,8; p < 0,001). Mutace je významně častěji prokazována u nemocných s mu-

tací *RUNX1*, naopak její přítomnost negativně koreluje se současnou přítomností mutací *NPM1, FLT3-ITD, FLT3-TKD* a *DNMT3A*. Významně častěji je mutace *ASXL1* prokazována u AML s trizomií chromozomu 8 (52,7 %) [58].

Mutace *ASXL1* je spojena s výrazně horší prognózou pacientů s AML. Bylo prokázáno významně zkrácené OS nemocných se středně rizikovou AML (medián OS 11,0 vs. 62,2 měsíce; p < 0,001) [57]. Zkrácení OS bylo prokázáno ve všech geneticky definovaných rizikových a věkových skupinách. Mutace *ASXL1* je tedy považována za významný negativní prognostický marker u nemocných s AML a pacienti s touto mutací by měli být směřováni k provedení alogenní HSCT v rámci léčby 1. linie.

Závěr

Hledání nových molekulárně genetických markerů u nemocných s AML je důležité pro stanovení individuálního léčebného přístupu, zejména u nemocných ve středním cytogenetickém riziku. Z důvodu vysoké peritransplantační morbidity a mortality je nutné vyčlenit skupinu nemocných, kteří v rámci 1. léčebné linie neprofitují z provedení alogenní transplantace. Metody celogenomového sekvenování umožnily prokázat celou řadu mutací genů, které hrají významnou roli v patogenezi AML a mají význam pro prognostickou stratifikaci. Kromě prognostického významu představují mutované geny také potenciál pro vývoj nové cílené léčby. V rámci klinických studií jsou v současné době hodnoceny inhibitory *FLT3*, *IDH1* a *IDH2*. Nové terapeutické přístupy jsou z důvodu neuspokojivé prognózy nemocných s AML vysoce očekávány.

Velké klinické studie prokázaly příznivý vliv na OS nemocných pouze u mutace genu *NPM1* a bialelické mutace *CEBPA*, naopak jasně negativní vliv na prognózu má mutace genu *FLT3* a *DNMT3A*. Mutace *NPM1, FLT3-ITD* a *DNMT3A* se na pracovišti Interní hematologické a onkologické kliniky (IHOK) FN Brno rutinně vyšetřují u všech nemocných s nově diagnostikovanou AML, u kterých je plánováno zahájení intenzivní terapie. Z důvodu velmi nízké incidence bialelické mutace *CEBPA* se tato mutace standardně nevyšetřuje. Z nových molekulárně genetických markerů je negativní prognostický význam prokázán pouze u mutace *ASXL1*, která rovněž z důvodů nízké incidence není na IHOK vyšetřována. U ostatních markerů jsou výsledky jednotlivých prací diskrepantní a jejich prognostický význam není zcela jasně definován.

Literatura

1. Grimwade D, Walker H, Oliver F et al. The importance of diagnostic cytogenetics on outcome in AML: analysis of 1,612 patients entered into the MRC AML 10 trial. The medical research council adult and children's leukaemia working parties. Blood 1998; 92(7): 2322–2333.
2. Wakita S, Yamaguchi H, Ueki T et al. Complex molecular genetic abnormalities involving three or more genetic mutations are important prognostic factors for acute myeloid leukemia. Leukemia 2016; 30(3): 545–554. doi: 10.1038/leu.2015.288.
3. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. 4th ed. Lyon (France): IARC 2008.
4. Döhner H, Estey EH, Amadori S et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet. Blood 2010; 115(3): 453–474. doi: 10.1182/blood-2009-07-235358.
5. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. Blood 2016; 127(20): 2391–2405. doi: 10.1182/blood-2016-03-643544.
6. Gilliland DG, Griffin JD. The roles of FLT3 in hematopoiesis and leukemia. Blood 2002; 100(5): 1532–1542.
7. Takahashi S. Current findings for recurring mutations in acute myeloid leukemia. J Hematol Oncol 2011; 4: 36. doi: 10.1186/1756-8722-4-36.
8. Welch JS, Ley TJ, Link DC et al. The origin and evolution of mutations in acute myeloid leukemia. Cell 2012; 150(2): 264–278. doi: 10.1016/j.cell.2012.06.023.
9. Cancer Genome Atlas Research Network. Genomic and epigenomic landscapes of adult de novo acute myeloid leukemia. N Engl J Med 2013; 368(22): 2059–2074. doi: 10.1056/NEJMoa1301689.
10. Ding L, Ley TJ, Larson DE et al. Clonal evolution in relapsed acute myeloid leukaemia revealed by whole-genome sequencing. Nature 2012; 481(7382): 506–510. doi: 10.1038/nature10738.
11. Shlush LI, Zandi S, Mitchell A et al. Identification of pre-leukaemic haematopoietic stem cells in acute leukaemia. Nature 2014; 506(7488): 328–333. doi: 10.1038/nature13038.
12. Xie M, Lu C, Wang J et al. Age-related mutations associated with clonal hematopoietic expansion and malignancies. Nat Med 2014; 20(12): 1472–1478. doi: 10.1038/nm.3733.
13. Grimwade D, Ivey A, Huntly BJ. Molecular landscape of acute myeloid leukemia in younger adults and its clinical relevance. Blood 2016; 127(1): 29–41. doi: 10.1182/blood-2015-07-604496.
14. Wong TN, Miller CA, Klco JM et al. Rapid expansion of preexisting nonleukemic hematopoietic clones frequently follows induction therapy for de novo AML. Blood 2016; 127(7): 893–897. doi: 10.1182/blood-2015-10-677021.
15. Greaves M, Maley CC. Clonal evolution in cancer. Nature 2012; 481(7381): 306–313.
16. Grimwade D, Walker H, Harrison G et al. The predictive value of hierarchical cytogenetic classification in older adults with acute myeloid leukemia (AML): analysis of 1,065 patients entered into the United Kingdom Medical Research Council AML11 trial. Blood 2001; 98(5): 1312–1320.
17. Meyer SC, Levine RL. Translational implications of somatic genomics in acute myeloid leukaemia. Lancet Oncol 2014; 15(9): e382–e394. doi: 10.1016/S1470-2045(14)70008-7.
18. Marcucci G, Haferlach T, Döhner H. Molecular genetics of adult acute myeloid leukemia: prognostic and therapeutic implications. J Clin Oncol 2011; 29(5): 475–486. doi: 10.1200/JCO.2010.30.2554.
19. Klco JM, Miller CA, Griffith M et al. Association between mutation clearance after induction therapy and outcomes in acute myeloid leukemia. JAMA 2015; 314(8): 811–822. doi: 10.1001/jama.2015.9643.
20. Kottaridis PD, Gale RE, Frew ME et al. The presence of a FLT3 internal tandem duplication in patients with acute myeloid leukemia (AML) adds important prognostic information to cytogenetic risk group and response to the first cycle of chemotherapy: analysis of 854 patients from the United Kingdom Medical Research Council AML 10 and 12 trials. Blood 2001; 98(6): 1752–1759.
21. Nakao M, Yokota S, Iwai T et al. Internal tandem duplication of the flt3 gene found in acute myeloid leukemia. Leukemia 1996; 10(12): 1911–1918.
22. Thiede C, Steudel C, Mohr B et al. Analysis of FLT3-activating mutations in 979 patients with acute myelogenous leukemia: association with FAB subtypes and identification of subgroups with poor prognosis. Blood 2002; 99(12): 4326–4335.
23. Yamamoto Y, Kiyoi H, Nakano Y et al. Activating mutation of D835 within the activation loop of FLT3 in human hematologic malignancies. Blood 2001; 97(8): 2434–2439.
24. Cloos J, Goemans BF, Hess CJ et al. Stability and prognostic influence of FLT3 mutations in paired initial and relapsed AML samples. Leukemia 2006; 20(7): 1217–1220.
25. Li J, Zhang X, Sejas DP et al. Negative regulation of p53 by nucleophosmin antagonizes stress-induced apoptosis in human normal and malignant hematopoietic cells. Leuk Res 2005; 29(12): 1415–1423.
26. Falini B, Mecucci C, Tiacci E et al. Cytoplasmic nucleophosmin in acute myelogenous leukemia with a normal karyotype. N Engl J Med 2005; 352(3): 254–266.
27. Krönke J, Bullinger L, Teleanu V et al. Clonal evolution in relapsed NPM1-mutated acute myeloid leukemia. Blood 2013; 122(1): 100–108. doi: 10.1182/blood-2013-01-479188.
28. Thiede C, Koch S, Creutzig E et al. Prevalence and prognostic impact of NPM1 mutations in 1485 adult patients with acute myeloid leukemia (AML). Blood 2006; 107(10): 4011–4020.
29. Pabst T, Mueller BU, Zhang P et al. Dominant-negative mutations of CEBPA, encoding CCAAT/enhancer binding protein-alpha (C/EBPalpha), in acute myeloid leukemia. Nat Genet 2001; 27(3): 263–270.
30. Fasan A, Haferlach C, Alpermann T et al. The role of different genetic subtypes of CEBPA mutated AML. Leukemia 2014; 28(4): 794–803. doi: 10.1038/leu.2013.273.
31. Wouters BJ, Löwenberg B, Erpelinck-Verschueren CA et al. Double CEBPA mutations, but not single CEBPA mutations, define a subgroup of acute myeloid leukemia with a distinctive gene expression profile that is uniquely associated with a favorable outcome. Blood 2009; 113(13): 3088–3091. doi: 10.1182/blood-2008-09-179895.
32. Green CL, Koo KK, Hills RK et al. Prognostic significance of CEBPA mutations in a large cohort of younger adult patients with acute myeloid leukemia: impact of double CEBPA mutations and the interaction with FLT3 and NPM1 mutations. J Clin Oncol 2010; 28(16): 2739–2747. doi: 10.1200/JCO.2009.26.2501.
33. Corces-Zimmerman MR, Hong WJ, Weissman IL et al. Preleukemic mutations in human acute myeloid leukemia affect epigenetic regulators and persist in remission.

Proc Natl Acad Sci U S A 2014; 111(7): 2548–2553. doi: 10.1073/pnas.1324297111.
34. Genovese G, Kähler AK, Handsaker RE et al. Clonal hematopoiesis and blood-cancer risk inferred from blood DNA sequence. N Engl J Med 2014; 371(26): 2477–2487. doi: 10.1056/NEJMoa1409405.
35. Challen GA, Sun D, Jeong M et al. Dnmt3a is essential for hematopoietic stem cell differentiation. Nat Genet 2012; 44(1): 23–31. doi: 10.1038/ng.1009.
36. Yan XJ, Xu J, Gu ZH et al. Exome sequencing identifies somatic mutations of DNA methyltransferase gene DNMT3A in acute monocytic leukemia. Nat Genet 2011; 43(4): 309–315. doi: 10.1038/ng.788.
37. Gale RE, Lamb K, Allen C et al. Simpson's paradox and the impact of different dnmt3a mutations on outcome in younger adults with acute myeloid leukemia. J Clin Oncol 2015; 33(18): 2072–2083. doi: 10.1200/JCO.2014.59.2022.
38. Thol F, Damm F, Lüdeking A et al. Incidence and prognostic influence of DNMT3A mutations in acute myeloid leukemia. J Clin Oncol 2011; 29(21): 2889–2896. doi: 10.1200/JCO.2011.35.4894.
39. Ley TJ, Ding L, Walter MJ et al. DNMT3A mutations in acute myeloid leukemia. N Engl J Med 2010; 363(25): 2424–2433. doi: 10.1056/NEJMoa1005143.
40. Marcucci G, Metzeler KH, Schwind S et al. Age-related prognostic impact of different types of DNMT3A mutations in adults with primary cytogenetically normal acute myeloid leukemia. J Clin Oncol 2012; 30(7): 742–750. doi: 10.1200/JCO.2011.39.2092.
41. Gaidzik VI, Schlenk RF, Paschka P et al. Clinical impact of DNMT3A mutations in younger adult patients with acute myeloid leukemia: results of the AML Study Group (AMLSG). Blood 2013; 121(23): 4769–4777. doi: 10.1182/blood-2012-10-461624.
42. Paschka P, Schlenk RF, Gaidzik VI et al. IDH1 and IDH2 mutations are frequent genetic alterations in acute myeloid leukemia and confer adverse prognosis in cytogenetically normal acute myeloid leukemia with NPM1 mutation without FLT3 internal tandem duplication. J Clin Oncol 2010; 28(22): 3636–3643. doi: 10.1200/JCO.2010.28.3762.
43. Mardis ER, Ding L, Dooling DJ et al. Recurring mutations found by sequencing an acute myeloid leukemia genome. N Engl J Med 2009; 361(11): 1058–1066. doi: 10.1056/NEJMoa0903840.
44. Marcucci G, Maharry K, Wu YZ et al. IDH1 and IDH2 gene mutations identify novel molecular subsets within de novo cytogenetically normal acute myeloid leukemia: a Cancer and Leukemia Group B study. J Clin Oncol 2010; 28(14): 2348–2355. doi: 10.1200/JCO.2009.27.3730.
45. Reitman ZJ, Yan H. Isocitrate dehydrogenase 1 and 2 mutations in cancer: alterations at a crossroads of cellular metabolism. J Natl Cancer Inst 2010; 102(13): 932–941. doi: 10.1093/jnci/djq187.
46. Metzeler KH, Maharry K, Radmacher MD et al. TET2 mutations improve the new European LeukemiaNet risk classification of acute myeloid leukemia: a Cancer and Leukemia Group B study. J Clin Oncol 2011; 29(10): 1373–1381. doi: 10.1200/JCO.2010.32.7742.
47. Figueroa ME, Abdel-Wahab O, Lu C et al. Leukemic IDH1 and IDH2 mutations result in a hypermethylation phenotype, disrupt TET2 function, and impair hematopoietic differentiation. Cancer Cell 2010; 18(6): 553–567. doi: 10.1016/j.ccr.2010.11.015.
48. Schnittger S, Haferlach C, Ulke M et al. IDH1 mutations are detected in 6.6% of 1414 AML patients and are associated with intermediate risk karyotype and unfavorable prognosis in adults younger than 60 years and unmutated NPM1 status. Blood 2010; 116(25): 5486–5496. doi: 10.1182/blood-2010-02-267955.
49. Patel JP, Gönen M, Figueroa ME et al. Prognostic relevance of integrated genetic profiling in acute myeloid leukemia. N Engl J Med 2012; 366(12): 1079–1089. doi: 10.1056/NEJMoa1112304.
50. Ko M, Huang Y, Jankowska AM et al. Impaired hydroxylation of 5-methylcytosine in myeloid cancers with mutant TET2. Nature 2010; 468(7325): 839–843. doi: 10.1038/nature09586.
51. Busque L, Patel JP, Figueroa ME et al. Recurrent somatic TET2 mutations in normal elderly individuals with clonal hematopoiesis. Nat Genet 2012; 44(11): 1179–1181. doi: 10.1038/ng.2413.
52. Chou WC, Chou SC, Liu CY et al. TET2 mutation is an unfavorable prognostic factor in acute myeloid leukemia patients with intermediate-risk cytogenetics. Blood 2011; 118(14): 3803–3810. doi: 10.1182/blood-2011-02-339747.
53. Gaidzik VI, Paschka P, Späth D et al. TET2 mutations in acute myeloid leukemia (AML): results from a comprehensive genetic and clinical analysis of the AML study group. J Clin Oncol 2012; 30(12): 1350–1357. doi: 10.1200/JCO.2011.39.2886.
54. Lee SW, Cho YS, Na JM et al. ASXL1 represses retinoic acid receptor-mediated transcription through associating with HP1 and LSD1. J Biol Chem 2010; 285(1): 18–29. doi: 10.1074/jbc.M109.065862.
55. Gelsi-Boyer V, Trouplin V, Adélaïde J et al. Mutations of polycomb-associated gene ASXL1 in myelodysplastic syndromes and chronic myelomonocytic leukaemia. Br J Haematol 2009; 145(6): 788–800. doi: 10.1111/j.1365-2141.2009.07697.x.
56. Abdel-Wahab O, Manshouri T, Patel J et al. Genetic analysis of transforming events that convert chronic myeloproliferative neoplasms to leukemias. Cancer Res 2010; 70(2): 447–452. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-09-3783.
57. Schnittger S, Eder C, Jeromin S et al. ASXL1 exon 12 mutations are frequent in AML with intermediate risk karyotype and are independently associated with an adverse outcome. Leukemia 2013; 27(1): 82–91. doi: 10.1038/leu.2012.262.
58. Chou WC, Huang HH, Hou HA et al. Distinct clinical and biological features of de novo acute myeloid leukemia with additional sex comb-like 1 (ASXL1) mutations. Blood 2010; 116(20): 4086–4094. doi: 10.1182/blood-2010-05-283291.
59. Rocquain J, Carbuccia N, Trouplin V et al. Combined mutations of ASXL1, CBL, FLT3, IDH1, IDH2, JAK2, KRAS, NPM1, NRAS, RUNX1, TET2 and WT1 genes in myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemias. BMC Cancer 2010; 10: 401. doi: 10.1186/1471-2407-10-401.

Molekulární genetika kolorektálního karcinomu

Molecular Pathogenesis of Colorectal Cancer

Král J.[1,2], Slyšková J.[2], Vodička P.[2], Špičák J.[1]

[1] Klinika hepatogastroenterologie, Transplantcentrum, IKEM, Praha
[2] Oddělení molekulární biologie nádorů, Ústav experimentální medicíny, AV ČR, v.v.i., Praha

Souhrn

Východiska: Kolorektální karcinom (colorectal cancer – CRC) je nádorové onemocnění tlustého střeva s každoročně diagnostikovanými téměř 1,3 miliony nových pacientů celosvětově. Mortalita na toto závažné nádorové onemocnění dosahuje již 8,5 %. Jedná se o 2. nečastější nádorové onemocnění u žen (1. nádor prsu) a 3. u mužů (1. nádor plic, 2. nádor prostaty). Tímto CRC patří vedle nádorů prsu, prostaty a plic k nejčastějším nádorovým onemocnění u mužů a žen na světě. V České republice je stále více než 50 % pacientů s CRC diagnostikováno v pokročilém stadiu (stadium III a IV). Z molekulárně genetického pohledu je CRC velice heterogenní onemocnění, na kterém se podílí mnoho faktorů. CRC má formu jak hereditární, kde dominují mutace v genech *APC* (FAP, aFAP), MMR (HNPCC) atd., jejíž výskyt se pohybuje okolo 5–10 %, tak formu sporadickou s výskytem 90–95 %, kde dochází k postupné akumulaci mutací v široké škále genů. Znalost genetické podstaty (*APC, KRAS*, MMR, mikroRNA, CIMP atd.) jak hereditární, tak sporadické formy CRC je nezbytná nejen pro zahájení léčby, ale také pro odhadnutí celkového rizika, prognózy a následného follow-up pacienta. ***Závěr:*** Tento článek shrnuje dosavadní molekulárně genetické aspekty patogeneze CRC.

Klíčová slova

kolorektální karcinom – patogeneze – hereditární – sporadický – rizikové faktory

Summary

Background: Colorectal cancer (CRC) remains a major health burden with an incidence of 1.3 million new cases worldwide and a mortality of almost 8.5%. It is the 2nd most common cancer in women (1st breast carcinoma) and 3rd most common in men (1st lung carcinoma, 2nd prostate carcinoma). CRC alongside breast, lung, prostate and stomach cancer is in the top five most common cancers in men and women worldwide. There are still more than 50% of CRC patients diagnosed with advanced disease (stage III and IV) in the Czech Republic. Genetically, CRC is a very heterogeneous disease with many factors playing key roles in pathogenesis. There are two types of CRC, hereditary with an incidence of between 5% and 10% with *APC* (FAP, aFAP) or MMR (HNPCC) genes affected, and sporadic colorectal cancer with an incidence of 90–95% with a lot of mutations in variable genes that accumulate during pathogenesis (*APC, KRAS*, MMR, microRNA, CIMP etc.). Knowledge of the molecular pathogenesis of CRC (hereditary, sporadic) is crucial for treatment, assessment of risk, prognosis, and patient follow-up. ***Conclusion:*** This article summarizes the molecular pathogenesis of sporadic and hereditary CRC.

Key words

colorectal cancer – pathogenesis – hereditary – sporadic – risk factors

Práce byla podpořena grantem GA ČR č. 15-082-39S.

This work was supported by grant of Grant Agency of the Czech Republic No. 15-08239S.

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 recommendation for biomedical papers.

MUDr. Jan Král
Klinika hepatogastroenterologie
Transplantcentrum, IKEM
Vídeňská 1958/9
140 21 Praha 4
e-mail: jan.kral@centrum.cz

Obdrženo/Submitted: 3. 5. 2016
Přijato/Accepted: 2. 6. 2016

http://dx.doi.org/10.14735/amko2016419

Epidemiologie kolorektálního karcinomu

Kolorektální karcinom (colorectal cancer – CRC) je mimořádně závažné nádorové onemocnění. V roce 2012 bylo celosvětově diagnostikováno přes 1,2 milionů pacientů s nádorem tlustého střeva, což činí 8 % ze všech nádorových onemocnění [1]. V rámci Evropy zaujímá ČR ve výskytu CRC 5. místo (1. Slovensko, 2. Maďarsko, 3. Dánsko, 4. Holandsko) a stejnou příčku drží i ve světě. Každoročně je v ČR diagnostikováno přes 8 000 nových pacientů a okolo 4 000 pacientů v jeho důsledku umírá. Jedná se o 2. nejčastější nádorové onemocnění u žen a 3. u mužů. Roční nárůst pacientů s daným onemocněním činil v minulých dekádách 2–3 %. Více než 50 % pacientů je diagnostikováno v pokročilém stadiu (stadium III a IV), které má horší prognózu nežli stadia časná. V posledních letech lze pozorovat trend snížené incidence, mortality a častější detekce časnějších stadií, přičemž jednou z možných příčin může být i screening. Veškeré klinické aspekty tohoto onemocnění se odvíjejí od molekulární genetiky a přehled této problematiky je cílem následujících řádků.

Formy CRC

CRC lze rozdělit na **sporadický** (90–95 % CRC) a **hereditární** (5–10 % CRC).

Sporadický CRC vzniká v důsledku postupné akumulace mutací. Tento proces trvající 10–15 let je znám jako tzv. adenom-karcinom sekvence a byl prvně popsán Fearonem a Volgelsteinem v roce 1990 [2,3]. Jedná se o nejčastější cestu vzniku CRC. Další sekvence, které mohou vést ke vzniku sporadického nádoru, jsou tzv. *de novo*, kde dochází ke vzniku nádoru na podkladě nově vzniklé mutace zpravidla genu *TP53* bez předchozí mutace v *APC* genu. Kromě této cesty vzniká také CRC v zánětlivém terénu, např. u pacientů s idiopatickým střevním zánětem (inflammatory bowel disease – IBD), kde se zvyšuje riziko vzniku mutace vedoucí ke CRC nebo serátnímu adenomu (serrated adenoma). CRC u serátních adenomů (pilovité adenomy) vzniká nejčastěji časnou mutací v *KRAS* a *BRAF* genech [4,5].

Hereditární formy vznikají na podkladě zděděné mutace [6]. Zahrnují familiární adenomatózní polypózu (FAP), atenuovanou formu FAP (aFAP), hereditární nepolypózní formu CRC (hereditary nonpolyposis colorectal cancer – HNPCC), MYH asociovanou polypózu a polypózní syndromy [7].

FAP je autozomálně dominantní onemocnění, které je charakteristické vrozenou mutací v *APC* genu, což vede k narušení Wnt/β-kateninové signální dráhy (viz dále). Nicméně u 5–30 % pacientů s FAP není mutace v *APC* genu identifikována, ale byla u nich zjištěna mutace v *MYH* genu (viz dále) [8–10]. FAP zaujímá celkem 1 % ze všech CRC a je charakteristická výskytem velkého počtu polypů (stovky až tisíce) v druhé dekádě života s prakticky 100% rizikem malignizace. Z tohoto důvodu se u těchto pacientů doporučuje časná kolektomie. Součástí syndromu jsou rovněž extraintestinální projevy jako kožní léze, osteomy a extraintestinální nádorová onemocnění. Atenuovaná forma FAP je typická menším počtem polypů, pozdějším začátkem onemocnění a také menší frekvencí extraintestinálních příznaků.

U hereditární nepolypózní formy CRC (HNPCC, Lynchův syndrom) nacházíme vrozenou mutaci v tzv. genech opravy chybně spárovaných bazí (DNA mismatch repair genes – MMR) [11]. Mutací v MMR dochází k hromadění replikačních chyb, které nejsou opraveny, a tím dochází k větší pravděpodobnosti vzniku CRC. HNPCC je nejčastější formu vrozeného CRC (2–3 %). Pacienti s HNPCC jsou zpravidla nižšího věku s vyšším rizikem vzniku synchronních a extraintestinálních nádorů (ovaria, endometrium, žaludek, pankreas, atd.) [12].

MYH-asociovaná polypóza je autozomálně recesivní onemocnění zapříčiněné mutací v *MYH* genech vzniklé poškozením bázové excizní reparace (BER). Tato forma je charakteristická vysokým počtem mutací v *APC* genu, vysokou frekvencí tzv. mikrosatelitů (sekvence opakujících se nukleotidů) vznikající poruchou systému opravy chybného párování bazí (DNA mismatch repair systém) a nízkou frekvencí ztráty jedné alely genu – tzv. ztráta heterozygozity (loss of heterozygosity – LOH). U pacientů nacházíme zpravidla desítky polypů se zhruba 65% pravděpodobností vzniku karcinomu [13].

Hamartogenní polypózní syndromy zahrnují Peutz-Jaeghersův syndrom (PJS), juvenilní polypózní syndrom (JPS) a Cowdenův syndrom. PJS je syndrom autozomálně dominantní s výskytem polypů v gastrointestinálním traktu (GIT) a mukokutánní pigmentací. JPS je rovněž autozomálně dominantní syndrom s výskytem četných juvenilních polypů, které jsou spojené s vyšším rizikem nádorů pankreatu. Hlavním znakem Cowdenova syndromu, který s sebou nese i vyšší riziko vzniku nádoru prsu, štítné žlázy a endometria, je výskyt hamartogenních polypů v GIT.

Patogeneze CRC

CRC vzniká postupnou akumulací genetických mutací a epigenetických změn, které vedou k přeměně normální sliznice tlustého střeva v nádorovou tkáň. Nejčastější molekulární a genetické změny vedoucí ke vzniku nádoru jsou strukturální a numerické změny chromozomů označované jako **chromozomální instabilita** (CIN), dále pak zvyšování počtu kopií opakujících se sekvencí DNA (tzv. mikrosatelity) způsobené defektní opravou špatně párovaných bází, označované jako **mikrosatelitní instabilita** (MSI), a nakonec aberantní hypermetylace **promotorových oblastí genů, CpG island methylator phenotype** (CIMP) [13–15]. Přítomnost CIN vylučuje přítomnost MSI a vice versa, nicméně některé studie poukazují, že oba fenomény se mohou prolínat [16].

Chromozomální instabilita (CIN)

CIN se spojuje se vznikem CRC v cca 65–70 % případů. Charakterizuje ji nadbytek kopií či ztráta celých chromozomů či jejich oblastí, které se podílejí na patogenezi CRC. Důsledkem CIN je aneuploidie (chybný počet chromozomů), chromozomální amplifikace (zmnožení DNA) či LOH (ztráta jedné alely daného lokusu). Příznačně jsou takto postiženy oblasti onkogenů a tumor supresorových genů *APC, KRAS* či *TP53* [13,17].

Mikrosatelitní instabilita (MSI)

Mikrosatelity jsou krátké sekvence opakujících se nukleotidů, které se nacházejí v celém genomu a jsou náchylné k chybám, ke kterým dochází během replikace. Chyby, které vzniknou v mikro-

satelitech, jsou rozpoznány systémem DNA mismatch repair (MMR, viz výše), který opravuje chyby v párování bazí. MSI je odrazem poškození MMR systému. Na funkci MMR systému se podílejí geny *MSH2, MLH1, MSH6, PMS2, MLH3, MSH3, PMS1* a *Exol*. MSI jako důsledek poruchy MMR systému je spojena jak s hereditární formou (HNPCC), tak i se sporadickou formou CRC (15 % nádorů). V patogenezi rozlišujeme CRC s MSI-high a MSI-low, viz níže [13,17].

Metylace CpG ostrůvků – CIMP

CpG metylace je kromě modifikace histonů další epigenetická změna, která nevede ke změně DNA sekvence, ale ovlivňuje promotorovou oblast daného genu, a tím ovlivní jeho expresi zpravidla snížením. Nejčastěji k metylaci DNA dochází v oblasti 5′-CG-3′ dinukleotidu, resp. vzniká pevná kovalentní vazba -CH_3 skupiny na pozici 5′ cytozinu v opakujícím se CG dinukleotidu. Geny, které jsou ovlivněny hypermetylací promotorové oblasti, jsou především *APC, MCC, MLH1, MGMT* a další [18]. Tumory s CIMP bývají spojeny s přítomností *BRAF* mutace a MSI. CIMP je příčinou cca 15–20 % sporadického CRC. Vyskytuje se častěji u žen, starších pacientů, kuřáků. Špatně diferencované a mucinózní tumory vycházejí nejčastěji ze serátních adenomů pravého tračníku [19,20].

Jedním z dalších důležitých reparačních genů, který je v patogenezi CRC metylován, je *MGMT* (O^6-metylguanin DNA metyltransferáza). Ztráta funkce *MGMT* je téměř výhradně spojena s CpG metylací. Funkcí tohoto DNA reparačního enzymu je ochraňovat buňky před působením exogenních karcinogenů mechanizmem odstraňování alkyl skupiny z pozice O^6 guaninu. Metylaci promotorové oblasti MGMT můžeme nalézt až ve 40 % CRC, nejčastěji v serátních adenomech. Předpokládá se, že metylace MGMT je v onkogenezi jednou z prvních událostí. Pacienti s defektním MGMT mají větší procento mutací v *KRAS* genu a lépe reagují na chemoterapii. Pacienti bez MGMT metylace přežívají déle nežli pacienti s metylací [21,22].

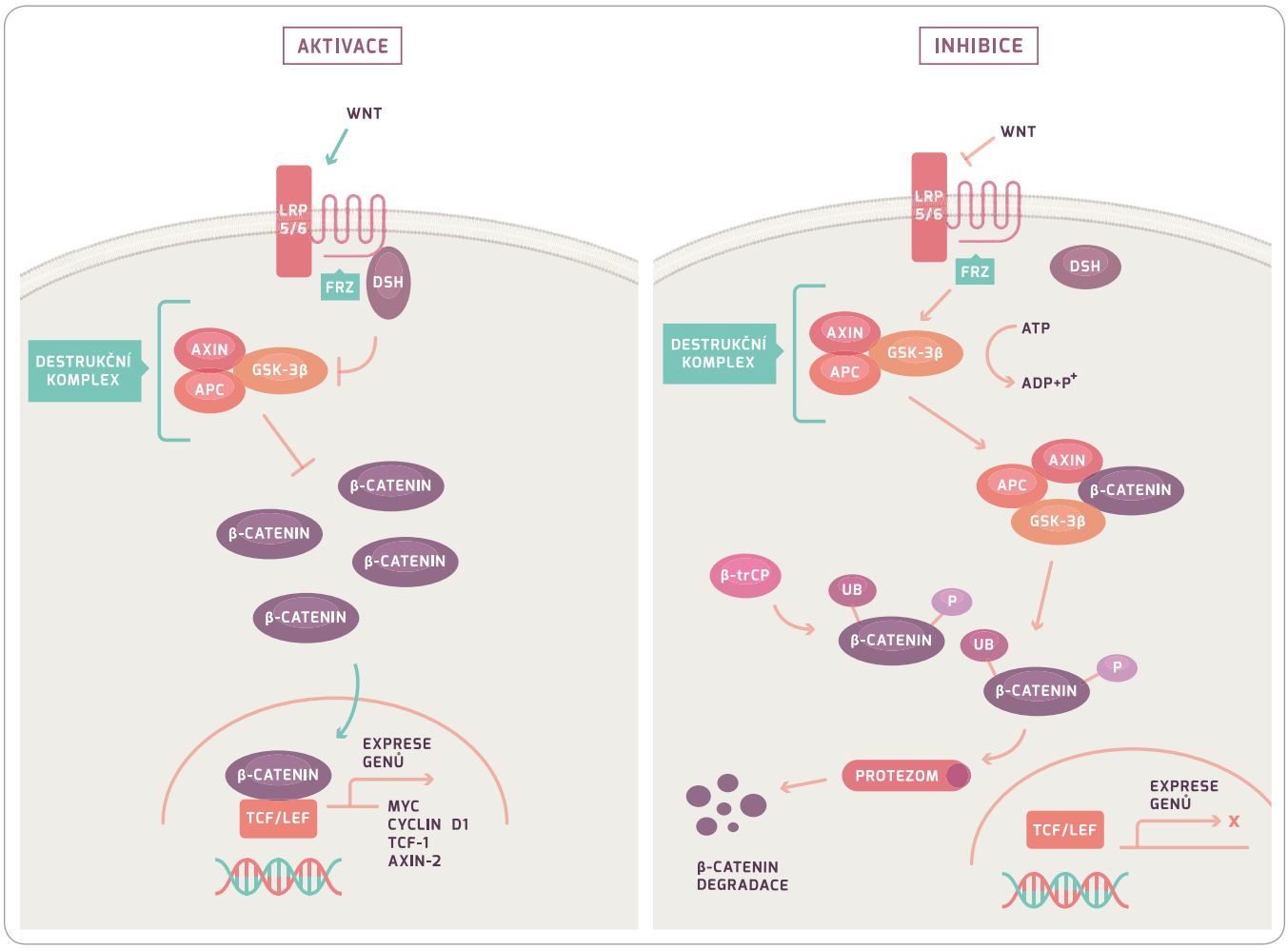
Genetické změny vedoucí ke CRC

Mutace v tumor supresorových genech

APC gen

APC gen je tumor supresorový gen lokalizovaný na dlouhém raménku 5. chromozomu (5q21). Byl objeven v roce 1987 a poprvé naklonován v roce 1991 [23]. Podílí se nejenom na vzniku sporadického CRC, ale rovněž hraje významnou roli v patogenezi hereditárních forem CRC, konkrétně při vzniku FAP a také aFAP [24].

APC gen s 15 exony hraje důležitou roli v proliferaci, diferenciaci, migraci, apoptóze a také v řízení buněčného cyklu vč. stabilizace mikrotubulů během mitózy.



Obr. 1. APC signální dráha.

Mutace v *APC* genu se vyskytuje u časných stadií nádoru a zpravidla se jedná o bodové mutace či LOH. K manifestaci mutace *APC* je důležité, aby dle Knudsonovy hypotézy dvou nezávislých „hitů" byly mutovány obě dvě alely tohoto genu, což vede ke ztrátě tumor supresivního účinku genu [25]. Výsledkem je poté zkrácený APC protein, který částečně ztrácí svou funkci.

APC gen řídí **Wnt/β-kateninovou signální dráhu** (obr. 1). Za fyziologických podmínek *APC* gen tvoří protein, který společně s Axin/Axin2 a GSK-3β vytváří tzv. destruktivní komplex, který iniciuje ubikvitaci (označení) β-kateninu s jeho následnou degradací v proteazomu (proteinový komplex degradující nepotřebné či poškozené proteiny). Mutace v *APC* genu vede ke snížení degradace β-kateninu (protein koordinující buněčnou adhezi a genovou transkripci) a následně k jeho hromadění. Nahromaděný β-katenin vstupuje do jádra, váže se na jaderné receptory a indukuje transkripci mnoha genů vč. *cyklinu D1, c-myc* a *CRD-BP*. Důsledkem je nejenom nekontrolovatelná proliferace a růst buňky, ale rovněž i indukce apoptózy. Poslední studie dokazují, že ztráta genu vedoucí k proliferaci a vyššímu přežívání buňky je závislá na jejich původní diferenciaci [24,26–29].

TP53

TP53 zvaný taktéž „strážný anděl" je tumor supresivní gen, lokalizovaný na krátkém raménku 17. chromozomu (17p13.1). Základní funkcí *TP53* je regulace buněčného cyklu (zastavení cyklu a možnost zahájení opravy DNA), apoptózy a buněčného metabolizmu [14,30,31]. V případě poškození DNA *TP53* koordinuje opravu DNA, a pokud ji nelze opravit, tak navodí apoptózu buňky. *TP53* je nejčastěji postiženým genem v mutagenezi mnoha nádorových onemocnění. Mutace bývá nalézána až u 50 % všech nádorů [32]. Je známo celkem 2 314 mutací *TP53*, které jsou buď aktivační (cca 71 %, protein se váže na Mdm2 a dojde k jeho degradaci), nebo inaktivační (29 %, nemožnost regulace genové exprese) [33]. Stejně jako u *APC* genu, tak i u *TP53* je k funkčnímu projevu nutná mutace obou alel.

Zpravidla dochází ke ztrátě alely na 17. chromozomu a zároveň k mutaci druhé alely na 2. chromozomu. Až 80 % mutací představuje missense (zařazení odlišné aminokyseliny vedoucí ke změně až nefunkčnosti výsledného proteinu) vedoucí k expresi stabilního, stejně dlouhého proteinu, který ale ztrácí možnost vazby na DNA a její následnou regulaci [34]. Mutace genu bývá přítomna v pozdější fázi vývoje CRC a zpravidla vede k přechodu adenomu do adenokarcinomu. Pokročilé formy CRC (T1–4 N1–2 M0–1) mají ve srovnání se stadii T1–4 N0 M0 vyšší frekvenci mutací. Mutace v *TP53* bývá přítomna až v 60 % tumorů a pro významnou heterogenitu mutantů *TP53* lze jen těžko odhadnout jejich prediktivní a prognostický význam. Pacienti s mutací *TP53* (aktivační i inaktivační) více profitují z chemoterapie.

Mutace v onkogenech

KRAS

KRAS gen patří do rodiny proto-onkogenů (*HRAS, NRAS*) a je mutován (nejčastěji exon 2 a exon 3) u 30–60 % pacientů se sporadickým CRC [13]. S mutací *KRAS* u familiární formy se setkáváme jen zřídka. Z hlediska posloupnosti jeho mutaci předchází mutace *APC* genu. Různé mutace *KRAS* genu (exon 2, exon 3) mohou mít odlišné důsledky, např. odlišný účinek biologické terapie.

KRAS protein je 21KDa velký membránový protein, který hraje roli v buněčné signalizaci ovlivňující buněčný růst, přežití, diferenciaci, proliferaci a řadu dalších buněčných dějů. Konkrétně KRAS a BRAF (viz níže) jsou součástí RAS/RAF/MAPK signální dráhy (obr. 2) [35]. Mutovaný protein si zachovává aktivní formu z důvodu nefunkční GTPázové aktivity, která mění GTP na GDP, a tím má stimulační efekt na proliferaci a růst buňky. KRAS je aktivován přes EGFR receptor, který je během mutageneze CRC častokrát více exprimován a po jeho stimulaci dochází k aktivaci KRAS navázáním TGF. Při aktivaci receptoru EGFR dochází také ke stimulaci intracelulární kinázové domény. Ta poté aktivuje SOS, dále GRB a ten následně KRAS, který poté stimuluje BRAF. Dále signální kaskáda pokračuje přes MEK, ERK, až dojde k ovlivnění genové exprese a proliferace buňky [14]. Během aktivace EGFR receptoru dochází ke stimulaci PI3K (fostatidil inositol 4–5 bisfofát), který inhibuje apoptózu buňky. Tato dráha je poté regulována pomocí PTEN proteinu, který blokuje funkci PI3K [36,37].

Informace, zda pacient má, či nemá mutaci v *KRAS*, je velice důležitá z důvodu následné léčby monoklonálními protilátkami proti EGFR. I přes inhibici EGFR receptoru monoklonálními protilátkami mutují *KRAS* nebo *BRAF*. Geny mají aktivační konformaci a stále mohou stimulovat buněčnou proliferaci. Důsledkem je snížená odpověď na biologickou léčbu [15,38].

BRAF gen, stejně jako *KRAS*, je proto-onkogen, který je součástí RAF rodiny serin/treonin kináz a reguluje růst buňky skrze RAF-MAP signální dráhu. V této signální dráze zajišťuje tzv. down-regulaci KRAS a up-regulaci MEK. U sporadické formy nádorů se tato mutace vyskytuje cca v 10 %. Jedná se převážně o hotspot mutaci ve V600E. *BRAF* mutace byly identifikovány u 4 % pacientů s MSI-low a u 40 % s MSI-high. Stejně jako u *KRAS* pacienti s *BRAF* mutací mají horší odpověď na léčbu monoklonálními protilátkami proti EGFR. BRAF způsobuje sníženou expresi *KRAS* genu. Tento fakt je klinicky významný pouze tehdy, pokud *KRAS* mutace není přítomna [14,39,40].

I přes nepřítomnost mutace v *KRAS* či *BRAF* není léčba monoklonálními protilátkami 100% úspěšná. Byla identifikována další signální dráha, která hraje roli v patogenezi CRC, a to PI3K dráha. *PIK3CA* gen je mutován u více než 25 % pacientů s CRC. Při této mutaci dochází k aktivaci signální dráhy, která v konečném důsledku vede k inhibici apoptózy. Na druhou stranu protein PTEN má downregulující funkci na PI3K, a tudíž vede ke snížení aktivity signální dráhy. Nicméně setkáváme se i s mutací v *PTEN* genu, která má za následek neschopnost regulace PI3K signální dráhy vedoucí k horší odpovědi na biologickou léčbu a horšímu celkovému přežití (overall survival – OS) pacienta [15,41,42].

Mutaci můžeme nalézt rovněž v receptoru pro růstový faktor (TGFR). Známy jsou celkem tři formy tohoto receptoru, ale nejčastěji se setkáváme s mutací u TGF-βRII. Tato mutace je přítomna až

u 90 % pacientů s MSI. Mutace TGF-βRII vede k aktivaci PI3K, která vyústí v inhibici apoptózy, a rovněž povede k epiteliální/mezenchymální transformaci (proces, při kterém epitelové buňky ztrácejí buněčnou adhezi, a tím získávají možnost migrovat a stávají se z nich mezenchymální zárodečné buňky s možností diferenciace u mnoha buněčných typů; proces lze identifikovat při hojení ran, fibróze a v procesu metastazování). Transformace má za následek progresi, invazi a metastazování CRC.

Ztráta heterozygozity (LOH)

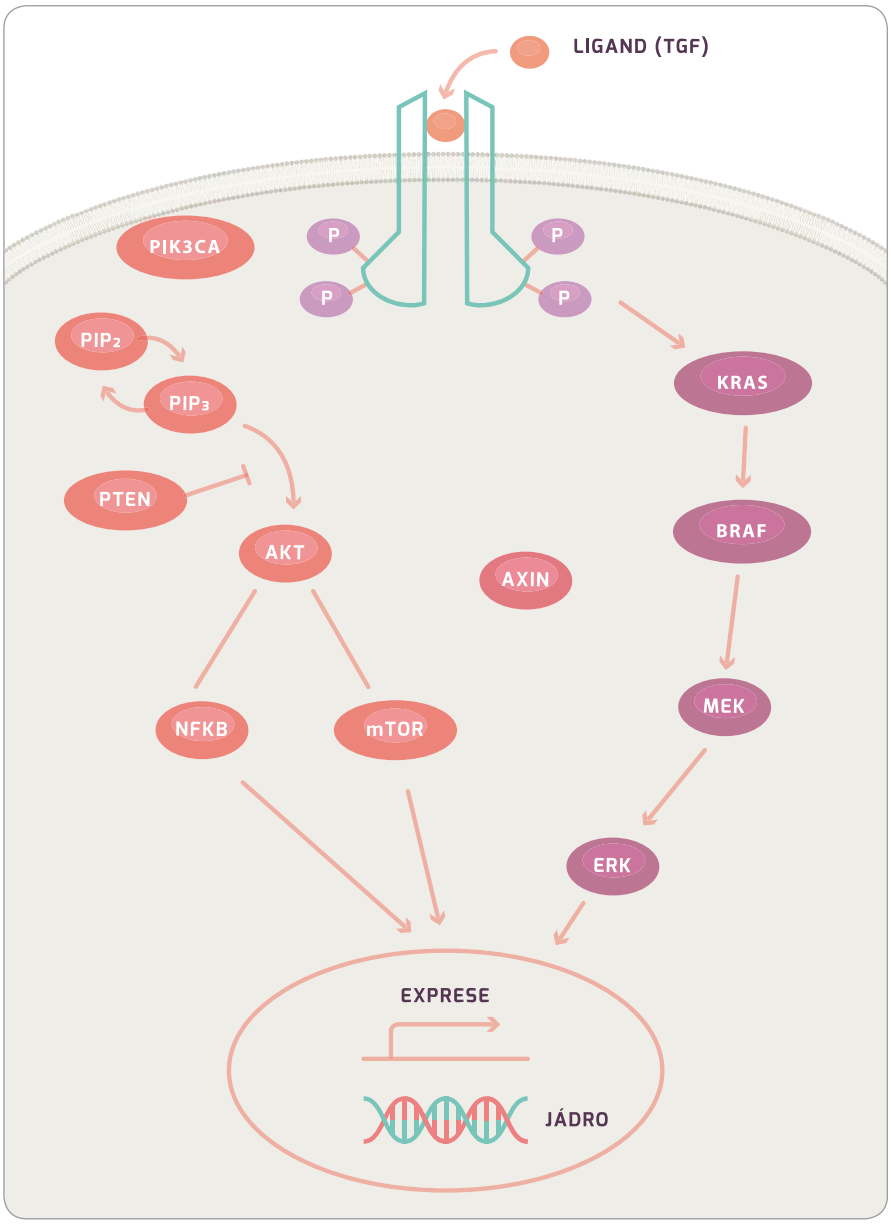
LOH byla popsána Knudsonem [43] a je dalším mechanizmem, který může vést ke vzniku CRC. Nejčastěji dochází k LOH na 18q chromozomu. Další chromozomy postiženy mechanizmem LOH jsou 1p, 5q, 17p. Na 5q se jedná o ztrátu alely pro *APC* gen, zatímco na 17p chromozomu se jedná o ztrátu alely pro TP53 [14].

DCC

Jeden z genů, který může být postižen na 18. chromozomu, je *DCC* gen, který je zodpovědný zejména za expresi DCC transmembránového proteinu, ale rovněž i za jiné produkty díky alternativnímu sestřihu (splicingu) [44]. Téměř 70 % CRC má přítomnou LOH genu *DCC* (exon 7) [44]. Kromě LOH *DCC* se v patogenezi uplatňují i jiné somatické mutace, např. bodová mutace či delece *DCC* [45]. *DCC* je tumor supresorový gen, ačkoliv o jeho jasném zařazení se vedou stále velké diskuze. Někdy je označován jako poslední obránce (Late Gatekeeper), který limituje progresi tumoru navozením apoptózy [46]. Jeho funkcí je blokovat růst buňky v případě absence svého ligandu (netrin-1). Netrin patří do rodiny difuzibilních proteinů podobných lamininu, který hraje důležitou roli v určování směru růstu a migrace axonů. Netrin-1 byl popsán jako faktor buněčného přežití [47]. Váže se na transmembránové receptory DCC a UNC5H (UNC5A, UNC5B, UNC5C) [47]. Oba receptory jsou schopné indukovat buněčnou smrt v nepřítomnosti svého ligandu, a proto receptory hrají roli v patogenezi CRC.

Koncentrace netrinu-1 je nejvyšší v oblasti báze krypt tlustého střeva a klesá apikálním směrem. V případě mutace *DCC* nebude přítomen transmembránový receptor pro netrin-1, a tudíž nebude navozena apoptóza a buňka bude nadále proliferovat. V nepřítomnosti netrinu-1 či při jeho nižší koncentraci (fyziologický děj) dochází k odštěpení intracelulární domény DCC proteinu neznámou kaspázou za vzniku ADD domény (addiction/dependent domain), která je schopná vazby na kaspázu 9, a tím aktivaci buněčné smrti [44,48]. Mutace v tomto genu nalézáme zpravidla až v pokročilých formách CRC, nikoliv v úvodní fázi patogeneze. Otázkou je, jak je tomu u mutace transmembránového proteinu UNC5H. LOH na 18. chromozomu můžeme najít v patogenezi i jiných nádorových onemocnění, jako jsou tumory žaludku, prostaty, endometria, ovarií atd. Ze studií vyplývá, že nemocní s LOH *DCC* mají horší prognózu nežli pacienti bez ní, a to z důvodu vyšší agresivity tumorózního procesu.

Jak již bylo řečeno výše, netrin-1 se váže kromě DCC i na UNC5H receptory (A, B, C), které při nepřítomnosti netrinu-1 indukují apoptózu. Mechanizmus indukce apoptózy je odlišný od DCC receptoru. Při absenci netrinu-1 dochází



Obr. 2. KRAS signální dráha.

ke štěpení intracelulární části UNC5H receptoru pomocí neznámé proteázy či kaspázy 3, která odhalí doménu, která následně zahájí apoptózu. Mutace této intracelulární části UNC5H receptoru povede k inhibici apoptózy. Exprese UNC5H receptoru je fyziologicky řízena pomocí genu *TP53*. V případě poškození DNA dochází ke zvýšené expresi UNC5H receptoru a následnému odštěpení intracelulární domény a navození apoptózy. *TP53* gen řídí expresi netrinu-1, který společně s UNC5H zpětně downreguluje expresi *TP53* genu, a díky vazbě netrin-1 a UNC5H inhibuje *TP53* indukovanou apoptózu buňky [45].

SMAD

Dalšími geny, které jsou lokalizovány na 18. chromozomu a mohou se podílet na patogenezi CRC, jsou *SMAD2* a *SMAD4*. Hrají zásadní roli v TGF-β signální dráze. TGF-β rodina zahrnuje TGF-β, aktiviny a kostní morfogenetický protein. Tyto proteiny se vážou na TGF-β receptory (TβRI, TβRII) mající široké spektrum účinku, jako je řízení buněčné proliferace, diferenciace, apoptózy, migrace a tvorby extracelulární mezibuněčné hmoty [49]. Po vazbě TGF-β na receptor dochází k aktivaci SMAD proteinu (Smad anchor for receptor activation), který zaktivuje intracelulární proteiny SMAD2 a SMAD3. Komplex SMAD2 a SMAD3 se naváže na SMAD4 a tento komplex SMAD2–4 putuje do jádra, kde se váže přímo na DNA sekvenci či na DNA transkripční faktory. Výsledkem vazby je inhibice růstu buňky či navození apoptózy. Buněčný cyklus se po aktivaci TGF-β zastaví v G1 fázi. *SMAD* gen je tudíž genem tumor supresorovým.

Výsledkem exprese *SMAD* jsou SMAD proteiny různých funkcí. R-SMAD (receptorové SMAD proteiny: 1, 2, 3, 5, 8), Co-SMAD (mediátorové SMAD proteiny: 4α, 4β), I-SMAD (inhibitorové SMAD proteiny: 6, 7) regulují genovou expresi. TGF-β/SMAD signální dráha musí být pečlivě regulována, což mají za úkol SMAD6 a 7. SMAD7 protein se váže na SMURF1,2 (E3 ubikvitin protein ligáza) a aktivuje degradaci SMAD4, čímž reguluje TGF-β/SMAD signální dráhu. Růstové faktory jako EGF a HGF dokážou inhibovat TGF-β/SMAD signální dráhu skrze aktivaci Ras, která bude indukovat degradaci SMAD4 v proteazomu. TGF-β v pozdější fázi nádorového procesu nemusí hrát pouze roli tumorsupresivní dráhy, ale může být promotorem nádorového bujení, a to skrze aktivaci RhoA kinázy. Kináza následně způsobí uvolnění buněčných spojů, snížení exprese E-cadherinu a zvýšení motility buňky. Následkem je epiteliální/mezenchymální transformace (EMT) a možnost šíření nádorových buněk a zakládání metastáz. Tento fakt dokládá možnost tvorby metastáz nezávisle na funkci TGF-β/ /SMAD signální dráhy.

TGF-β signální dráha dokáže aktivovat i jiné signální dráhy mimo RhoA či Ras. Příkladem mohou být ERK, PI3K, JNK. Tyto dráhy na rozdíl od SMAD signální dráhy mají proto-onkogenní účinek. U CRC je frekvence mutace v *SMAD2* výrazně menší nežli mutace v *SMAD4* [45]. Ta v *SMAD4* bývá přítomna u jedné třetiny CRC pacientů s LOH [44]. Důsledkem této mutace je nefunkčnost TGF-β/SMAD signální dráhy, která povede k proliferaci buněk a růstu tumoru. Nemocní s CRC a vysokou expresí *SMAD4* mají signifikantně delší OS než pacienti s nízkou expresí. Tento fakt však nemusí platit u jiných malignit, jako je nádorové onemocnění prsu, kde vysoká exprese *SMAD* naopak vede k tvorbě kostních metastáz [50].

MikroRNA a CRC

MikroRNA (miRNA) může v patogenezi CRC hrát roli jak tumor supresivní, tak i proto-onkogenní. Role miRNA je dána typem tkáně a charakterem genu, který reguluje. MiRNA je krátká nekódující RNA o délce 22–23 nukleotidů, která je kódována v DNA [51,52]. MiRNA je kódována strukturálními geny (70 %), ale také intergenovou nekódující DNA (30 %), která není vázána na expresi genů jako takových. Předpokládá se, že miRNA je zodpovědná za regulaci cca 30 % genů (některé zdroje uvádějí 30–60 %). Je známo, že polovina genů kódujících miRNA je v oblasti genetické informace, která je lokalizována v místech častých amplifikací, LOH nebo mutací. Po přepisu DNA kódující miRNA vznikne pri-miRNA, která je v jádře upravena na pre-miRNA, která je dále exportována z jádra do cytozolu. V cytozolu podléhá další úpravě za vzniku jednovláknové miRNA, která plní svou funkci [53,54]. Funkcí miRNA je regulace genové exprese, která probíhá několika možnými způsoby. Jedním ze způsobů je interakce s mRNA, kde dojde k navození degradace mRNA nebo inhibice translace (častější u živočišných buněk).

Dalšími diskutovanými mechanizmy, kterými by miRNA mohla regulovat genovou expresi, je metylace promotorové oblasti genu či ovlivnění konformace histonů (metylace), a tím kondenzaci heterochromatinu [55,56]. Ke ztrátě funkce miRNA dochází několika způsoby – mutace genu pro miRNA, miRNA posttranskripční úprava a epigenetické změny. Vzhledem k tomu, že miRNA se podílí na řízení buněčného cyklu, metabolizmu a vývoji buňky, tak změna exprese (up- či down-regulace exprese miRNA) bude mít za následek proto-onkogenní (progrese a růst nádoru) či tumor supresivní (inhibice růstu a proliferace) důsledky pro buňky [51,52,55,56], jelikož miRNA, která je nadmíru exprimována v nádorových buňkách, pravděpodobně funguje jako inhibitor tumor supresivních genů. Na druhou stranu miRNA, která má sníženou expresi v nádorových buňkách, může zapříčinit snížení exprese onkogenů v normální tkáni. V patogenezi CRC byla zjištěna změna exprese miRNA, např. miR-145, miR-143, let7 či zvýšená exprese miR-21, miR-135 atd. MiR-145 a miR-143 byly jedny z prvních miRNA identifikovaných u nádorového onemocnění tlustého střeva. MiR-143 se podílí na inhibici onkogenu *KRAS* a pravděpodobně miR-145 funguje tumor supresivně přímou inhibicí p70S6K1 (serin/threonin kináza, která snižuje aktivitu PI3 signální dráhy). MiR-21 je spojena s invazí a metastazováním CRC díky inhibici tumor supresivního genu *PDCD4* [57]. Vzhledem k velké specificitě exprese jednotlivých miRNA a typu tumoru se zde skýtá možnost využití miRNA jako diagnostického či prognostického markeru [58]. Další výhodou miRNA je její stabilita v biologické tkáni, ať už se jedná o plazmu, nebo stolici [59,60].

Geny opravy chybného párování (MMR)

Jak již bylo řečeno v úvodu, CRC vzniká na podkladě CIN, CpG metylace či mu-

tací v tzv. DNA mismatch repair genech (MMR), které vedou k MSI. MMR je systém, který opravuje chybné párování bazí při replikaci genetické informace, zjednodušeně opravuje chyby, které nejsou rozpoznány proof-reading aktivitou DNA polymerázy během replikace. Nejedná se pouze o tuto funkci, ale MMR systém má i další funkce jako regulace buněčného cyklu a TP53 dependentní apoptotickou odpověď na odlišná poškození DNA [61].

V patogenezi CRC dochází vlivem mutace v MMR genech nejčastěji ke vzniku tzv. MSI. K tomu, aby byl MMR gen vyřazen z funkce, je zapotřebí mutace v obou dvou alelách genu. Proto se MMR geny chovají jako tumor supresorové geny s výjimkou *EXO1*, u kterého je dostatečná mutace jedné alely. Mikrosatelity jsou krátké opakující se nukleotidové sekvence umístěné po celém genomu. Jsou náchylné na chyby způsobené během replikace. V genomu se opakují každých 30–60 kilobází [14]. Právě MMR systém má za úkol takové chyby opravovat a zabránit tak vzniku MSI [13]. Mutace v MMR systému mohou být jak vrozené (germinální), tak i získané. Právě vrozené mutace v MMR systému jsou klíčem ke vzniku HNPCC, kde nacházíme mutaci v MMR genech u 50–70 % případů [14,62]. Získané mutace (delece, inzerce atd.) či epigenetické změny (metylace) v MMR jsou zodpovědné za vznik cca 15–20 % sporadického CRC [13,14,63]. Jedná se o mutace či metylace v těchto genech: *MSH2* (2p16), *MLH1* (3p21), *MSH6* (2p16), *PMS2* (7p22), *MLH3* (14q24.3), *MSH3* (5q11-q12), *PMS1* (2q31-33) a *Exo1* (1q-42-43) [13,14,61,63,64].

Tumory s MSI můžeme dělit na MSI-high tumory a MSI-low tumory. MSI-high tumory jsou specifikovány instabilitou ve více než dvou mikrosatelitech, zatímco MSI-low tumory mají mutaci pouze v jednom sledovaném mikrosatelitu. Pacienti s CRC na podkladě MSI bývají mladšího věku a překvapivě mají lepší OS nežli ostatní formy CRC. Pacienti s MSI-high mutacemi jsou převážně ženy s pravostrannou lokalizací tumoru. Z patologického hlediska se většinou jedná o špatně diferencovaný, mucinózní karcinom se zvýšenou infiltrací lymfocyty. MSI-high tumory mívají méně *KRAS* a *TP53* mutací, zato *BRAF* mutace jsou častější. Pacienti rovněž s MSI-high mají horší terapeutickou odpověď na léčbu 5-fluorouracilem [15]. Navzdory těmto faktům pacienti s MSI-high mají lepší OS nežli ostatní pacienti s CRC [13,14,65]. U sporadické formy CRC dochází nejčastěji k inaktivaci promotorové oblasti genu *MLH1* metylací s následkem zabránění exprese genu [13].

Common disease – Common variant (CD-CV)

V lidské populaci existují varianty genů, jež mohou souviset se vznikem závažných onemocnění. Tyto varianty bývají v populaci přítomny s frekvencí menší než 1 %. Nicméně existují názory, že i běžné varianty lidských genů (jednonukleotidové polymorfizmy – SNPs) se mohou významně podílet na vzniku závažných onemocnění. Jedná se o takzvanou CD-CV hypotézu (common disease – common variant hypothesis). Nejinak tomu je i u CRC. V roce 2008 Albert Tenesa a další uskutečnili studii, kde se snažili identifikovat lokusy spojené s rizikem vzniku CRC. Provedli genotypizaci celkem 555 510 SNPs u více než 1 000 pacientů s CRC. Po podrobné analýze těchto SNPs identifikovali tři SNPs, které byly asociovány s vyšším rizikem vzniku nádoru v různých populacích v lokusech 11q23 (rs3802842), 8q24 (rs7014346) a 18q21 (rs4939827) [66]. Ze studie COGENT z roku 2011, na které se podílelo více než 20 výzkumných skupin z celé Evropy, Ameriky, Číny, Austrálie a Japonska identifikovali celkem 14 SNPs asociovaných s vyšším rizikem vzniku CRC [67].

Rizikové faktory a prevence CRC

Na patogenezi CRC se významnou měrou podílejí i vlivy životního prostředí, mezi něž patří především kouření cigaret, vysoká konzumace červeného masa, živočišných tuků, snížená konzumace vlákniny, alkohol, diabetes mellitus a některé další.

V roce 2009 byla provedena metaanalýza studií zabývající se vlivem kouření na vznik CRC v rozmezí let 1950–2008 zahrnující 28 prospektivních kohortových studií s celkem 1 463 796 jedinci z Ameriky, Evropy a Asie, s mediánem pozorování 13 let. Kuřáci vykázali vyšší riziko (relativní riziko – RR 1,20; 95% CI 1,10–1,30) vzniku nádoru než nekuřáci. Riziko u mužů kuřáků bylo vyšší nežli u žen kuřaček (RR 1,38 vs. 1,06). Prokázalo se, že zvýšené riziko výskytu vzniku nádoru tlustého střeva závisí na množství vykouřených cigaret za den a počtu let aktivního kouření [68].

Metaanalýza prospektivních studií z roku 2011 zkoumala riziko zvýšené konzumace červeného masa a její vliv na vznik karcinomu tlustého střeva během let 1966–2011. Prokázalo se, že konzumace 140 g červeného masa denně je spojena s vyšším rizikem vzniku CRC (RR 1,22; 95% CI 1,11–1,34) [69].

Nižší příjem vlákniny v dietě je ve spojení se zvyšujícím se věkem spojen s vyšším rizikem vzniku CRC, jak bylo prokázáno z metaanalýzy 13 prospektivních kohortových studií. Nicméně vyšší příjem vlákniny není spojen s nižším rizikem vzniku CRC [70].

Již v minulosti byla pokládána otázka vlivu aspirinu (acetylsalicylová kyselina) na riziko vzniku CRC. Z randomizovaných studií vyplývá, že užívání aspirinu déle než 10 let snižuje riziko vzniku nádoru. Tento efekt byl však asociován s užíváním min. 300 mg aspirinu denně. Užívání aspirinu déle než 20 let nevedlo k dalšímu snížení tohoto rizika. Také nebyl pozorován rozdíl mezi aspirinem či jinými nesteroidními antirevmatiky. Menší dávky aspirinu tento efekt však jasně nepotvrdily a data jsou inkonzistentní [71].

Chronická konzumace alkoholu je jeden z hlavních rizikových faktorů vzniku nádorů trávicí trubice (orofarynx, jícen) a rovněž nádoru tlustého střeva. Již mírný pravidelný přísun alkoholu denně může vést k většímu riziku vzniku nádoru [72]. V roce 2011 byla provedena metaanalýza 34 studií, která předložila jasné důkazy o souvislosti mezi konzumací jednoho alkoholického nápoje denně a vyšším rizikem vzniku CRC [73].

Riziko vzniku nádoru tlustého střeva je rovněž vyšší u pacientů s diabetem mellitem 2. typu. Toto riziko je zvýšené jak u mužů, tak i u žen, stejně pro kolonickou, tak i rektální formu. U takových

pacientů by měl být proveden screening před zahájením inzulinové terapie a intervaly mezi kolonoskopickými kontrolami by neměly přesáhnout dobu pěti let [74,75].

Závěr

Z genetického a molekulárního hlediska představují nádory tlustého střeva a konečníku značně heterogenní skupinu onemocnění. To se v praxi projevuje různou mírou rizika, reakcí na léčbu a vznikem rezistence na jednotlivé léky, tedy celkovou prognózou. Významnou roli v patogenezi CRC rovněž hrají rozmanité epigenetické faktory a vlivy zevního prostředí, jejichž vliv je opět individuální. Praktickým dopadem preklinického výzkumu bude dokonalé poznání patogeneze s cílem určit biomarkery, které přispějí k časné detekci a pomohou nastavit individuálně optimální léčebný režim.

Literatura

1. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M et al. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11; 2013 [online]. Available from: http://globocan.iarc.fr/Pages/references.aspx.
2. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. Cell 1990; 61(5): 759–767.
3. Vogelstein B, Papadopoulos N, Velculescu VE et al. Cancer genome landscapes. Science 2013; 339(6127): 1546–1558. doi: 10.1126/science.1235122.
4. Gala MK, Mizukami Y, Le LP et al. Germline mutations in oncogene-induced senescence pathways are associated with multiple sessile serrated adenomas. Gastroenterology 2014; 146(2): 520–529.
5. Bettington M, Walker N, Clouston A et al. The serrated pathway to colorectal carcinoma: current concepts and challenges. Histopathology 2013; 62(3): 367–386. doi: 10.1111/his.12055.
6. Bogaert J, Prenen H. Molecular genetics of colorectal cancer. Ann Gastroenterol 2014; 27(1): 9–14.
7. Rustgi AK. The genetics of hereditary colon cancer. Genes Dev 2007; 21(20): 2525–2538.
8. Varesco L. Familial adenomatous polyposis: genetics and epidemiology. Tech Coloproctol 2004; 8 (Suppl 2): 305–308.
9. Pezzi A, Roncucci L, Benatti P et al. Relative role of APC and MUTYH mutations in the pathogenesis of familial adenomatous polyposis. Scand J Gastroenterol 2009; 44(9): 1092–1100. doi: 10.1080/00365520903100481.
10. Kartheuser A, West S, Walon C et al. The genetic background of familial adenomatous polyposis. Linkage analysis, the APC gene identification and mutation screening. Acta Gastroenterol Belg 1995; 58(5–6): 433–451.
11. Chew MH, Tan WS, Liu Y et al. Genomics of hereditary colorectal cancer: lessons learnt from 25 years of the Singapore polyposis registry. Ann Acad Med Singapore 2015; 44(8): 290–296.
12. Vaja R, McNicol L, Sisley I. Anaesthesia for patients with liver disease. Contin Educ Anaesth Crit Care Pain 2010; 10(1): 15–19. doi: 10.1093/bjaceaccp/mkp040.
13. Al-Sohaily S, Biankin A, Leong R et al. Molecular pathways in colorectal cancer. J Gastroenterol Hepatol 2012; 27(9): 1423–1431. doi: 10.1111/j.1440-1746.2012.07200.x.
14. Armaghany T, Wilson JD, Chu Q et al. Genetic alterations in colorectal cancer. Gastrointest Cancer Res 2012; 5(1): 19–27.
15. Strimpakos AS, Syrigos KN, Saif MW. Pharmacogenetics and biomarkers in colorectal cancer. Pharmacogenomics J 2009; 9(3): 147–160. doi: 10.1038/tpj.2009.8.
16. Trautmann K, Terdiman JP, French AJ et al. Chromosomal instability in microsatellite-unstable and stable colon cancer. Clin Cancer Res 2006; 12(21): 6379–6385.
17. Markowitz SD, Bertagnolli MM. Molecular origins of cancer: molecular basis of colorectal cancer. N Engl J Med 2009; 361(25): 2449–2460. doi: 10.1056/NEJMra0804588.
18. Farkas SA, Vymetalkova V, Vodickova L et al. DNA methylation changes in genes frequently mutated in sporadic colorectal cancer and in the DNA repair and Wnt/beta-catenin signaling pathway genes. Epigenomics 2014; 6(2): 179–191. doi: 10.2217/epi.14.7.
19. Noffsinger AE. Serrated polyps and colorectal cancer: new pathway to malignancy. Annu Rev Pathol 2009; 4(1): 343–364. doi: 10.1146/annurev.pathol.4.110807.092317.
20. East JE, Saunders BP, Jass JR. Sporadic and syndromic hyperplastic polyps and serrated adenomas of the colon: classification, molecular genetics, natural history, and clinical management. Gastroenterol Clin North Am 2008; 37(1): 25–46. doi: 10.1016/j.gtc.2007.12.014.
21. Minoo P. Toward a molecular classification of colorectal cancer: the role of MGMT. Front Oncol 2013; 3: 266. doi: 10.3389/fonc.2013.00266.
22. Shen L, Kondo Y, Rosner GL et al. MGMT promoter methylation and field defect in sporadic colorectal cancer. J Natl Cancer Inst 2005; 97(18): 1330–1338.
23. Bodmer WF, Bailey CJ, Bodmer J et al. Localization of the gene for familial adenomatous polyposis on chromosome 5. Nature 1987; 328(6131): 614–616.
24. Kwong LN, Dove WF. APC and its modifiers in colon cancer. Adv Exp Med Biol 2009; 656: 85–106.
25. Berger AH, Knudson AG, Pandolfi PP. A continuum model for tumour suppression. Nature 2011; 476(7359): 163–169. doi: 10.1038/nature10275.
26. Fearnhead NS, Wilding JL, Bodmer WF. Genetics of colorectal cancer: hereditary aspects and overview of colorectal tumorigenesis. Br Med Bull 2002; 64: 27–43.
27. Benchabane H, Ahmed Y. The adenomatous polyposis coli tumor suppressor and Wnt signaling in the regulation of apoptosis. Adv Exp Med Biol 2009; 656: 75–84.
28. Walther A, Johnstone E, Swanton C et al. Genetic prognostic and predictive markers in colorectal cancer. Nat Rev Cancer 2009; 9(7): 489–499. doi: 10.1038/nrc2645.
29. Fodde R, Smits R, Clevers H. APC, signal transduction and genetic instability in colorectal cancer. Nat Rev Cancer 2001; 1(1): 55–67.
30. Vogelstein B, Lane D, Levine AJ. Surfing the p53 network. Nature 2000; 408(6810): 307–310.
31. Naccarati A, Polakova V, Pardini B et al. Mutations and polymorphisms in TP53 gene – an overview on the role in colorectal cancer. Mutagenesis 2012; 27(2): 211–218.
32. Royds JA, Iacopetta B. p53 and disease: when the guardian angel fails. Cell Death Differ 2006; 13(6): 1017–1026.
33. Soussi T, Kato S, Levy PP et al. Reassessment of the TP53 mutation database in human disease by data mining with a library of TP53 missense mutations. Hum Mutat 2005; 25(1): 6–17.
34. Iacopetta B, Russo A, Bazan V et al. Functional categories of TP53 mutation in colorectal cancer: results of an International Collaborative Study. Ann Oncol 2006; 17(5): 842–847.
35. Lamy A, Blanchard F, Le Pessot F et al. Metastatic colorectal cancer KRAS genotyping in routine practice: results and pitfalls. Mod Pathol 2011; 24(8): 1090–1100. doi: 10.1038/modpathol.2011.60.
36. Samuels Y, Waldman T. Oncogenic mutations of PIK3CA in human cancers. Curr Top Microbiol Immunol 2010; 347: 21–41. doi: 10.1007/82_2010_68.
37. Karakas B, Bachman KE, Park BH. Mutation of the PIK3CA oncogene in human cancers. Br J Cancer 2006; 94(4): 455–459.
38. Demes M, Scheil-Bertram S, Bartsch H et al. Signature of microsatellite instability, KRAS and BRAF gene mutations in German patients with locally advanced rectal adenocarcinoma before and after neoadjuvant 5-FU radiochemotherapy. J Gastrointest Oncol 2013; 4(2): 182–192. doi: 10.3978/j.issn.2078-6891.2013.012.
39. Davies H, Bignell GR, Cox C et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. Nature 2002; 417(6892): 949–954.
40. Rosty C, Young JP, Walsh MD et al. Colorectal carcinomas with KRAS mutation are associated with distinctive morphological and molecular features. Mod Pathol 2013; 26(6): 825–834. doi: 10.1038/modpathol.2012.240.
41. Sartore-Bianchi A, Martini M, Molinari F et al. PIK3CA mutations in colorectal cancer are associated with clinical resistance to EGFR-targeted monoclonal antibodies. Cancer Res 2009; 69(5): 1851–1857. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-2466.
42. Yin Y, Shen WH. PTEN: a new guardian of the genome. Oncogene 2008; 27(41): 5443–5453. doi: 10.1038/onc.2008.241.
43. Knudson AG Jr. Hereditary cancer, oncogenes, and antioncogenes. Cancer Res 1985; 45(4): 1437–1443.
44. Mehlen P, Fearon ER. Role of the dependence receptor DCC in colorectal cancer pathogenesis. J Clin Oncol 2004; 22(16): 3420–3428.
45. Arakawa H. Netrin-1 and its receptors in tumorigenesis. Nat Rev Cancer 2004; 4(12): 978–987.
46. Castets M, Broutier L, Molin Y et al. DCC constrains tumour progression via its dependence receptor activity. Nature 2012; 482(7386): 534–537. doi: 10.1038/nature10708.
47. Mazelin L, Bernet A, Bonod-Bidaud C et al. Netrin-1 controls colorectal tumorigenesis by regulating apoptosis. Nature 2004; 431(7004): 80–84.
48. Duman-Scheel M. Deleted in colorectal cancer (DCC) pathfinding: axon guidance gene finally turned tumor suppressor. Curr Drug Targets 2012; 13(11): 1445–1453.
49. Ten Dijke P, Goumans MJ, Itoh F et al. Regulation of cell proliferation by Smad proteins. J Cell Physiol 2002; 191(1): 1–16.
50. Zhang B, Halder SK, Kashikar ND et al. Antimetastatic role of Smad4 signaling in colorectal cancer. Gastroenterology 2010; 138(3): 969–980. doi: 10.1053/j.gastro.2009.11.004.
51. Chin LJ, Slack FJ. A truth serum for cancer – microRNAs have major potential as cancer biomarkers. Cell Res 2008; 18(10): 983–984. doi: 10.1038/cr.2008.290.
52. Bonfrate L, Altomare DF, Di Lena M et al. MicroRNA in colorectal cancer: new perspectives for diagnosis, prognosis and treatment. J Gastrointestin Liver Dis 2013; 22(3): 311–320.
53. Wouters MD, van Gent DC, Hoeijmakers JH et al. MicroRNAs, the DNA damage response and cancer. Mutat Res 2011; 717(1–2): 54–66. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2011.03.012.
54. Aslam MI, Patel M, Singh B et al. MicroRNA manipulation in colorectal cancer cells: from laboratory to clinical application. J Transl Med 2012; 10: 128. doi: 10.1186/1479-5876-10-128.
55. Garzon R, Calin GA, Croce CM. MicroRNAs in cancer. Annu Rev Med 2009; 60(1): 167–179. doi: 10.1146/annurev.med.59.053006.104707.
56. Kusenda B, Mraz M, Maer J et al. MicroRNA biogenesis, functionality and cancer relevance. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub 2006; 150(2): 205–215.
57. Raisch J, Darfeuille-Michaud A, Nguyen HT. Role of microRNAs in the immune system, inflammation and cancer. World J Gastroenterol 2013; 19(20): 2985–2996. doi: 10.3748/wjg.v19.i20.2985.
58. Hrašovec S, Glavač D. MicroRNAs as novel biomarkers in colorectal cancer. Front Genet 2012; 3: 180. doi: 10.3389/fgene.2012.00180.

59. Slaby O, Svoboda M, Michalek J et al. MicroRNAs in colorectal cancer: translation of molecular biology into clinical application. Mol Cancer 2009; 8(1): 102. doi: 10.1186/1476-4598-8-102.
60. Svoboda M, Slyskova J, Schneiderova M et al. HOTAIR long non-coding RNA is a negative prognostic factor not only in primary tumors, but also in the blood of colorectal cancer patients. Carcinogenesis 2014; 35(7): 1510–1515. doi: 10.1093/carcin/bgu055.
61. Jacob S, Praz F. DNA mismatch repair defects: role in colorectal carcinogenesis. Biochimie 2002; 84(1): 27–47.
62. Stigliano V, Assisi D, Cosimelli M et al. Survival of hereditary non-polyposis colorectal cancer patients compared with sporadic colorectal cancer patients. J Exp Clin Cancer Res 2008; 27(1): 39. doi: 10.1186/1756-9966-27-39.
63. Sandouk F, Al Jerf F, Al-Halabi MH. Precancerous lesions in colorectal cancer. Gastroenterol Res Pract 2013; 2013: 457901. doi: 10.1155/2013/457901.
64. Papadopoulos N, Lindblom A. Molecular basis of HNPCC: mutations of MMR genes. Hum Mutat 1997; 10(2): 89–99.
65. Devaud N, Gallinger S. Chemotherapy of MMR-deficient colorectal cancer. Fam Cancer 2013; 12(2): 301–306. doi: 10.1007/s10689-013-9633-z.
66. Tomlinson IP, Webb E, Carvajal-Carmona L et al. A genome-wide association study identifies colorectal cancer susceptibility loci on chromosomes 10p14 and 8q23.3. Nat Genet 2008; 40(5): 623–630. doi: 10.1038/ng.111.
67. Houlston RS, members of COGENT. COGENT (COlorectal cancer GENeTics) revisited. Mutagenesis 2012; 27(2): 143–151. doi: 10.1093/mutage/ger059.
68. Tsoi KK, Pau CY, Wu WK et al Cigarette smoking and the risk of colorectal cancer: a meta-analysis of prospective cohort studies. Clin Gastroenterol Hepatol 2009; 7(6): 682–688. doi: 10.1016/j.cgh.2009.02.016.
69. Chan DS, Lau R, Aune D et al. Red and processed meat and colorectal cancer incidence: meta-analysis of prospective studies. PLoS One 2011; 6(6): e20456. doi: 10.1371/journal.pone.0020456.
70. Park Y, Hunter DJ, Spiegelman D et al. Dietary fiber intake and risk of colorectal cancer: a pooled analysis of prospective cohort studies. JAMA 2005; 294(22): 2849–2857.
71. Flossmann E, Rothwell PM. Effect of aspirin on long-term risk of colorectal cancer: consistent evidence from randomised and observational studies. Lancet 2007; 369(9573): 1603–1613.
72. Pöschl G, Seitz HK. Alcohol and cancer. Alcohol Alcohol 2004; 39(3): 155–165.
73. Fedirko V, Tramacere I, Bagnardi V et al. Alcohol drinking and colorectal cancer risk: an overall and dose-response meta-analysis of published studies. Ann Oncol 2011; 22(9): 1958–1972. doi: 10.1093/annonc/mdq653.
74. Yang YX, Hennessy S, Lewis JD. Type 2 diabetes mellitus and the risk of colorectal cancer. Clin Gastroenterol Hepatol 2005; 3(6): 587–594.
75. Berster JM, Göke B. Type 2 diabetes mellitus as risk factor for colorectal cancer. Arch Physiol Biochem 2008; 114(1): 84–98. doi: 10.1080/13813450802008455.

Zapojení PIWI-interagujících RNA do procesů kancerogeneze prostřednictvím regulace genové exprese

Involvement of PIWI-interacting RNAs in Cancerogenesis via the Regulation of Gene Expression

Rybecká S., Štítkovcová K., Vychytilová-Faltejsková P., Slabý O.

CEITEC – Středoevropský technologický institut, MU, Brno

Souhrn

Východiska: Za poslední desetiletí přibyly stovky studií, jež souhlasně prokázaly, že krátké nekódující RNA jsou slibnými diagnostickými, prognostickými a prediktivními biomarkery nádorových onemocnění. Významnou podskupinu těchto molekul představují RNA interagující s PIWI proteiny, označované jako piRNA. Tyto krátké RNA se podílejí na regulaci genové exprese na transkripční nebo post-transkripční úrovni, jejich hlavní úlohou je však epigenetické umlčování transpozibilních elementů LINE a SINE, čímž významně přispívají k udržení genomové stability. Dále se účastní důležitých buněčných procesů, jakými jsou gametogeneze, segregace chromozomů či sebeobnova kmenových buněk. Přestože byly piRNA poprvé detekovány v zárodečných buňkách, bylo zjištěno, že se vyskytují ve vysokých hladinách také v jiných lidských tkáních, přičemž jejich exprese vykazuje tkáňovou specificitu. První studie rovněž prokázaly změněný expresní profil piRNA u pacientů s nádorovými onemocněními. Funkce těchto molekul v procesu kancerogeneze však zatím zůstávají neobjasněné. Do popředí zájmu se v poslední době též dostávají volné cirkulující piRNA v tělních tekutinách, které nabízejí široké využití pro včasný záchyt nádorových onemocnění, predikci léčebné odpovědi či stanovení prognózy pacientů. ***Cíl:*** Tento přehledový článek jako první v českém jazyce shrnuje dosavadní poznatky o biogenezi piRNA, o jejich strategii při umlčování transpozibilních elementů a dalších genů. Poskytuje rovněž ucelený přehled o piRNA s deregulovanou expresí u lidských nádorových onemocnění a klade důraz na jejich potenciální diagnostické a terapeutické využití.

Klíčová slova

PIWI-interagující RNA – piRNA – biogeneze – nádorové onemocnění – umlčování transpozonů – biomarkery – terapeutické cíle

Výsledky tohoto výzkumu byly získány v rámci projektu CEITEC 2020 (LQ1601) za finančního přispění Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky v rámci účelové podpory z prostředků Národního programu udržitelnosti II.

The results of this research have been acquired within CEITEC 2020 (LQ1601) project with financial contribution made by the Ministry of Education, Youths and Sports of the Czech Republic within special support paid from the National Programme for Sustainability II funds.

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 recommendation for biomedical papers.

doc. RNDr. Ondřej Slabý, Ph.D.
CEITEC – Středoevropský technologický institut
Masarykova univerzita
Kamenice 753/5
625 00 Brno
e-mail: ondrej.slaby@ceitec.muni.cz

Obdrženo/Submitted: 23. 11. 2016
Přijato/Accepted: 5. 12. 2016

http://dx.doi.org/10.14735/amko2016428

Summary

Background: In the past few years, a number of studies have suggested that small non-coding RNAs could be promising diagnostic, prognostic and predictive biomarkers in oncology. Recently, small RNAs interacting with PIWI proteins (piRNAs) have been described. These small RNAs regulate gene expression at transcriptional and post-transcriptional levels; however, they appear to be specifically involved in silencing the transposable elements LINE and SINE and are thus considered to contribute to genomic stability. Furthermore, piRNAs participate also in other important biological processes, such as gametogenesis, chromosome segregation, and stem cell self-renewal. Although their expression was first noted in germ line cells, they are now known to be present in all tissue types and their expression is highly tissue-specific. In addition, piRNA expression is dysregulated in tumor tissues. Nevertheless, the exact function of these molecules in cancerogenesis is not known. Recently, free circulating piRNAs were reported to be stably present in body fluids, suggesting that they could serve as promising noninvasive biomarkers to enable early diagnosis, therapy response prediction, and accurate prognosis prediction of cancer patients. ***Aim:*** The aim of this review is to summarize current knowledge about piRNA biogenesis and their functions in the regulation of gene expression and transposons silencing. In addition, the review focuses on piRNAs that show dysregulated expression in different types of cancers and that could serve as potential diagnostic biomarkers and/or therapeutic targets.

Key words

PIWI-interacting RNAs – piRNA – biogenesis – cancer – transposon silencing – biomarkers – therapeutic targets

Úvod

Nádorová choroba je často vnímána jako onemocnění, jehož podstatou je kumulace genetických mutací, k nimž dochází v důsledku genomové nestability. Mezi typické biologické důsledky těchto mutací potom patří nadměrná proliferace nádorových buněk, rezistence vůči signálům zastavujícím buněčný cyklus, neomezený replikační potenciál, zvýšená invazivita či schopnost zakládat vzdálené metastázy. Jednotlivé mutace mohou dále indukovat angiogenezi, necitlivost k apoptotickým signálům, deregulaci buněčné energetiky, únik před imunitním systémem a zánětlivé procesy. Genomová nestabilita je tedy podmiňujícím znakem vzniku nádorového onemocnění [1]. Ze současných poznatků dále vyplývá, že jednou z příčin genomové nestability jsou rovněž deregulace na epigenetické úrovni. Jako epigenetické jsou označovány dědičné změny v genové expresi, které nesouvisejí se změnami v primárním genetickém kódu. Mezi hlavní mechanizmy, jež regulují genovou expresi na transkripční či post-transkripční úrovni, patří především metylace DNA, modifikace histonů a dále též regulace prostřednictvím nekódujících RNA [2,3]. Nedávné studie odhalily novou skupinu krátkých nekódujících RNA, které hrají významnou roli při udržování stability genomu. Úlohou těchto molekul je zejména umlčování transpozonů a regulace genové exprese na transkripční či post-transkripční úrovni. Od roku 2006 jsou známy pod názvem PIWI-interagující RNA (piRNA). V posledních 10 letech bylo prokázáno, že hladiny těchto nekódujících RNA jsou významně deregulovány rovněž u řady nádorových onemocnění.

PIWI-interagující RNA

PiRNA jsou krátké jednořetězcové RNA o délce 24–32 nukleotidů [4] hrající významnou roli při vývoji zárodečných buněk, sebeobnově kmenových buněk, a především pak při udržování genomové stability v důsledku umlčování transpozibilních elementů (TE) [5]. Tyto repetitivní elementy tvoří asi polovinu genomu člověka a hrají důležitou úlohu ve struktuře chromatinu, čímž ovlivňují i expresi přilehlých genů [6–8]. PiRNA byly pojmenovány na základě schopnosti vázat se na proteiny PIWI patřící do rodiny AGO (Argonaute) proteinů [9]. AGO proteiny se dělí na podrodiny AGO a PIWI. Lidské geny *AGO1–4* jsou lokalizovány na chromozomu 1, lidská podrodina PIWI proteinů zahrnuje HIWI1, HIWI2, HIWI3 a HILI, které jsou kódovány geny na chromozomech 12, 11, 22 a 8 [10]. Argonautové proteiny jsou složeny ze dvou hlavních domén – N-terminální PAZ (Piwi-Argonaute-Zwille) domény a C-terminální PIWI domény. Délka PAZ čítá přibližně 120 aminokyselin, PIWI doména je dlouhá přibližně 400 aminokyselin. PIWI doména se dále skládá ze dvou částí, Mid/A a PIWI/B, přičemž PIWI/B katalyzuje aktivitu enzymu Slicer (RNáza H), který se účastní biogeneze piRNA. Mid doména váže 5′ fosfátové konce krátkých RNA a funguje jako kotva vazby RNA na AGO proteiny, zatímco 3′ konce krátkých RNA se vážou na doménu PAZ [11–13]. PIWI proteiny se účastní biogeneze piRNA, vývoje zárodečných buněk, gametogeneze a dalších buněčných pochodů. V důsledku mutací genů pro PIWI vznikají defekty v gametogenezi, dochází ke ztrátě zárodečné linie kmenových buněk, k pozastavení meiózy a blokacím spermatogeneze. Předpokládá se, že piRNA působí jako sekvenčně specifická vodítka PIWI proteinů umožňující regulaci exprese transpozonů a protein kódujících genů [14].

První studie zabývající se regulačním potenciálem piRNA u savců pochází z roku 2006. Aravin et al [15] popsali skupinu malých nekódujících RNA v samčích zárodečných buňkách u *Mus musculus*, jejichž délka se pohybovala v rozmezí 26–31 nukleotidů. Ve stejné době Girard et al [16] popsali skupinu malých nekódujících RNA, které se vážou na proteiny MIWI z rodiny myších PIWI proteinů a jsou hojně zastoupené ve varlatech myší. Jedna z prvních studií, která propojila piRNA s genomovou nestabilitou, se věnovala mutacím v genech pro Zucchini (ZUC) a Squash (SQU). Produkty těchto genů obsahují doménu homologickou s nukleázou a účastní se procesu RNA interference v zárodečných buňkách u *Drosophily melanogaster*. Mutantní samičky jsou sterilní a vykazují defekty v dorzoventrální orientaci v průběhu oogeneze. Mutace těchto genů rovněž souvisí se zvýšenou expresí HET-A a TART, dvou telomerově specifických transpozonů. Výsledky této studie naznačují, že k nadměrné aktivitě trans-

pozonů může docházet v důsledku mutací v genech, jež se podílejí na vzniku a správném fungování piRNA [17]. Role piRNA při ochraně stability genomu byla popsána také u kuřat. S využitím sekvenování nové generace byly stanoveny expresní profily vybraných piRNA a několika genů asociovaných s piRNA v primordiálních zárodečných buňkách. Všechny analyzované geny byly u primordiálních zárodečných buněk vysoce exprimované. Zároveň bylo provedeno umlčení dvou známých genů souvisejících s dráhou piRNA – *CIWI* (*chicken PIWI-like protein 1*) a *CILI* (*chicken PIWI-like protein 2*). Po vyřazení těchto genů došlo ke změnám v expresi několika genů vázaných na piRNA a také ke zvýšenému výskytu dvouvláknových zlomů DNA v primordiálních zárodečných buňkách [18]. Významné funkce piRNA ve spojitosti s ochranou před transpozibilními elementy byly pozorovány rovněž v zárodečných buňkách myší, kde jsou piRNA schopné navodit metylaci DNA v oblasti CpG [19,20]. Kromě toho se tyto malé molekuly podílejí na udržování metylačního stavu histonů (H3K9me3) na repetitivních sekvencích typu LINEs v zárodečných buňkách [21]. Tato represe chromatinu zprostředkovaná pomocí piRNA cílí výhradně na elementy plné délky, které jsou aktivní. Toto zjištění odkrývá pozoruhodnou schopnost piRNA rozpoznávat aktivní elementy z množství fragmentů genomických transpozonů, které buňka obsahuje. Tyto studie a mnohé další potvrzují schopnost piRNA udržovat genomovou stabilitu prostřednictvím tlumení TE.

Přestože prvotní studie předpokládaly, že mechanizmy účinku piRNA jsou spojeny výhradně se zárodečnými buňkami, v roce 2012 Rajasethupathy et al [22] prokázali hojnou expresi piRNA o délce 28 nukleotidů v CNS zeje obrovského (*Aplysia depilans*). Tyto piRNA jsou lokalizované převážně v jádře a vyznačují se unikátním typem biogeneze. Výsledky studie naznačují, že piRNA se účastní dlouhodobých změn v neuronech, které vedou k udržování paměti. Zvýšená exprese piRNA byla následně popsána i v hipokampu myší, což naznačuje možnou účast těchto molekul na morfogenezi páteře prostřednictvím regulace exprese genů zodpovědných za její vývoj [23]. Nejnovější studie potvrdily, že piRNA jsou abundantně exprimované téměř ve všech lidských tkáních, přičemž jejich exprese vykazuje tkáňovou specificitu [24].

Biogeneze piRNA

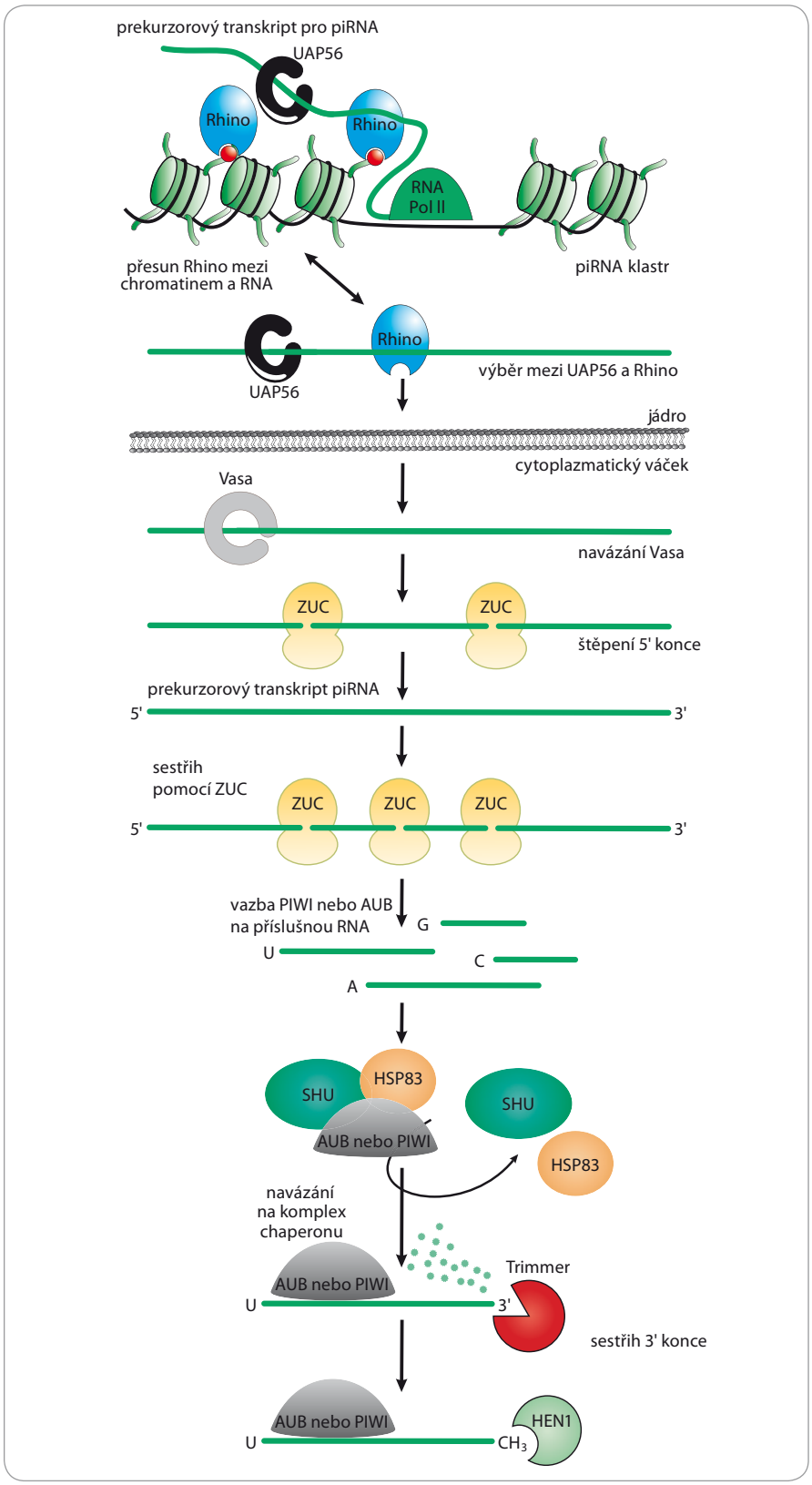
Dosavadní studie naznačují, že v biogenezi, tedy v procesech, které vedou ke vzniku maturovaných molekul piRNA, jsou mezidruhové rozdíly a tyto signalizační dráhy jsou navíc odlišné od drah biogeneze miRNA a siRNA [25]. PiRNA původem vychází z mezigenových repetitivních elementů, tzv. piRNA klastrů. Klastry jsou součástí heterochromatinu bohatého na transpozony [26]. Na rozdíl od miRNA a siRNA jsou piRNA generované z jednovláknových prekurzorů, které nevyžadují RNázu III [27]. Dalším rozdílem je asociace s odlišnými členy podrodiny Argonautových proteinů. Zatímco piRNA interagují s podrodinou PIWI, miRNA a siRNA interagují primárně s proteiny podrodiny AGO. Molekuly piRNA se liší od miRNA a siRNA také svou délkou, která čítá o několik nukleotidů více. Mezi různými živočichy, dokonce i mezi příbuznými druhy, jsou však velké rozdíly v maturovaných sekvencích piRNA. Zatímco u *Drosophily melanogaster* a většiny obratlovců byly identifikovány piRNA o délce 24–32 nukleotidů, u *Caenorhabditis elegans* se vyskytují piRNA o délce 21 nukleotidů a označují se jako 21U-RNA [28]. U většiny organizmů jsou pak zpravidla popisovány dvě rozdílné dráhy biogeneze piRNA v závislosti na tom, zda se jedná o buňky somatické, nebo zárodečné. Zatímco v somatických buňkách jsou piRNA přepisovány pouze z jednoho vlákna, v zárodečných buňkách probíhá transkripce z obou vláken takzvaného duálního klastru piRNA. V případě zárodečných buněk pak probíhá kromě primární biogeneze i sekundární dráha zpracování piRNA (tzv. ping-pong cyklus).

Primární biogeneze piRNA

PiRNA původem vychází z mezigenových repetitivních elementů, tzv. piRNA klastrů. Klastry jsou součástí heterochromatinu bohatého na transpozony [29]. Tyto sekvence pokrývají velkou část genomu a jejich velikost se pohybuje od 100 kb výše [30]. V průběhu primární biogeneze jsou geny pro piRNA přepisovány pomocí RNA polymerázy II. Na procesu transkripce se rovněž podílí heterochromatinový protein HP1 zvaný Rhino, který se váže na některé lokusy genů kódujících piRNA, a dále na helikázu UAP56, s níž interaguje. Vlastní transkript je vázán proteinem UAP56 na vnitřní straně jaderné membrány a poté je přenesen pomocí RNA helikázy Vasa do cytoplazmatického váčku [31–33]. Zde probíhá sestřih prekurzorového transkriptu pomocí endonukleázy ZUC (analog u myší je PLD6 – fosfolipáza D6), jež je lokalizována na vnější mitochondriální membráně a generuje 5′ konec budoucí piRNA odštěpením fosfátového zbytku z uridinu za vzniku hydroxylového konce, na který se přednostně vážou PIWI proteiny. Vazba Argonautových PIWI/AUB proteinů (MILI a MIWI u *Mus musculus*) na piRNA je usnadněna díky chaperonovým proteinům HSP83 (heat shock protein 83) a SHU (Shutdown), které se následně odštěpí. Poté je sestřižen 3′ konec enzymem zvaným Trimmer, a to až k místu navázání proteinů PIWI/AUB. Takto upravený 3′ konec je následně metylován pomocí komplexu HEN1/Primet za vzniku 2′-O-metylovaného konce, který zajišťuje zvýšenou stabilitu zralých piRNA. Výstupem primární biogeneze je „primární“ piRNA (antisense vlákno) vázající proteiny PIWI/AUB (obr. 1). Takto vytvořený komplex vstupuje zpět do jádra, kde dochází k transkripčnímu umlčování transpozonů [32,34].

Sekundární biogeneze piRNA

K sekundární biogenezi piRNA dochází především v zárodečných buňkách a pro iniciaci tohoto tzv. ping-pong cyklu je vyžadována primární piRNA (antisense vlákno) s navázanými proteiny PIWI/AUB, jež je produktem primární biogeneze. Ping-pong cyklus začíná navázáním komplexu „primární“ piRNA/AUB na komplementární vlákno transpozonálního (sense) transkriptu, čímž dochází k jeho umlčení a zároveň k tvorbě „sekundární“ piRNA. Vlákna sense a antisense piRNA jsou vázána prostřednictvím prvních 10 nukleo-

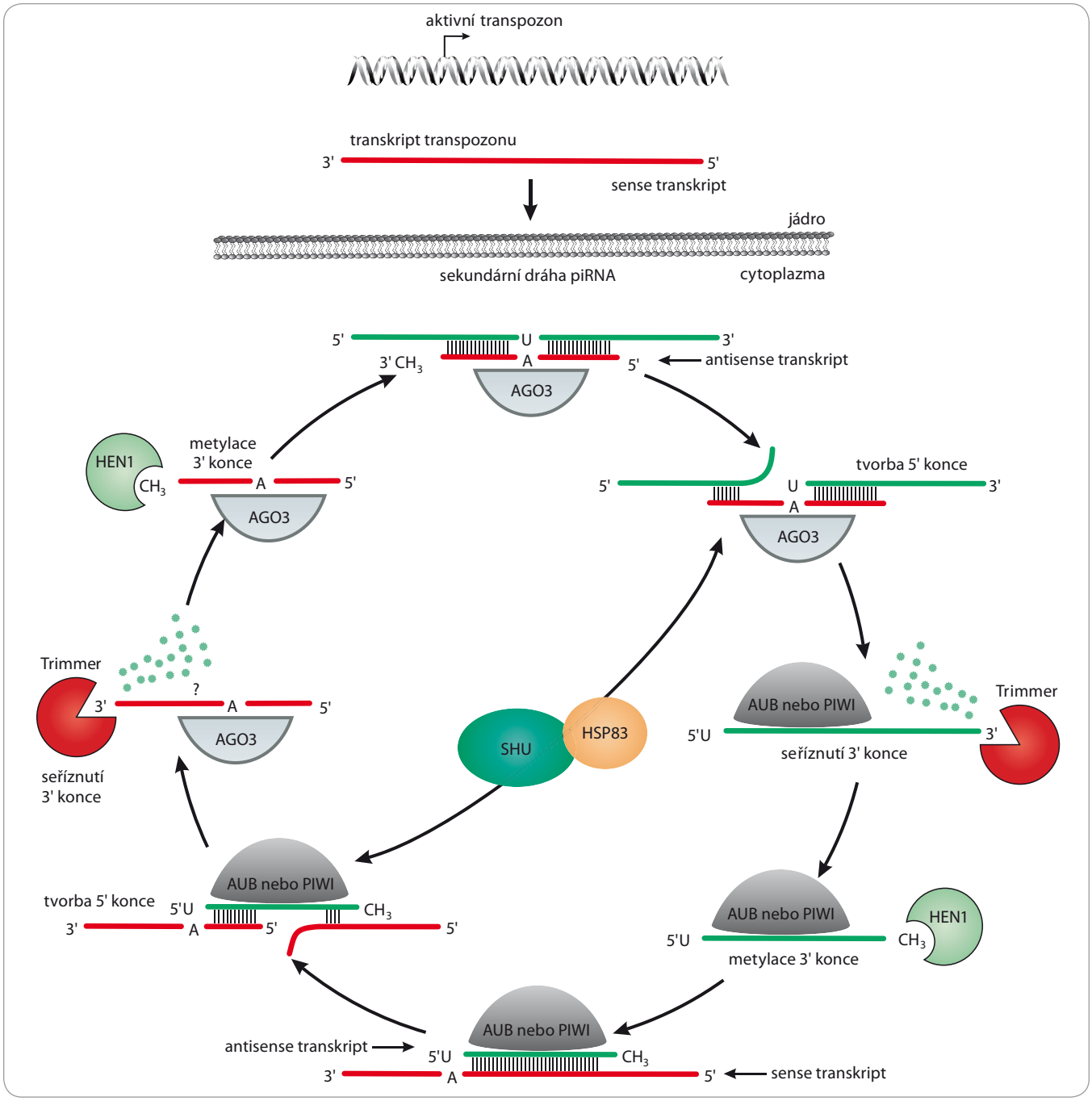


Obr. 1. Primární dráha biogeneze piRNA. Upraveno dle [4].
Geny pro piRNA jsou přepisovány pomocí RNA polymerázy II za účasti proteinu Rhino a helikázy UAP56. Primární transkript je následně prostřednictvím helikázy Vasa přenesen z jádra do cytoplazmy, kde je sestřižen endonukleázou ZUC. Následně dochází k vazbě proteinů PIWI/AUB a sestřižení 3' konce pomocí enzymu Trimmer, který je dále metylován metyltransferázou HEN1.

tidů. V této fázi cyklu dochází k tvorbě 5' konce vlákna piRNA pomocí proteinu AUB, který funguje jako enzym Slicer (opět s pomocí SHU a HSP83), a navázání proteinu AGO3 v místě 10. nukleotidu obsahujícího adenin. Na odstranění 5' konce po sestřihu vlákna pomocí AUB se pravděpodobně podílí protein SHU. Následně dochází k sestřihu 3' konce pomocí exonukleázy Trimmer a jeho metylaci pomocí HEN1. Metylovaný fragment v komplexu s AGO3 váže antisense transkript pro piRNA a zajišťuje jeho sestřih. Takto upravený řetězec opětovně váže AUB proteiny, podstupuje sestřih 3' konce a jeho metylaci, čímž dochází k uzavření celého cyklu a amplifikaci vznikajících piRNA (obr. 2) [31,32,35].

Mechanizmy regulace genové exprese prostřednictvím piRNA

Za nejpodstatnější funkci komplexů PIWI/piRNA je považována schopnost represe mobilních elementů DNA. Tento předpoklad je podpořený zejména faktem, že piRNA obsahují komplementární sekvence vůči transpozonům, jež jsou proto považovány za hlavní cíl jejich aktivity. Tato skutečnost byla opakovaně prokázána nezávislými studiemi napříč několika živočišnými druhy, jakými jsou *Drosophila melanogaster* [27], *Mus musculus* [15] či *Danio rerio* [25]. Zajímavé je, že osud komplexu PIWI/piRNA (jeho konkrétní lokalizace v jádře nebo v cytoplazmě a možný mechanizmus účinku umlčování) záleží na podskupině proteinů z rodiny PIWI, se kterou je piRNA asociována. Pokud je piRNA asociována s proteiny PIWI, nachází se komplex v jádře, a může tak docházet k umlčování genové exprese na transkripční úrovni. Pokud je piRNA asociována s proteiny AUB, bude se tento komplex nacházet v perinukleárním prostoru [27]. Podobných závěrů bylo dosaženo v případě myšího modelu, kdy se zralé piRNA asociované s proteiny MILI nacházely v cytoplazmě, zatímco komplexy MIWI/piRNA byly translokovány do jádra [19,36]. Nedávné studie pak prokázaly, že k umlčování TE a regulaci exprese genů prostřednictvím piRNA může docházet především cestou metylace DNA, v důsledku modifikací histonů a chromatinu, a v neposlední řadě



Obr. 2. Sekundární dráha biogeneze piRNA (ping-pong cyklus). Upraveno dle [4].

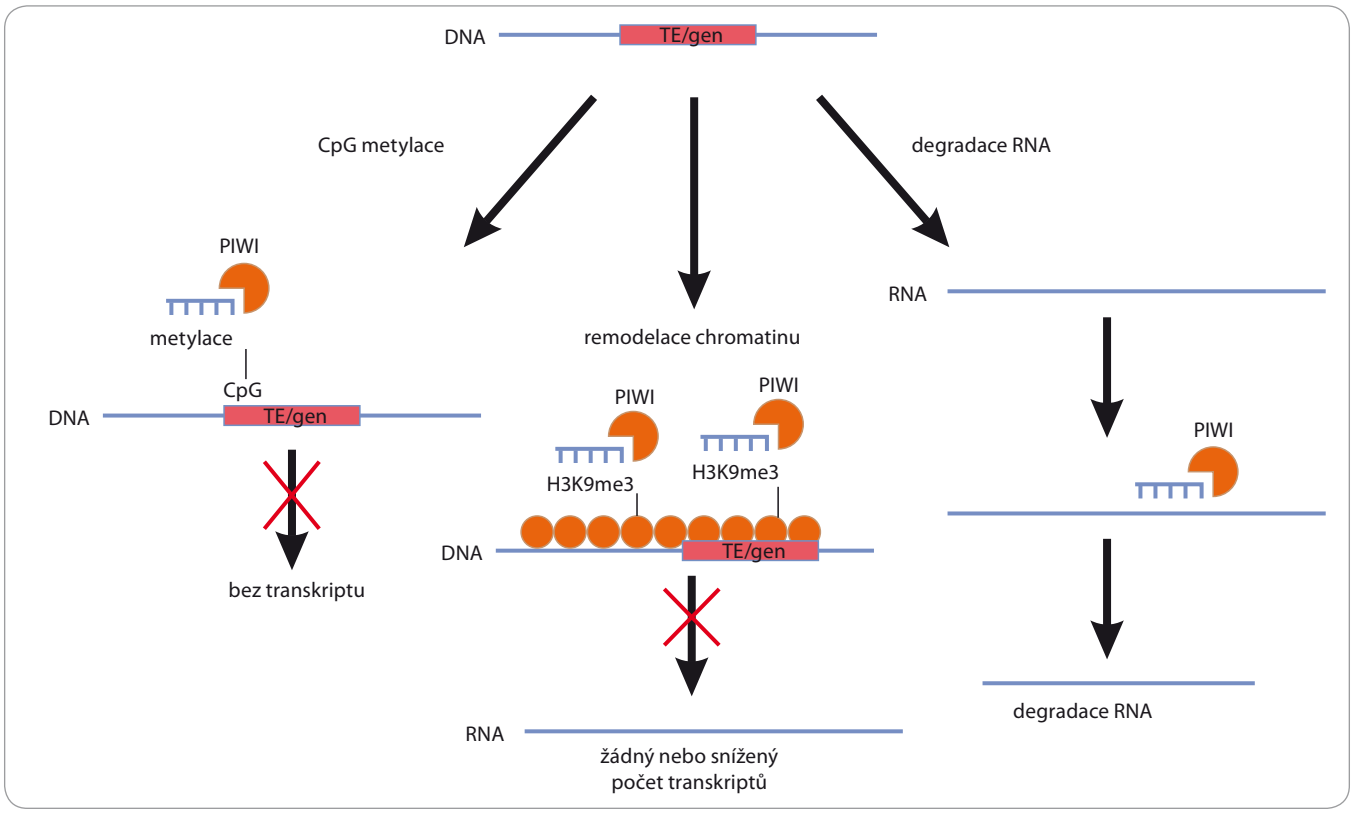
Cyklus začíná vazbou primárního komplexu piRNA/AUB na komplementární vlákno transpozonálního transkriptu. Toto vlákno je následně štěpeno a vzniká sekundární piRNA vázající protein AGO3, jež je opět sestřižena pomocí enzymu Trimmer a metylována za účasti metyltransferázy HEN1. Sekundární piRNA poté váže antisense transkript pro piRNA a zajišťuje jeho sestřih. Celý cyklus vede k amplifikaci vznikajících piRNA.

též na základě post-transkripčního umlčování genové exprese (obr. 3).

Metylace DNA jako mechanizmus umlčování transpozonů

Kovalentní modifikace DNA prostřednictvím metylace cytozinových zbytků je dědičný, avšak reverzibilní proces. Metylace DNA se podílí na regulaci genové exprese, inaktivaci chromozomu X, genomickém imprintingu a na početných modifikacích chromatinu. Nedávné studie prokázaly zásadní roli piRNA při metylaci mobilních elementů v zárodečných a somatických buňkách.

Kuramochi-Miyagawa et al [20] prokázali spojitost mezi expresí PIWI/piRNA a umlčováním TE v zárodečných buňkách myší, kdy v důsledku delece genů pro myší PIWI proteiny MILI a MIWI2 nedochá-



Obr. 3. Mechanizmy regulace genové exprese prostřednictvím piRNA.

K umlčování transpozibilních elementů (TE) a regulaci genové exprese může docházet prostřednictvím metylace CpG oblastí na DNA, v důsledku remodelace chromatinu či na základě post-transkripčního umlčování vazbou komplexů PIWI/piRNA ke komplementárním sekvencím mRNA.

zelo k tvorbě komplexů MILI/MIWI2/piRNA a následné metylaci TE, jež by utlumila aktivitu těchto mobilních elementů. K podobným výsledkům dospěla další studie provedená na myších s deletovaným genem *TDRD1 (protein s doménou Tudor 1)* [37]. Autoři zde identifikovali protein TDRD1, jenž je asociovaný s komplexem MILI/piRNP (PIWI ribonukleoprotein) u dospělých samců během spermatogeneze. Stejně jako u mutantů MILI, tak i u myší s chybějícím TDRD1 byla prokázána snížená metylace DNA vedoucí ke zvýšené aktivitě transpozonu L1.

Metylace DNA prostřednictvím komplexů PIWI/piRNA byla prokázána i v CNS zeje obrovského [22]. Expresní profilování malých RNA v mozku dospělých jedinců prokázalo přítomnost hojně se vyskytujících krátkých RNA o délce 28 nukleotidů. Tyto piRNA byly senzitivní na serotonin, jenž je důležitým neurotransmiterem a významně se podílí na mechanizmech dlouhodobé paměti. Komplex PIWI/piRNA v tomto případě ulehčoval na serotoninu závislou metylaci CpG ostrovu v oblasti promotoru CREB2 (cAMP response element binding protein 2), který je inhibitorem dlouhodobé paměti.

Z výše uvedených studií vyplývá, že metylace DNA prostřednictvím komplexu PIWI/piRNA je mezidruhově rozmanitá a představuje důležitý nástroj epigenetické regulace jak v zárodečných, tak somatických buňkách organizmů.

Vliv histonových modifikací a struktury chromatinu na expresi transpozonů a okolních genů

PIWI proteiny v asociaci s piRNA jsou zapojené nejen do metylace DNA, ale také do regulace histonových modifikací, které vedou rovněž k umlčování mobilních elementů. K tomuto umlčování TE dochází zpravidla v důsledku metylace lysinu 9, jenž je součástí histonu 3 (H3K9me3). Tato histonová modifikace vede ke vzniku heterochromatinu a ovlivňuje nejen transkripci vlastních mobilních elementů, ale též expresi přilehlých genů [38].

Le Thomas et al [39] dále prokázali, že přestože je asociace PIWI proteinů s cílovou strukturou chromatinu pouze dočasná, může vést k trvalému umlčení exprese genů či TE v důsledku zvýšené metylace jednotlivých histonů a vytvoření transkripčně inaktivního heterochromatinu. Podobná situace byla popsána i v případě *Caenorhabditis elegans*, kdy přítomnost komplexu PRG-1/21U RNA umožnila vznik heterochromatinu [40,41]. Zajímavé přitom je, že vazba komplexu PRG-1/21U RNA na cílové oblasti chromatinu hraje klíčovou roli pouze v iniciaci celého procesu, zatímco následná kontinuální represe přetrvávající napříč generacemi závisí na jaderných proteinech HRDE1/WAGO-9 z Argonautové rodiny a histon-metyltransferázách SET-25 a SET32 [42].

Další studie z roku 2014 na myších prokazuje, že přítomnost piRNA je nezbytná

pro udržení vysoké úrovně represivní histonové modifikace H3K9me3 u elementů typu LINE v zárodečných buňkách. Tato chromatinová represe zprostředkovaná piRNA je nejvíce selektivní, neboť dochází pouze k umlčování elementů plné délky, které jsou z rodin LINE a jsou schopné aktivní transpozice [21].

Regulace exprese genů a mobilních elementů na post-transkripční úrovni

K post-transkripčnímu umlčování genové exprese dochází zpravidla prostřednictvím vazby piRNA na cílové sekvence retrotranspozonů, jež jsou součástí 3′ nepřekládaných oblastí téměř 30 % myších či lidských mRNA [43]. Zároveň bylo prokázáno, že piRNA mohou přímo regulovat také geny s retrotranspozonní sekvencí v 5′ nepřekládané oblasti [44].

Příkladem post-transkripčního umlčení exprese genů je regulace mRNA prostřednictvím piRNA derivovaných z pseudogenů. Tyto oblasti mohou produkovat tzv. *trans*-elementy – piRNA, které regulují mRNA z funkčních genů. PiRNA mohou být produkované nejen z nefunkčních pseudogenů, ale také z protismyslného vlákna funkčního genu. V takovém případě mluvíme o *cis*-přirozených protismyslných transkriptech, které rovněž mohou produkovat piRNA a následně regulovat přepis cílových genů [45]. Příkladem trans regulace z pseudogenu je regulace genu *Stellate*, který se vyskytuje na chromozomu X. Exprese tohoto genu je u *Drosophily melanogaster* potlačena v důsledku vazby piRNA, jež je produktem pseudogenu vyskytujícího se na chromozomu Y a označovaného jako *SU* nebo *STE*. V případě delece tohoto pseudogenu dochází k přepisu genu pro *Stellate*, akumulaci cílového proteinu a vytvoření krystalické struktury v spermatocytech, což vede k neplodnosti [46]. Regulace genové exprese na post-transkripční úrovni prostřednictvím piRNA byla rovněž popsána i v případě sexuální determinace bource morušového. Tento organizmus má ptačí typ sexuální determinace ZW (samice ZW, samci ZZ) a jediná piRNA derivovaná z pohlavního chromozomu W má feminizující účinek na celý organizmus [47].

Nedávná studie na dvou kmenech *Drosophily melanogaster* prokázala, že začlenění TE do euchromatinového lokusu vede k tvorbě nového dvouvláknového klastru piRNA, z něhož mohou následně vznikat funkční piRNA zamezující expanzi TE prostřednictvím post-transkripční regulace exprese těchto mobilních elementů. Zároveň bylo potvrzeno, že produkce malých RNA vyvolaná inzercí TE může rovněž snižovat expresi přilehlých genů [48]. Tato studie je dalším důkazem toho, že malé RNA asociované s TE hrají významnou roli v regulaci genové exprese, a to nejen u zárodečných buněk.

PIWI proteiny a kancerogeneze

První zmínka o souvislosti mezi proteiny z podrodiny PIWI a nádory se týkala proteinu HIWI, jehož exprese byla prokázána v nádorové tkáni seminomů, avšak nikoliv v příslušné nenádorové tkáni [49]. Na tuto studii navázaly další práce dokumentující deregulovanou expresi proteinu HILI u nádorů prsu, vaječníků a děložního hrdla, zvýšené hladiny proteinu HIWI u nádorů jater a u pacientů se sarkomy či pozměněnou expresi proteinů HIWI a HIWI2 u pacientů s nádory žaludku [50].

Další klinické studie naznačují prognostický potenciál některých PIWI proteinů. U gliomů byla popsána pozitivní korelace mezi expresí proteinu HIWI a gradem onemocnění, přičemž pacienti s vysokou hladinou tohoto proteinu měli významně horší prognózu [51]. Následující studie dokumentují úzkou souvislost mezi hladinami proteinu HIWI a vybranými klinicko-patologickými znaky pacientů s nádory slinivky břišní, tlustého střeva a konečníku, endometria, jícnu, jater a žaludku [50]. V případě pacientů s nádory žaludku byla prokázána přímá korelace mezi expresí proteinů HIWI, HILI, PIWIL3 i HIWI2 a klinickým stadiem onemocnění. Zároveň bylo zjištěno, že pacienti se zvýšenými hladinami těchto proteinů mají kratší dobu celkového přežívání [52].

Konkrétní zapojení PIWI proteinů do procesů kancerogeneze zatím není objasněno, avšak na základě dosavadních studií na animálních modelech *Mus Musculus* a *Drosophila melanogaster* [19,53] existuje několik možných vysvětlení. Jednou z hypotéz je, že zvýšená exprese těchto proteinů přispívá ke vzniku a progresi nádorových onemocnění prostřednictvím epigenetického umlčování nádorově supresorových genů na transkripční úrovni. Další možností je pak jejich zapojení do umlčování TE [54] či regulace genové exprese prostřednictvím metylace histonů, o čemž svědčí také jejich společný výskyt se skupinou proteinů Polycomb, které jsou známé svou schopností remodelovat chromatin [55]. PIWI proteiny mohou dále fungovat jako aktivátory transkripce prostřednictvím zavádění euchromatických histonových modifikací do oblastí heterochromatinu [56]. V souladu s pozorovanými epigenetickými funkcemi komplexů PIWI/piRNA bylo dále popsáno, že exprese proteinů HIWI koreluje s mírou metylace u pacientů se sarkomy, přičemž snížené hladiny tohoto proteinu byly nalezeny ve tkáních s globální hypometylací DNA a souvisely s prognosticky příznivějším onemocněním [57].

Deregulovaná exprese piRNA u nádorových onemocnění

Vzhledem ke skutečnosti, že se piRNA významně podílejí na regulaci exprese genů a udržování genomové stability, předpokládá se jejich zapojení do procesů kancerogeneze [58]. Přestože v souvislosti s nádory byly nejprve zkoumány pouze jednotlivé PIWI proteiny, prvotní studie již prokázaly význam konkrétních piRNA v patogenezi nádorových onemocnění [50]. Tyto molekuly se podobně jako miRNA mohou podílet na regulaci exprese klíčových nádorových supresorů či onkogenů, a to především prostřednictvím vazby k cílovým mRNA, jež v 3′ nepřekládané oblasti obsahují transpozonální sekvence. Kromě toho narušení fyziologických hladin piRNA, které za normálních okolností potlačují aktivitu TE, může ulehčit retrotranspozici, zvýšit genomovou nestabilitu, a přispět tak ke vzniku či progresi nádorového onemocnění. Přestože dosavadní studie dokumentují celkovou deregulaci hladin piRNA v nádorové tkáni, přesné funkce těchto molekul nebyly dosud objasněny. Zároveň není známo, zda k této deregulaci dochází v důsledku přítomnosti ná-

Tab. 1. Přehled piRNA s deregulovanou expresí v nádorové tkáni pacientů s nádorovým onemocněním.

Nádorové onemocnění	Deregulovaná piRNA	Funkce piRNA	Reference
nádory žaludku	piR-823 ↓	vliv na proliferaci, bez korelace s klinicko-patologickými znaky pacientů, předpokládá se role v prekanceróze	[59]
	piR-651 ↑	vliv na proliferaci nádorových buněk, regulace buněčného cyklu	[64]
	piR-59056 ↑ piR-32105 ↑ piR-58099 ↑		[77]
nádory jater	piR-Hep1 ↑	v komplexu s PIWIL2, vliv na viabilitu a invazivitu buněk, tlumí expresi AKT	[63]
nádory slinivky břišní	piR-17061 ↓	lokalizace v HBII-296A snoRNA	[78]
nádory plic	piR-L-163 ↓	součást intronu genu *LAMC2*, vliv na regulaci buněčného cyklu, proliferaci, viabilitu, migraci a syntézu DNA	[79]
nádory prsu	piR-4987 ↑	korelace s přítomností metastáz v RLU	[65]
nádory ledvin	piR-38756 ↓ piR-57125 ↓ piR-30924 ↓		[80]
	piR-32051 ↑ piR-39894 ↑ piR-43607 ↑	piRNA klastr na chromozomu 17, korelace s přítomností metastáz, stadiem onemocnění a přežíváním pacientů	[81]
	piR-823 ↓		[60]
nádory močového měchýře	piR-60152 ↓	vliv na proliferaci, apoptózu, klonogenicitu	[64]
mnohočetný myelom	piR-823 ↑	korelace s prognózou, vliv na apoptózu, proliferaci, buněčný cyklus a angiogenezi, regulace DNMT3A/B	[24]

RLU – regionální lymfatické uzliny, DNMT3A/B – DNA metyltransferáza 3A/B

dorových buněk, nebo ještě před samotným vznikem onemocnění.

Jednou z nejvíce studovaných piRNA u pacientů s nádory je piR-823. Snížené hladiny této piRNA byly zaznamenány u nádorů žaludku [59] či u pacientů s renálním karcinomem [60], přičemž umělé navýšení hladiny piR-823 *in vitro* v buněčné linii odvozené od nádoru žaludku vedlo k významné inhibici růstu nádorových buněk. Nádorově supresorový efekt této piRNA byl následně potvrzen *in vivo* s využitím myšího modelu [61]. K opačným výsledkům dospěla studie zabývající se expresí piR-823 u mnohočetného myelomu. Hlavní příčinou rozvoje tohoto onemocnění je hypermetylace DNA vedoucí k potlačení transkripce nádorově supresorových genů. V tomto případě byla exprese piR-823 zvýšená jak u pacientů s mnohočetným myelomem, tak ve stabilních buněčných liniích odvozených od tohoto typu nádoru. Zvýšené hladiny zároveň pozitivně korelovaly s klinickým stadiem onemocnění. Umlčení piR-823 pomocí syntetických oligonukleotidů vedlo k zástavě buněčného cyklu a k expresi proteinů indukujících apoptózu. Autoři této studie tedy předpokládají, že piR-823 funguje jako významný onkogen u pacientů s mnohočetným myelomem, a mohla by proto v budoucnu sloužit jako slibný terapeutický cíl [62]. Tyto výsledky naznačují, že jednotlivé piRNA mohou podobně jako miRNA vystupovat v procesu kancerogeneze buď jako onkogeny, nebo jako nádorové supresory v závislosti na typu nádorového onemocnění a okolním mikroprostředí.

V případě hepatocelulárního karcinomu byla identifikována piR-Hep1, jež byla ve zvýšené míře exprimována v nádorové tkáni necelých 50 % pacientů a jejíž umlčení v nádorových liniích vedlo k inhibici životaschopnosti buněk a snížení jejich pohyblivosti [63]. Cheng et al [64] se ve své práci zabývají piR-651, jež je ve zvýšené míře exprimována u pacientů s nádory žaludku, tračníku, prsu a plic, a funguje tedy pravděpodobně jako významný nádorový onkogen. V nádorové tkáni močového měchýře byla identifikována piR-60152, jejíž exprese byla významně snížená u pacientů s tímto onemocněním. Zvýšení hladin této piRNA ve stabilních buněčných liniích pomocí tranzientní transfekce vedlo k snížené proliferační kapacitě, indukci apoptózy a k poklesu klonogenního potenciálu buněk [65].

Deregulovaná exprese piRNA byla popsána i u pacientů s nádory prsu. Huang et al [66] identifikovali zvýšenou expresi pěti piRNA v nádorové tkáni pacientů, přičemž piR-4987 byla aso-

ciována s přítomností metastáz v regionálních lymfatických uzlinách, a mohla by proto sloužit jako slibný prognostický marker. Nedávné studie dále prokázaly, že přibližně 40 % piRNA exprimovaných u pacientů s nádory prsu má intragenový původ. Předpokládá se tedy, že transkripty některých genů by mohly sloužit jako prekurzory piRNA a zároveň by jejich exprese mohla být prostřednictvím těchto piRNA zpětně regulována. Dalším zajímavým zjištěním je pak skutečnost, že transkripce genů pro některé piRNA je závislá na estrogenu a na transkripčním faktoru Erβ. Exprese tří piRNA (DQ597945, DQ570994 a DQ598651) je odlišná u buněk s estrogenovým receptorem a u buněk bez tohoto receptoru. Tyto výsledky naznačují, že by piRNA mohly sloužit jako významné prediktivní biomarkery u pacientů s nádory prsu [67].

Expresním profilováním piRNA v somatických nádorových buňkách se zabývala studie Martineze et al [68]. Z popisovaných 20 831 piRNA bylo v nemaligních somatických buňkách exprimováno 273 piRNA (1,3 %), zatímco v nádorových buňkách bylo detekováno 522 různých piRNA (2,5 %), což je téměř 2krát více. Na základě exprese konkrétních piRNA pak bylo možné spolehlivě odlišit nádorovou tkáň od nenádorové sliznice, zároveň pak byla prokázána vysoká tkáňová specificita některých piRNA.

Tabulka 1 shrnuje výsledky několika dosavadních studií, jež popisují významnou deregulaci konkrétních piRNA u jednotlivých onkologických diagnóz. Tyto kandidátní piRNA by se po dalších validacích mohly stát slibnými diagnostickými, prognostickými či prediktivními biomarkery u pacientů s nádorovými onemocněními.

Cirkulující piRNA jako nové nádorové biomarkery

Do popředí zájmu se v posledních letech dostaly volné cirkulující piRNA v tělních tekutinách, které nabízejí široké využití pro včasný neinvazivní záchyt nádorových onemocnění [69] a také pro predikci léčebné odpovědi či stanovení prognózy pacientů. Bylo prokázáno, že cirkulující piRNA, podobně jako miRNA, jsou v tělních tekutinách vysoce stabilní a mají schopnost odolávat celé řadě i extrémních fyzikálních vlivů uměle vytvořených v laboratorních podmínkách [70].

Jedním z míst výskytu piRNA je např. nebuněčná frakce lidských slin. Bahn et al [71] detekovali 109 různých piRNA přítomných v lidských slinách, přičemž nejvíce exprimovanou byla piR-018570. Cui et al [72] následně analyzovali expresi piR-823 a piR-651 v periferní krvi pacientů s nádorem žaludku. Obě piRNA byly ve zvýšené míře detekovány v krevním séru zdravých kontrol a mohly by v budoucnu sloužit jako nové markery pro neinvazivní diagnostiku tohoto onemocnění. Autoři zároveň uvádějí, že piR-823 a piR-651 jsou citlivějšími indikátory karcinomu žaludku než miR-106a a miR-17, které byly dosud popisovány jako vhodné diagnostické biomarkery těchto nádorů [73]. Na základě exprese piR-823 a piR-651 bylo dále možné zachytit časná stadia onemocnění, a to s vyšší senzitivitou a specificitou, než jakou nabízejí současně používané markery CEA (karcinoembryonální antigen) a CA 19-9 [74].

PiRNA jako nové terapeutické cíle

Identifikace interakčních partnerů piRNA a pochopení principu těchto interakcí nejenže významně rozšíří poznání v oblasti nádorové biologie, ale představuje potenciálně velice slibný terapeutický přístup u nádorových onemocnění. Použití synteticky vyrobených piRNA pro blokaci syntézy cílových proteinů prostřednictvím vazby na mRNA bez nutnosti využití enzymu Dicer je zvažováno jako potenciální terapeutická aplikace. Předpokládá se, že jednou z výhod piRNA jako terapeutického cíle je vysoká specificita (na rozdíl od miRNA). V léčbě by mohly být rovněž využívány PIWI antigeny pro doručení léčiv do míst nádoru [75]. Mezi další výhody piRNA jako potenciálního terapeutického cíle patří účast na degradaci RNA na post-transkripční úrovni a schopnost metylace DNA vedoucí k umlčování genů a inhibici exprese určitých onkogenů [76].

Závěr

Nedávno objevená třída krátkých nekódujících RNA označovaných jako piRNA se stává předmětem výzkumu v mnoha oblastech biologie, vč. biologie nádorové. Tento přehledový článek shrnuje základní poznatky týkající se biogeneze piRNA a mechanizmů jejich funkčního uplatnění v rámci udržování stability genomu. Skutečnost, že piRNA jsou schopné epigeneticky kontrolovat expresi genů a jsou hojně a specificky exprimované ve všech lidských tkáních, jsou hlavními důvody, pro které se staly předmětem biomedicínského výzkumu. V současnosti již víme, že hladiny některých piRNA jsou v nádorové tkáni významně deregulované v porovnání s tkání nenádorovou. Zatím však není zcela jasné, zda tato deregulace vede ke vzniku a progresi onemocnění nebo je spíše důsledkem změn, jež kancerogenezi provázejí. Zatímco některé studie poukazují na skutečnost, že piRNA umlčují expresi nádorových supresorů na transkripční i post-transkripční úrovni, a tím přispívají ke vzniku nádoru, jiné studie předpokládají, že v důsledku globálně snížených hladin piRNA v organizmu dochází k nedostatečné inhibici transkripce některých onkogenů, jejichž exprese je následně zodpovědná za rozvoj nádorového onemocnění. Lepší porozumění biologické funkce těchto molekul by v budoucnosti mohlo vést k jejich možnému využití v terapii nádorových onemocnění a ke zdokonalení molekulární typizace nádorů. Velkým příslibem do budoucna jsou rovněž volné cirkulující piRNA přítomné v tělních tekutinách, jež by mohly představovat slibné biomarkery pro časnou neinvazivní diagnostiku a zároveň by mohly přispět k lepší stratifikaci pacientů na základě prognózy či předpokládané léčebné odpovědi.

Poděkování

Autoři děkují Mgr. Andrejovi Bešše za přípravu ilustrací pro publikaci.

Literatura

1. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. Cell 2011; 144(5): 646–674. doi: 10.1016/j.cell.2011.02.013.
2. Sabin LR, Delás MJ, Hannon GJ. Dogma derailed: the many influences of RNA on the genome. Mol Cell 2013; 49(5): 783–794. doi: 10.1016/j.molcel.2013.02.010.
3. Baylin SB, Jones PA. A decade of exploring the cancer epigenome – biological and translational implications. Nat Rev Cancer 2011; 11(10): 726–734. doi: 10.1038/nrc3130.
4. Luteijn MJ, Ketting RF. PIWI-interacting RNAs: from generation to transgenerational epigenetics. Nat Rev Genet 2013; 14(8): 523–534. doi: 10.1038/nrg3495.

5. Sana J, Faltejskova P, Svoboda M et al. Novel classes of non-coding RNAs and cancer. J Transl Med 2012; 10: 103. doi: 10.1186/1479-5876-10-103.
6. Chinwalla AT, Cook LL, Delehaunty KD et al. Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome. Nature 2002; 420(6915): 520–562.
7. Slotkin RK, Martienssen R. Transposable elements and the epigenetic regulation of the genome. Nat Rev Genet 2007; 8(4): 272–285.
8. Goodier JL, Kazazian HH. Retrotransposons revisited: the restraint and rehabilitation of parasites. Cell 2008; 135(1): 23–35. doi: 10.1016/j.cell.2008.09.022.
9. Lim RS, Kai T. A piece of the pi(e): the diverse roles of animal piRNAs and their PIWI partners. Semin Cell Dev Biol 2015; 47–48: 17–31. doi: 10.1016/j.semcdb.2015.10.025.
10. Höck J, Meister G. The Argonaute protein family. Genome Biol 2008; 9(2): 210. doi: 10.1186/gb-2008-9-2-210.
11. Kim VN, Han J, Siomi MC. Biogenesis of small RNAs in animals. Nat Rev Mol Cell Biol 2009; 10(2): 126–139. doi: 10.1038/nrm2632.
12. Parker JS, Barford D. Argonaute: a scaffold for the function of short regulatory RNAs. Trends Biochem Sci 2006; 31(11): 622–630.
13. Zhai L, Wang L, Teng F et al. Argonaute and argonaute-bound small RNAs in stem cells. Int J Mol Sci 2016; 17(2): 208. doi: 10.3390/ijms17020208.
14. Ku HY, Lin H. PIWI proteins and their interactors in piRNA biogenesis, germline development and gene expression. Natl Sci Rev 2014; 1(2): 205–218.
15. Aravin A, Gaidatzis D, Pfeffer S et al. A novel class of small RNAs bind to MILI protein in mouse testes. Nature 2006; 442(7099): 203–207.
16. Girard A, Sachidanandam R, Hannon GJ et al. A germline-specific class of small RNAs binds mammalian Piwi proteins. Nature 2006; 442(7099): 199–202.
17. Pane A, Wehr K, Schüpbach T. Zucchini and squash encode two putative nucleases required for rasiRNA production in the Drosophila germline. Dev Cell 2007; 12(6): 851–862.
18. Rengaraj D, Lee S, Park T et al. Small non-coding RNA profiling and the role of piRNA pathway genes in the protection of chicken primordial germ cells. BMC Genomics 2014; 15: 757. doi: 10.1186/1471-2164-15-757.
19. Aravin AA, Sachidanandam R, Bourc'his D et al. A piRNA pathway primed by individual transposons is linked to de novo DNA methylation in mice. Mol Cell 2008; 31(6): 785–799. doi: 10.1016/j.molcel.2008.09.003.
20. Kuramochi-Miyagawa S, Watanabe T, Gotoh K et al. DNA methylation of retrotransposon genes is regulated by Piwi family members MILI and MIWI2 in murine fetal testes. Genes Dev 2008; 22(7): 908–917. doi: 10.1101/gad.1640708.
21. Pezic D, Manakov SA, Sachidanandam R et al. piRNA pathway targets active LINE1 elements to establish the repressive H3K9me3 mark in germ cells. Genes Dev 2014; 28(13): 1410–1428. doi: 10.1101/gad.240895.114.
22. Rajasethupathy P, Antonov I, Sheridan R et al. A role for neuronal piRNAs in the epigenetic control of memory-related synaptic plasticity. Cell 2012; 149(3): 693–707. doi: 10.1016/j.cell.2012.02.057.
23. Lee EJ, Banerjee S, Zhou H et al. Identification of piRNAs in the central nervous system. RNA 2011; 17(6): 1090–1099. doi: 10.1261/rna.2565011.
24. Yan Z, Hu HY, Jiang X et al. Widespread expression of piRNA-like molecules in somatic tissues. Nucleic Acids Res 2011; 39(15): 6596–6607. doi: 10.1093/nar/gkr298.
25. Houwing S, Kamminga LM, Berezikov E et al. A role for Piwi and piRNAs in germ cell maintenance and transposon silencing in Zebrafish. Cell 2007; 129(1): 69–82.
26. Khurana JS, Theurkauf W. piRNAs, transposon silencing, and Drosophila germline development. J Cell Biol 2010; 191(5): 905–913. doi: 10.1083/jcb.201006034.
27. Brennecke J, Aravin AA, Stark A et al. Discrete small RNA-generating loci as master regulators of transposon activity in Drosophila. Cell 2007; 128(6): 1089–1103.
28. Goh WS, Seah JW, Harrison EJ et al. A genome-wide RNAi screen identifies factors required for distinct stages of C. elegans piRNA biogenesis. Genes Dev 2014; 28(7): 797–807. doi: 10.1101/gad.235622.113.
29. Khurana JS, Theurkauf W. piRNAs, transposon silencing, and Drosophila germline development. J Cell Biol 2010; 191(5): 905–913. doi: 10.1083/jcb.201006034.
30. Ishizu H, Siomi H, Siomi MC. Biology of PIWI-interacting RNAs: new insights into biogenesis and function inside and outside of germlines. Genes Dev 2012; 26(21): 2361–2373. doi: 10.1101/gad.203786.112.
31. Czech B, Hannon GJ. One loop to rule them all: the ping-pong cycle and piRNA-guided silencing. Trends Biochem Sci 2016; 41(4): 324–337. doi: 10.1016/j.tibs.2015.12.008.
32. Luteijn MJ, Ketting RF. PIWI-interacting RNAs: from generation to transgenerational epigenetics. Nat Rev Genet 2013; 14(8): 523–534. doi: 10.1038/nrg3495.
33. Ketting RF. The many faces of RNAi. Dev Cell 2011; 20(2): 148–161. doi: 10.1016/j.devcel.2011.01.012.
34. Guzzardo PM, Muerdter F, Hannon GJ. The piRNA pathway in flies: highlights and future directions. Curr Opin Genet Dev 2013; 23(1): 44–52. doi: 10.1016/j.gde.2012.12.003.
35. Siomi MC, Sato K, Pezic D et al. PIWI-interacting small RNAs: the vanguard of genome defence. Nat Rev Mol Cell Bio 2011; 12(4): 246–258. doi: 10.1038/nrm3089.
36. Kuramochi-Miyagawa S, Kimura T, Yomogida K et al. Two mouse piwi-related genes: miwi and mili. Mech Dev 2001; 108(1–2): 121–133.
37. Reuter M, Chuma S, Tanaka T et al. Loss of the Mili-interacting tudor domain-containing protein-1 activates transposons and alters the Mili-associated small RNA profile. Nat Struct Mol Biol 2009; 16(6): 639–646. doi: 10.1038/nsmb.1615.
38. Sienski G, Dönertas D, Brennecke J. Transcriptional silencing of transposons by Piwi and maelstrom and its impact on chromatin state and gene expression. Cell 2012; 151(5): 964–980. doi: 10.1016/j.cell.2012.10.040.
39. Le Thomas A, Rogers AK, Webster A et al. Piwi induces piRNA-guided transcriptional silencing and establishment of a repressive chromatin state. Genes Dev 2013; 27(4): 390–399. doi: 10.1101/gad.209841.112.
40. Bagijn MP, Goldstein LD, Sapetschnig A et al. Function, targets, and evolution of caenorhabditis elegans piRNAs. Science 2012; 337(6094): 574–578. doi: 10.1126/science.1220952.
41. Ashe A, Sapetschnig A, Weick EM et al. piRNAs can trigger a multigenerational epigenetic memory in the germline of C. elegans. Cell 2012; 150(1): 88–99. doi: 10.1016/j.cell.2012.06.018.
42. Shirayama M, Seth M, Lee HC et al. piRNAs initiate an epigenetic memory of nonself RNA in the C. elegans germline. Cell 2012; 150(1): 65–77. doi: 10.1016/j.cell.2012.06.015.
43. Faulkner GJ, Kimura Y, Daub CO et al. The regulated retrotransposon transcriptome of mammalian cells. Nat Genet 2009; 41(5): 563–571. doi: 10.1038/ng.368.
44. Lim AK, Lorthongpanich C, Chew TG et al. The nuage mediates retrotransposon silencing in mouse primordial ovarian follicles. Development 2013; 140(18): 3819–3825. doi: 10.1242/dev.099184.
45. Watanabe T, Lin H. Posttranscriptional regulation of gene expression by Piwi proteins and piRNAs. Mol Cell 2014; 56(1): 18–27. doi: 10.1016/j.molcel.2014.09.012.
46. Kotelnikov RN, Klenov MS, Rozovsky YM et al. Peculiarities of piRNA-mediated post-transcriptional silencing of Stellate repeats in testes of Drosophila melanogaster. Nucleic Acids Res 2009; 37(10): 3254–3263. doi: 10.1093/nar/gkp167.
47. Kiuchi T, Koga H, Kawamoto M et al. A single female-specific piRNA is the primary determiner of sex in the silkworm. Nature 2014; 509(7502): 633–636. doi: 10.1038/nature13315.
48. Shpiz S, Ryazansky S, Olovnikov I et al. Euchromatic transposon insertions trigger production of novel Pi- and Endo-siRNAs at the target sites in the drosophila germline. PLoS Genet 2014; 10(2): e1004138. doi: 10.1371/journal.pgen.1004138.
49. Qiao D, Zeeman AM, Deng W et al. Molecular characterization of hiwi, a human member of the piwi gene family whose overexpression is correlated to seminomas. Oncogene 2002; 21(25): 3988–3999.
50. Suzuki R, Honda S, Kirino Y. PIWI expression and function in cancer. Front Genet 2012; 3: 204. doi: 10.3389/fgene.2012.00204.
51. Sun G, Wang Y, Sun L et al. Clinical significance of Hiwi gene expression in gliomas. Brain Res 2011; 1373: 183–188. doi: 10.1016/j.brainres.2010.11.097.
52. Wang Y, Liu Y, Shen X et al. The PIWI protein acts as a predictive marker for human gastric cancer. Int J Clin Exp Pathol 2012; 5(4): 315–325.
53. Saito K, Nishida KM, Mori T et al. Specific association of Piwi with rasiRNAs derived from retrotransposon and heterochromatic regions in the Drosophila genome. Genes Dev 2006; 20(16): 2214–2222.
54. Cox DN, Chao A, Baker J et al. A novel class of evolutionarily conserved genes defined by piwi are essential for stem cell self-renewal. Genes Dev 1998; 12(23): 3715–3727.
55. Grimaud C, Bantignies F, Pal-Bhadra M et al. RNAi components are required for nuclear clustering of Polycomb group response elements. Cell 2006; 124(5): 957–971.
56. Yin H, Lin H. An epigenetic activation role of Piwi and a Piwi-associated piRNA in Drosophila melanogaster. Nature 2007; 450(7167): 304–308.
57. Siddiqi S, Matushansky I. Piwis and piwi-interacting RNAs in the epigenetics of cancer. J Cell Biochem 2012; 113(2): 373–380. doi: 10.1002/jcb.23363.
58. Esteller M. Non-coding RNAs in human disease. Nat Rev Genet 2011; 12(12): 861–874. doi: 10.1038/nrg3074.
59. Cheng J, Deng H, Xiao B et al. piR-823, a novel non-coding small RNA, demonstrates in vitro and in vivo tumor suppressive activity in human gastric cancer cells. Cancer Lett 2012; 315(1): 12–17. doi: 10.1016/j.canlet.2011.10.004.
60. Iliev R, Stanik M, Fedorko M et al. Decreased expression levels of PIWIL1, PIWIL2, and PIWIL4 are associated with worse survival in renal cell carcinoma patients. Oncotargets Ther 2016; 9: 217–222. doi: 10.2147/OTT.S91295.
61. Iliev R, Fedorko M, Machackova T et al. Expression levels of PIWI-interacting RNA piR-823 are deregulated in tumor tissue blood serum and urine of patients with renal cell carcinoma. Anticancer Res 2016; 36(12): 6419–6423.
62. Yan H, Wu QL, Sun CY et al. piRNA-823 contributes to tumorigenesis by regulating de novo DNA methylation and angiogenesis in multiple myeloma. Leukemia 2015; 29(1): 196–206. doi: 10.1038/leu.2014.135.
63. Cuiyun Y, Ning Q, Li ZP et al. Non-coding RNAs: new therapeutic targets and opportunities for hepatocellular carcinoma. Adv Mod Oncol Res 2016; 2(1): 5–17.
64. Cheng J, Guo JM, Xiao BX et al. piRNA, the new non-coding RNA, is aberrantly expressed in human cancer cells. Clin Chim Acta 2011; 412(17–18): 1621–1625. doi: 10.1016/j.cca.2011.05.015.
65. Chu H, Hui G, Yuan L et al. Identification of novel piRNAs in bladder cancer. Cancer Lett 2015; 356(2): 561–567. doi: 10.1016/j.canlet.2014.10.004.
66. Huang G, Hu H, Xue X et al. Altered expression of piRNAs and their relation with clinicopathologic features of breast cancer. Clin Transl Oncol 2013; 15(7): 563–568. doi: 10.1007/s12094-012-0966-0.
67. Hashim A, Rizzo F, Marchese G et al. RNA sequencing identifies specific PIWI-interacting small non-coding RNA expression patterns in breast cancer. Oncotarget 2014; 5(20): 9901–9910.
68. Martinez VD, Enfield KS, Rowbotham DA et al. An atlas of gastric PIWI-interacting RNA transcriptomes and their utility for identifying signatures of gastric can-

cer recurrence. Gastric Cancer 2016; 19(2): 660–665. doi: 10.1007/s10120-015-0487-y.
69. Kishikawa T, Otsuka M, Ohno M et al. Circulating RNAs as new biomarkers for detecting pancreatic cancer. World J Gastroenterol 2015; 21(28): 8527–8540. doi: 10.3748/wjg.v21.i28.8527.
70. Yang X, Cheng Y, Lu Q et al. Detection of stably expressed piRNAs in human blood. Int J Clin Exp Med 2015; 8(8): 13353–13358.
71. Bahn JH, Zhang Q, Li F et al. The landscape of microRNA, Piwi-interacting RNA, and circular RNA in human saliva. Clin Chem 2015; 61(1): 221–230. doi: 10.1373/clinchem.2014.230433.
72. Cui L, Lou Y, Zhang X et al. Detection of circulating tumor cells in peripheral blood from patients with gastric cancer using piRNAs as markers. Clin Biochem 2011; 44(13): 1050–1057. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2011.06.004.
73. Zhou H, Guo JM, Lou YR et al. Detection of circulating tumor cells in peripheral blood from patients with gastric cancer using microRNA as a marker. J Mol Med 2010; 88(7): 709–717. doi: 10.1007/s00109-010-0617-2.
74. Li PF. Non-coding RNAs and gastric cancer. World J Gastroenterol 2014; 20(18): 5411–5419. doi: 10.3748/wjg.v20.i18.5411.
75. Assumpção CB, Calcagno DQ, Araújo TM et al. The role of piRNA and its potential clinical implications in cancer. Epigenomics 2015; 7(6): 975–984. doi: 10.2217/epi.15.37.
76. Mei Y, Clark D, Mao L. Novel dimensions of piRNAs in cancer. Cancer Lett 2013; 336(1): 46–52. doi: 10.1016/j.canlet.2013.04.008.
77. Martinez VD, Vucic EA, Thu KL et al. Unique somatic and malignant expression patterns implicate PIWI-interacting RNAs in cancer-type specific biology. Sci Rep 2015; 5: 10423. doi: 10.1038/srep10423.
78. Müller S, Raulefs S, Bruns P et al. Next-generation sequencing reveals novel differentially regulated mRNAs, lncRNAs, miRNAs, sdRNAs and a piRNA in pancreatic cancer. Mol Cancer 2015; 14(1): 94. doi: 10.1186/s12943-015-0358-5.
79. Mei YP, Liao JP, Shen J et al. Small nucleolar RNA 42 acts as an oncogene in lung tumorigenesis. Oncogene 2012; 31(22): 2794–2804. doi: 10.1038/onc.2011.449.
80. Busch J, Ralla B, Jung M et al. Piwi-interacting RNAs as novel prognostic markers in clear cell renal cell carcinomas. J Exp Clin Cancer Res 2015; 34(1): 61. doi: 10.1186/s13046-015-0180-3.
81. Li Y, Wu X, Gao H et al. Piwi-interacting RNAs (piRNAs) are dysregulated in renal cell carcinoma and associated with tumor metastasis and cancer-specific survival. Mol Med Camb Mass 2015; 21(1): 381–388. doi: 10.2119/molmed.2014.00203.

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 ledna do prosince 2016.
3. Ve svých článcích zaslaných 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®

Quality of Life, Anxiety and Depression in Patients with Differentiated Thyroid Cancer under Short Term Hypothyroidism Induced by Levothyroxine Withdrawal

Kvalita života, úzkost a deprese u pacientů s diferencovaným karcinomem štítné žlázy během krátkodobé hypotyreózy indukované vysazením levothyroxinu

Badihian S.[1], Jalalpour P.[1], Mirdamadi M.[2], Moslehi M.[2]

[1] Students' Research Center, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
[2] Department of Medical Physics and Biomedical Engineering, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Summary

Background: We studied quality of life (QOL), anxiety, and depression in patients with differentiated thyroid cancer (DTC) either during treatment with levothyroxine or during withdrawal from levothyroxine when whole-body scanning (WBS) needed to be performed. ***Methods:*** DTC patients projected to undergo WBS were included in the study. They were studied at two time-points – the day before levothyroxine withdrawal, and one month after levothyroxine withdrawal. They were asked to fill WHOQOL-Bref, BDI-II, and HADS questionnaires at both time-points, and blood samples were taken to measure TSH, Tg, and TgAb levels. ***Results:*** Twenty-nine subjects (11 males) with a mean age of 42.6 ± 14.1 years entered the study. From the first to second time-point, the mean TSH level increased from 0.73 to 106.9 U/ml and the mean Tg level increased from 20.4 to 63.6 ng/ml. QOL scores decreased in four dimensions (physical health: 67.8 to 25.7; psychological: 58.9 to 38.9; social relationship: 67.5 to 56; and environment: 57.2 to 48.8). Patients also felt more depressed (48.3% to 93.2%) and anxious (65.5% to 89.6%). All changes were statistically significant ($p < 0.005$). ***Conclusion:*** We found decreased QOL after short-term hypothyroidism, especially in physical health and psychological dimensions. We also found that patients became significantly depressed and anxious after levothyroxine withdrawal. Our findings suggest that alternative therapies, such as those employing rhTSH, should be considered for these patients. Psycho-oncological support might also be useful in helping them overcome their symptoms during short-term hypothyroidism; however, considering the reversibility of their symptoms, supportive care might be more effective.

Key words

quality of life – anxiety – depression – thyroid cancer – hypothyroidism – levothyroxine – whole body scanning

This work was funded by vice-chancellor for research of Isfahan University of Medical Sciences (grant No. 190155).

Tato práce byla podpořena grantem prorektora pro vědu Univerzity pro lékařské vědy v Isfahanu č. 190155.

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 recommendation for biomedical papers.

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

Masoud Moslehi, MD
Department of Medical Physics and Biomedical Engineering
School of Medicine
Isfahan University of Medical Sciences
P.O. Box 319
Hezar-Jerib Avenue
Isfahan, Iran
e-mail: mmoslehi_m@yahoo.com

Submitted/Obdrženo: 5. 5. 2016
Accepted/Přijato: 21. 6. 2016

http://dx.doi.org/10.14735/amko2016439

Souhrn

Východiska: Sledovali jsme kvalitu života (quality of life – QOL), výskyt úzkosti a deprese u pacientů s diferencovaným karcinomem štítné žlázy jak během léčby levothyroxinem, tak při jeho vysazení potřebném při celotělové scintigrafii (whole-body scanning – WBS). ***Metody:*** Do studie byli zařazeni pacienti s diferencovaným karcinomem štítné žlázy, kteří měli podstoupit WBS. Byli vyšetřováni ve dvou časových bodech – den před a měsíc po vysazení levothyroxinu. Pacienti vyplnili v obou časových bodech dotazníky WHOQOL-BREF, BDI-II a HADS. Byly odebrány vzorky krve ke stanovení hladin TSH, Tg a TgAb. ***Výsledky:*** Do studie bylo zařazeno 29 subjektů (11 mužů) průměrného věku 42,6 ± 14,1 let. Od prvního do druhého časového bodu se hladiny TSH zvýšily 0,73 na 106,9 U/ml a u Tg se průměrné hladiny zvýšily z 20,4 na 63,6 ng/ml. QOL skóre bylo kleslo ve čtyřech ukazatelích (fyzické zdraví: z 67,8 na 25,7; psychologické: z 58,9 na 38,9; sociální vztahy: z 67,5 na 56; prostředí: z 57,2 na 48,8). Pacienti také pociťovali větší depresi (ze 48,3 na 93,2 %) a úzkost (ze 65,5 na 89,6 %). Všechny změny byly statisticky významné ($p < 0,005$). ***Závěr:*** Zjistili jsme po krátkodobé hypotyreóze snížení QOL, zejména v ukazatelích fyzického zdraví a psychologické kondice. Také jsme zjistili výrazné zvýšení depresí a úzkosti po vysazení levothyroxinu. Naše nálezy podporují u těchto pacientů využití jiných metod léčby, které využívají rhTSH. V průběhu krátkodobé hypotyreózy může být užitečná k překonání příznaků i psychoonkologická podpora. Nicméně s ohledem na reverzibilitu symptomů může být účinnější prostá podpůrná péče.

Klíčová slova

kvalita života – úzkost – deprese – nádor štítné žlázy – hypothyroidizmus – vysazení levothyroxinu – celotělová scintigrafie

Introduction

Thyroid cancer is the most frequent endocrine malignancy standing as the 12th cancer in males and 9th cancer in females in Iran [1]. Differentiated thyroid cancer (DTC), arising from thyroid follicular epithelial cells, is a slowly growing disease and accounts for a vast majority of thyroid cancers [2]. This malignancy has an incidence rate of 0.5 to 10 per 10,000 individuals. Prognosis is good, and only 0.3% of all cancer deaths are related to thyroid cancer [3]. In contrast to more common malignancies, DTC is known for its slow clinical course and potential for late relapses, and lifelong follow-up is required [4].

Standard management of DTC is total thyroidectomy, if necessary with cervical lymph node dissection, followed by radioiodine ablation (with some exceptions) [2,4,5]. Then, patients need to be treated with levothyroxine for life which eliminates symptoms of hypothyroidism and suppresses thyrotropin (TSH) levels [2].

To detect and ablate thyroid remnants using radioactive iodine, stimulation by TSH is required. Therefore, levothyroxine is discontinued in these patients before whole body scanning (WBS) to increase TSH levels [2]. Levothyroxine withdrawal causes a short-term hypothyroidism in these patients and compels symptoms such as fatigue, decreased appetite, fluid retention and constipation [6,7]. Besides, previous findings have shown that these episodes of hypothyroidism have noticeable negative effects on patients' quality of life (QOL) and their psychometric functionality [8,9].

In the long-term management of cancer, it is important to preserve health-related quality of life (HRQOL) in patients in addition to increasing their survival [10]. HRQOL is decreased in these patients not only because of the episodes of levothyroxine withdrawal, but also because of the administration of supraphysiological doses of levothyroxine [8–10]. Some studies suggest psychological treatments for cancer patients [11,12]; however, it has been condoned in DTC patients probably because of low mortality and morbidity rates [13].

Previous studies have focused mostly on evaluation of HRQOL in DTC patients [10,14–17], and only few studies have noticed other psychological aspects in these patients [9,18]. Also, alterations in QOL, anxiety and depression are not studied in short-term hypothyroidism. In this study, we aimed to evaluate HRQOL, anxiety and depression in these patients.

Patients and methods

This is an observational study conducted from 2012 to 2015 at Seyed-Al-Shohada hospital affiliated to Isfahan University of Medical Sciences, located in the city of Isfahan, Iran. The inclusion criteria were defined as known DTC patients with initial thyroidectomy and radioactive iodine ablation who were referred for routine WBS during their follow-up during the study. The exclusion criteria were: age < 16 years old; presence of known psychiatric disease, mental illness or brain injury; known chronic comorbidities; taking psychiatric medication. The exclusion criteria were defined in order to eliminate the probable effect of mentioned conditions on psychological parameters. The study was approved by regional bioethics committee of Isfahan University of Medical Sciences, and all patients were asked to fill an informed consent form.

Patients were studied during levothyroxine withdrawal at two time points within one month – the last day on levothyroxine at their usual suppressive doses, and the day before administration of radioactive iodine for WBS. We expected to see a euthyroid or subclinical or mild hyperthyroid status in our cases at the first time point, changing to hypothyroidism at the second time point. To confirm these expectations, we took blood sample from patients at both time points to check TSH levels. Also, Tg (thyroglobuline) and TgAb (thyroglobuline antibody) were measured at both time points to find out any residual thyroid tissue. The dosage of levothyroxine during follow-up and the indication for WBS were decided by the physicians referring patients. At the time of study, recombinant human TSH was not available in our department of nuclear medicine.

All patients were advised to take their usual levothyroxine dose at the first time point and levothyroxine was withdrawn thereafter. Blood samples were

Tab. 1. Result from blood tests in patients before and after levothyroxine withdrawal.

	TSH (U/ml)		TgAb (U/ml)		Tg (ng/ml)	
	before	after	before	after	before	after
mean (SD)	0.73 (0.91)	106.9 (57.7)	32.3 (113.7)	33.2 (104.1)	20.4 (49.5)	63.6 (102.4)
range	0–3	32–276	2.0–620	2.0–569	0–254	0.2–500
p (comparison of items before and after levothyroxine withdrawal)	p < 0.001		p < 0.001		p > 0.05	

SD – standard deviation

Tab. 2. Comparison of WHOQOL scores before and after levothyroxine withdrawal.

	Dimension 1[1]		Dimension 2[2]		Dimension 3[3]		Dimension 4[4]		Total score	
	before	after	before	after	before	after	before	after	before	after
mean (SD)	67.8 (10.1)	25.7 (14.7)	58.9 (9.5)	38.9 (14.7)	67.5 (14.3)	56.0 (14.9)	57.2 (8.9)	48.8 (10.1)	49.6 (6.7)	32.4 (9.1)
range	46.4–85.7	0–57.1	41.7–87.5	8.3–83.3	33.3–91.7	16.7–75	31.3–78.1	34.4–78.1	36.7–67.5	15–57.5
p	< 0.001		< 0.001		< 0.001		< 0.001		< 0.001	
95% CI	(36.3–47.9)		(15.4–24.5)		(6.7–16.3)		(5.2–11.6)		(14.4–20.1)	

[1] Physical health, [2] Psychological, [3] Social relationships, [4] Environment, SD – standard deviation, CI – confidence interval

obtained from patients after 12 hours of fasting. TSH levels were measured by immunoradiometric assay, using Kavoshyar (Iran-Tehran) kits. TSH tests were performed by Berthold-LB2111 unit gamma counter equipment. Tg and TgAb were measured using chemiluminescent immunoassay method by LIAISON analyzer (Germany). The mean coefficients of variation were below 10% for all these assays. The normal ranges were 0.3–0.5 U/mL for TSH, 5–25 ng/mL for Tg and < 116 U/mL for TgAb.

After blood testing, patients were asked to fill three questionnaires on QOL, anxiety and depression. To determine the QOL, we used the World Health Organization (WHO) brief questionnaire [19]. This questionnaire assesses QOL using four dimensions of physical health, psychological, social relationships and environment, through items with five-point Likert scale; higher total score shows better QOL [20].

To assess depression, we used Beck Depression Inventory-second version (BDI-II) which determines the level of depression using its cognitive and physical symptoms [21]. It has 21 items with a four-point Likert scale. The score of ≤ 13 shows that the patient is not depressed and the score of ≥ 14 shows depression (14–19: mild depression, 20–28: moderate depression, ≥ 29 severe depression). The score ≤ 4 suggests that the patient denies depression, and very high scores suggest exaggeration of depression as well [21].

Finally, the hospital depression and anxiety scale (HADS) questionnaire was used to determine anxiety and depression [22]. This questionnaire is designed especially for somatically ill patients. It has 14 items, each item scored on a four-point Likert scale. The score of ≤ 8 suggests the absence of anxiety or depression, and the score > 8 shows presence of anxiety or depression [22]. All questionnaires were translated into Persian and validated previously. Patients were asked to fill out the questionnaires at both time points.

Patients' data including age, gender, marital status, grading and staging of tumor, TSH. Tg, TgAb, and the score of three questionnaires at two time points were all collected in a database. Cancer staging was performed based on the recent management guidelines for patients with thyroid nodules and DTC [2]. Data analysis was performed using simple t-test, paired t-test, Wilcoxon signed ranks test, and McNemar test using SPSS 18. P-value less than 0.05 was considered as significant.

Results

Twenty-nine patients were enrolled in the study, including 11 males and 18 females (37.9% and 62.1% resp.), with mean age of 42.6 years (ranging from 16 to 68 years; SD: 14.9). Twenty-one patients (72.4%) had T1 tumors and the rest had T2 tumors (27.6%). Also, 19 patients (65.5%) had stage I thyroid cancer, seven patients (24.1%) stage II, and three patients (10.3%) stage III. Eighteen patients (62.1%) reported no stress factors which may affect their QOL, anxiety, or depression; however, 11 of them reported stress factors, such as immigration, spouse death and very low income. The mean TSH level at the first and second time point were

Tab. 3. Comparison of BDI-II scores before and after levothyroxine withdrawal.

	Not depressed		Low		Moderate		Severe	
	before	after	before	after	before	after	before	after
n (%)	15 (51.7)	2 (6.8)	8 (27.5)	1 (3.4)	6 (20.6)	6 (20.6)	0 (0)	20 (68.9)
p	p < 0.001		p < 0.001		p < 0.001		p < 0.001	

Tab. 4. Comparison of HADS scores before and after levothyroxine withdrawal.

	Anxiety				Depression			
	before		after		before		after	
	no	yes	no	yes	no	yes	no	yes
n (%)	10 (34.4)	19 (65.5)	3 (10.3)	26 (89.6)	2 (6.8)	27 (93.1)	0 (0)	29 (100)
p	p < 0.005				p > 0.05			

0.73 and 106.9 U/ml, resp. ($p < 0.001$), showing that all patients went through a hyperthyroidism condition. Tg and TgAb levels were also increased at the second time point. Results from blood tests are presented in Tab. 1.

Scores from WHOQOL-Bref questionnaire are demonstrated in Tab. 2 in four dimensions (D). As it is shown in the table, the mean scores for D1, D2, D3, and D4 before levothyroxine withdrawal were 67.8, 58.9, 67.5, and 57.2 resp. These means decreased to 25.7 for D1, 38.9 for D2, 56 for D3, and 48.8 for D4 after one-month of levothyroxine withdrawal ($p < 0.001$). Table 3 shows results from BDI-II. At the first time point, 15 patients were not depressed and no one was severely depressed, while at the second time point, 20 patients were severely depressed. Wilcoxon signed rank test showed that the aforementioned difference is statistically significant (z: –4.523; $p < 0.001$). Regarding HADS scores, 19 patients were anxious at the first time point, which increased to 26 cases at the second time point ($p < 0.001$). Also, 27 patients were depressed initially, which increased to 29 patients at the end of study ($p > 0.05$). These findings are summarized in Tab. 4.

Discussion

As discussed earlier, DTC patients need to discontinue their thyroid supplemental drug temporarily to perform WBS [2]. Some studies have suggested that this episode of hypothyroidism can have negative effects on patients QOL [23,24]. Also, other psychological aspects have been evaluated in previous studies, suggesting impairment of psychometric functionality in the hypothyroidism phase [8,9].

The importance of QOL and other psychological aspects is also a topic of debate in all cancer patients, because of the chronicity of their disease and its nature [10]. Therefore, patients with DTC may experience decreased QOL, depression and anxiety because they have cancer [25], and these disorders may be exacerbated after levothyroxine withdrawal. It should be noted that these patients are considered cured and may not get enough attention for their QOL and general health status [14].

In our series, the mean TSH level before levothyroxine withdrawal was 0.73, with a median of 0.20 which shows that most patients had suppressed TSH level, and the mean was increased to 106.9 which shows all patients were in the hypothyroidism phase at the second time point. Tg levels were measured at the first time point to see whether there are still thyroid remnants that produce Tg. The mean of 20.4 for Tg, with SD of 49.5 showed most patients did not have detectable levels of Tg; however, normal ranges or high ranges were also reported in a small number of them. This shows that most cases had no remaining thyroid tissue. Tg mean was increased to 63.6 which is the result of increased level of TSH in patients and increased production of Tg by thyroid remnants consequently. High levels of TgAb can result in false lower results of Tg in the laboratory [26]. For better evaluation of Tg levels, TgAb levels were also measured, which showed a normal range at both time points suggesting that Tg results are not falsely lower than the real amount.

Regarding QOL, scores in all dimensions were significantly decreased at the second time point. This decrease was more tangible in the physical health dimension, followed by psychological dimension. Physical health dimension covers questions about activities of daily living, energy and fatigue, mobility, pain and discomfort, sleep and rest, and work capacity [20] and these items may be affected more by hypothyroidism symptoms. Dow et al. showed that HRQOL is decreased after levothyroxine withdrawal; however, they evaluated QOL using a newly designed tool for this purpose [14]. Same findings were confirmed in the study by Tagay et al., using standardized tools to evaluate QOL [8] and also by other similar studies [9,23,27–29]. Our study confirms the previous findings on impaired QOL

during levothyroxine withdrawal, with more emphasis on physical health and psychological dimensions.

We found that patients get significantly depressed after one month of levothyroxine withdrawal. In our series, 51.7% of patients were not depressed at the first time point, and most of them became moderately or severely depressed at the second time point. Previous findings on this issue are various in different studies. Tagay et al. found no significant change in depression in the hypothyroidism phase [8]. In contrast, other studies have found deterioration of depressive symptoms in these patients after levothyroxine withdrawal [9,30,31]. Most previous studies have evaluated depression in long-term subclinical hypothyroidism, and few of them have investigated it in a short-term hypothyroidism. Our finding is consistent with most previous studies on depression in the hypothyroidism phase; however, we found more dramatic rise in BDI-II scores compared to previous studies. Reviewing results from HADS--depression showed a slightly higher, but not significant number of depressed cases after levothyroxine withdrawal. Based on HADS scores, 27 patients were classified as depressed at the first time point, increasing to all patients at the second time point. Results from HADS-depression seem not to be reliable, compared to BDI-II scores. The reason may be because of the difference of methods that these questionnaires employ to detect depression in patients.

Finally, we found that patients experience more anxiety at the second time point. These results are considerable from two aspects. First, number of anxious patients at the first time point was higher compared to the healthy Iranian population reported in previous studies [22]. This may suggest that DTC patients experience more anxiety even on therapeutic doses of levothyroxine and in euthyroid phase; however, this finding may not be reliable considering the lack of control group in our study. Second, the significant increase in anxiety scores after levothyroxine withdrawal suggests that they need to tolerate even more anxiety at this one-month period of hypothyroidism. Previous studies have reported diverse results on this subject. Tagay et al. showed that these patients experience more anxiety compared to the healthy population; however, they did not find any difference between anxiety scores before and after levothyroxine withdrawal [8]. Some other reports have also studied level of anxiety in DTC patients and found them more anxious, probably because of the subclinical hypothyroidism [32,33]. But, few studies have addressed this issue in short-term hypothyroidism. Cohen et al. and Botella--Carretero et al. found impaired psychometric impairment in these patients after short-term hypothyroidism which is consistent with our results [7,9].

We had some limitations in this study: 1. we lack a control group of healthy patients to compare results at the first time point which limited us to evaluate the base scores of our cases; 2. we had limited number of patients who could be included in the study; 3. we were obliged to use questionnaires that are translated and validated into the Persian version, and because of that, these three questionnaires were chosen to cover QOL, depression and anxiety. Unfortunately, we could not use a disease-specific QOL questionnaire because of the mentioned problem. Finally, this study was designed as cross-sectional, and we cannot suggest any causality accordingly.

In conclusion, we found decreased QOL in DTC patients after short-term hypothyroidism, especially in physical health and psychological dimensions. Also, we found that patients get significantly depressed after this period and experience more anxiety as well. Our findings suggest that an alternative method, such as using rhTSH, should be considered in these patients. Psychooncological support may also be useful for them during the short-term hypothyroidism; however, considering the reversibility of their symptoms supportive care can be more effective.

Acknowledgement

We want to thank the vice-chancellor for research and technology of Isfahan University of Medical Sciences for supporting and funding this project.

Ethical approval

All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional and/or national research committee and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards.

Informed consent

Informed consent was obtained from all individual participants included in the study.

References

1. Sadjadi A, Nouraie M, Mohagheghi MA et al. Cancer occurrence in Iran in 2002, an international perspective. Asian Pac J Cancer Prev 2005; 6(3): 359–363.
2. Cooper DS, Doherty GM, Haugen BR et al. Revised American Thyroid Association management guidelines for patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. Thyroid 2009; 19(11): 1167–1214. doi: 10.1089/thy.2009.0110.
3. Morris LG, Sikora AG, Tosteson TD et al. The increasing incidence of thyroid cancer: the influence of access to care. Thyroid 2013; 23(7): 885–891. doi: 10.1089/thy.2013.0045.
4. Chow SM, Law SC, Au SK et al. Differentiated thyroid carcinoma: comparison between papillary and follicular carcinoma in a single institute. Head Neck 2002; 24(7): 670–677.
5. Enyioha C, Roman SA, Sosa JA. Central lymph node dissection in patients with papillary thyroid cancer: a population level analysis of 14,257 cases. Am J Surg 2013; 205(6): 655–661.
6. Lee J, Yun MJ, Nam KH et al. Quality of life and effectiveness comparisons of thyroxine withdrawal, triiodothyronine withdrawal, and recombinant thyroid-stimulating hormone administration for low-dose radioiodine remnant ablation of differentiated thyroid carcinoma. Thyroid 2010; 20(2): 173–179. doi: 10.1089/thy.2009.0187.
7. Cohen O, Dabhi S, Karasik A et al. Compliance with follow-up and the informative value of diagnostic whole--body scan in patients with differentiated thyroid carcinoma given recombinant human TSH. Eur J Endocrinol 2004; 150(3): 285–290.
8. Tagay S, Herpertz S, Langkafel M et al. Health-related quality of life, anxiety and depression in thyroid cancer patients under short-term hypothyroidism and TSH-suppressive levothyroxine treatment. Eur J Endocrinol 2005; 153(6): 755–763.
9. Botella-Carretero JI, Gal JM, Caballero C et al. Quality of life and psychometric functionality in patients with differentiated thyroid carcinoma. Endocr Relat Cancer. Soc Endocrinology 2003; 10(4): 601–610.
10. Crevenna R, Zettinig G, Keilani M et al. Quality of life in patients with non-metastatic differentiated thyroid cancer under thyroxine supplementation therapy. Support Care Cancer 2003; 11(9): 597–603.
11. Trijsburg RW, Van Knippenberg FC, Rijpma SE. Effects of psychological treatment on cancer patients: a critical review. Psychosom Med 1992; 54(4): 489–517.
12. Newell SA, Sanson-Fisher RW, Savolainen NJ. Systematic review of psychological therapies for cancer patients: overview and recommendations for future research. J Natl Cancer Inst 2002; 94(8): 558–584.
13. Dagan T, Bedrin L, Horowitz Z et al. Quality of life of well-differentiated thyroid carcinoma patients. J Laryngol Otol 2004; 118(7): 537–542.
14. Dow KH, Ferrell BR, Anello C. Quality of life changes in patients with thyroid cancer after withdrawal of thyroid hormone therapy. Thyroid 1997; 7(4): 613–619.
15. Dow KH, Ferrell BR, Anello C. Balancing demands of cancer surveillance among survivors of thyroid cancer. Cancer Pract 1996; 5(5): 289–295.

16. Davis JD, Tremont G. Neuropsychiatric aspects of hypothyroidism and treatment reversibility. Minerva Endocrinol 2007; 32(1): 49–65.
17. Eustatia-Rutten CF, Corssmit EP, Pereira AM et al. Quality of life in longterm exogenous subclinical hyperthyroidism and the effects of restoration of euthyroidism, a randomized controlled trial. Clin Endocrinol (Oxf) 2006; 64(3): 284–291.
18. Dow KH, Lafferty P. Quality of life, survivorship, and psychosocial adjustment of young women with breast cancer after breast-conserving surgery and radiation therapy. Oncol Nurs Forum 2000; 27(10): 1555–1564.
19. The WHOQOL Group. The development of the World Health Organization quality of life assessment instrument (the WHOQOL). In: Orley J, Kuyken W (eds). Quality of life assessment: International perspectives. Heidelberg: Springer 1994: 41–57.
20. The WHOQOL Group. Development of the World Health Organization WHOQOL-BREF quality of life assessment. Psychol Med 1998; 28(3): 551–558.
21. Ghassemzadeh H, Mojtabai R, Karamghadiri N et al. Psychometric properties of a Persian-language version of the Beck Depression Inventory – second edition: BDI-II-PERSIAN. Depress Anxiety 2005; 21(4): 185–192.
22. Montazeri A, Vahdaninia M, Ebrahimi M et al. The Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS): translation and validation study of the Iranian version. Health Qual Life Outcomes 2003; 1(1): 14.
23. Schroeder PR, Haugen BR, Pacini F et al. A comparison of short-term changes in health-related quality of life in thyroid carcinoma patients undergoing diagnostic evaluation with recombinant human thyrotropin compared with thyroid hormone withdrawal. J Clin Endocrinol Metab 2006; 91(3): 878–884.
24. Pacini F, Ladenson PW, Schlumberger M et al. Radioiodine ablation of thyroid remnants after preparation with recombinant human thyrotropin in differentiated thyroid carcinoma: results of an international, randomized, controlled study. J Clin Endocrinol Metab 2006; 91(3): 926–932.
25. Lee JI, Kim SH, Tan AH et al. Decreased health-related quality of life in disease-free survivors of differentiated thyroid cancer in Korea. Heal Qual Life Outcomes 2010; 8: 101. doi: 10.1186/1477-7525-8-101.
26. Pacini F, Pinchera A. Serum and tissue thyroglobulin measurement: clinical applications in thyroid disease. Biochimie 1999; 81(5): 463–467.
27. Hoftijzer HC, Heemstra KA, Corssmit EP et al. Quality of life in cured patients with differentiated thyroid carcinoma. J Clin Endocrinol Metab 2008; 93(1): 200–203.
28. Duntas LH, Biondi B. Short-term hypothyroidism after Levothyroxine-withdrawal in patients with differentiated thyroid cancer: clinical and quality of life consequences. Eur J Endocrinol 2007; 156(1): 13–19.
29. Luster M, Felbinger R, Dietlein M et al. Thyroid hormone withdrawal in patients with differentiated thyroid carcinoma: a one hundred thirty-patient pilot survey on consequences of hypothyroidism and a pharmacoeconomic comparison to recombinant thyrotropin administration. Thyroid 2005; 15(10): 1147–1155.
30. Ladenson PW, Braverman LE, Mazzaferri EL et al. Comparison of administration of recombinant human thyrotropin with withdrawal of thyroid hormone for radioactive iodine scanning in patients with thyroid carcinoma. N Engl J Med 1997; 337(13): 888–896.
31. Meier CA, Braverman LE, Ebner SA et al. Diagnostic use of recombinant human thyrotropin in patients with thyroid carcinoma (phase I/II study). J Clin Endocrinol Metab 1994; 78(1): 188–196.
32. Baldini IM, Vita A, Mauri MC et al. Psychopathological and cognitive features in subclinical hypothyroidism. Prog Neuropsychopharmacology Biol Psychiatry 1997; 21(6): 925–935.
33. Monzanil F, Del Guerra P, Caracciol N et al. Subclinical hypothyroidism: neurobehavioral features and beneficial effect of L-thyroxine treatment. Clin Investig 1993; 71(5): 367–371.

Klinický a funkční význam vybraných polymorfizmů *CASP8* a *CASP9* u karcinomu prsu

Clinical and Functional Importance of Selected *CASP8* and *CASP9* Polymorphisms in Breast Carcinoma

Brynychová V.[1,2], Václavíková R.[1], Kubáčková K.[3], Mrhalová M.[4], Kodet R.[4], Rauš K.[5], Vrána D.[6], Gatěk J.[7], Bendová M.[8], Souček P.[1]

[1] Oddělení toxikogenomiky, Státní zdravotní ústav, Praha
[2] 3. lékařská fakulta UK v Praze
[3] Onkologická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha
[4] Ústav patologie a molekulární medicíny, 2. LF UK a FN Motol, Praha
[5] Ústav pro péči o matku a dítě, Praha
[6] Onkologická klinika LF UP a FN Olomouc
[7] Chirurgické oddělení, Nemocnice Atlas, Zlín
[8] Gynekologicko-porodnická klinika 3. LF UK a FN Královské Vinohrady, Praha

Souhrn

Východiska: Kaspázy 8 a 9 (kódované geny *CASP8* a *CASP9*) jsou hlavními iniciačními kaspázami programované buněčné smrti (apoptózy), jejíž deregulace může vést ke vzniku a progresi nádorového onemocnění i k lékové rezistenci pacientek. Cílem práce bylo ověřit, zda existuje vztah mezi výskytem polymorfizmů v *CASP8* a *CASP9* spojovaných s rizikem vzniku karcinomu prsu, hladinami transkriptu těchto genů (vč. hladin alternativních proti-apoptických variant) v nádorových tkáních karcinomu prsu a klinickým profilem pacientek. ***Materiál a metody:*** Polymorfizmy byly stanoveny metodami Sangerova sekvenování, pomocí high resolution melting analýzy (HRM) a alelické diskriminace ve vzorcích DNA nádorových tkání a krevních lymfocytů získaných od 60 pacientek. Hladiny celkového transkriptu CASP8, CASP9 a alternativních variant CASP8L a CASP9B byly stanoveny ve vzorcích nádorové tkáně pomocí kvantitativní PCR (polymerase chain reaction) v reálném čase. Klinicky zajímavé vztahy byly následně ověřeny na souboru vzorků DNA získaných z periferní krve od 615 pacientek. ***Výsledky:*** Výskyt haplotypu rs4645978-rs2020903-rs4646034 v *CASP9* významně asocioval s hladinou celkového transkriptu CASP9 v nádorech, expresí progesteronového receptoru, expresí ERBB2 a TNBC subtypem karcinomu prsu. Významné vztahy polymorfizmu rs3834129 v CASP8 se stadiem onemocnění, polymorfizmu rs6435074 s expresí estrogenního receptoru, ERBB2 expresí a s gradem nádorů, a polymorfizmu rs6723097 s expresí ERBB2 nebyly validační studií potvrzeny. Nicméně nosičky alely A v polymorfizmu rs6723097 v *CASP8* léčené hormonální terapií vykazovaly delší bezpříznakové přežívání než nosičky genotypu CC. ***Závěr:*** Současná studie odhalila dosud neznámý a potenciálně (*in silico*) funkční vztah haplotypu *CASP9*, složeného ze tří polymorfizmů typu SNP, k molekulárnímu i klinickému fenotypu karcinomu prsu. Tento vztah naznačuje, za předpokladu, že bude ověřen nezávislými studiemi, možné využití v prognostice onemocnění.

Klíčová slova

karcinom prsu – kaspázy – polymorfizmy – funkční – klinický – význam

Studie byla podpořena projektem GA Univerzity Karlovy v Praze, č. 1444313 a projektem AZV, č. 15-25618A.

This work was supported by grant of the CU Grant Agency No. 1444313, and grant of the Internal Grant Agency of the Czech Ministry of Health No. 15-25618A.

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 recommendation for biomedical papers.

Mgr. Veronika Brynychová
Oddělení toxikogenomiky
Státní zdravotní ústav
Šrobárova 48
100 42 Praha 10
e-mail: veronika.brynychova@szu.cz

Obdrženo/Submitted: 3. 3. 2016
Přijato/Accepted: 26. 10. 2016

http://dx.doi.org/10.14735/amko2016445

Summary

Background: Caspase-8 and caspase-9 (encoded by *CASP8* and *CASP9*) are executive caspases of programmed cell death (apoptosis). Dysregulation of apoptosis plays an important role in cancer development, progression, and resistance to anticancer therapy. The goal of this work was to evaluate potential associations between polymorphisms in *CASP8* and *CASP9*, previously linked to breast cancer risk, and the transcript levels of these genes (including their alternative anti-apoptotic variants) in tumor tissues and the clinical characteristics of the patients. ***Material and Methods:*** Sanger sequencing, high resolution melting (HRM) analysis, and allelic discrimination were used to identify polymorphisms in DNA samples isolated from tumor tissues and peripheral blood lymphocytes of 60 breast carcinoma patients. Total transcript levels of CASP8 and CASP9, and levels of alternative splicing variants CASP8L and CASP9B, were quantified by real-time PCR in tumor tissues. Clinically interesting associations were validated in DNA from lymphocytes of 615 breast carcinoma patients. ***Results:*** A haplotype in *CASP9* composed of three polymorphisms rs4645978-rs2020903-rs4646034 was significantly associated with CASP9 expression in tumors, with the expression of the progesterone receptor and ERBB2, and with the TNBC subtype of breast carcinoma in the validation study. The associations between the rs3834129 polymorphism in *CASP8* and stage of disease, rs6435074 with grade, expression of estrogen receptor and ERBB2, and rs6723097 with ERBB2 expression have not yet been validated. However, rs6723097 was associated with disease-free survival in patients treated with hormonal therapy. ***Conclusion:*** This study reveals a previously unknown and presumably functional (*in silico*) association between a haplotype in *CASP9* and molecular and clinical phenotypes of breast carcinoma. The potential clinical utility of this association for prognostication of breast carcinoma should be evaluated by independent studies.

Key words

breast carcinoma – caspases – polymorphisms – functional – clinical – importance

Úvod

Karcinom prsu (ICD-10, dg. C50) je po jiných zhoubných nádorech kůže nejčastěji diagnostikovaným nádorem u žen a nejčastější příčinou úmrtí žen na zhoubné onemocnění v ČR [1]. Dnes známe již řadu genů, jejichž alterace jsou spojeny s vyšším nebo středním rizikem vzniku karcinomu prsu (*BRCA1, BRCA2, CHEK2, AKT1, PTEN* a další). Navíc existují desítky polymorfizmů či oblastí genomu, které dle celogenomových asociačních studií (genome-wide association study – GWAS) obvykle mírně modifikují riziko vzniku karcinomu prsu [2]. Polymorfizmy v kódujících sekvencích mohou ovlivnit funkci proteinu (reparační, kontrolní funkce), alterace v nekódujících oblastech mohou měnit vazebná místa pro transkripční faktory, ovlivnit alternativní sestřih nebo stabilitu mRNA. Vliv těchto nekódujících polymorfizmů je zpravidla mnohem méně prostudován než v případě polymorfizmů nacházejících se v kódujících oblastech příslušných genů.

Kaspázy jsou intracelulární cysteinové proteázy uplatňující se v programované buněčné smrti (apoptóze), nekróze a zánětu. Kaspázy s převážně apoptickou funkcí jsou aktivační (iniciační) kaspázy 2, 8, 9, 10 a efektorové kaspázy 3, 6 a 7. Kaspázy 8 a 9 jsou hlavními iniciačními kaspázami vnější (CASP8) a vnitřní (CASP9) dráhy buněčné smrti. Kaspáza 8 je nejčastěji mutovanou kaspázou v nádorových buňkách různého typu [3,4] a některé její časté genetické alterace jsou přímo spojovány s rizikem vzniku nádorových onemocnění vč. nádorů prsu [5–10]. Mezi nejčastěji zmiňované alterace patří delece šesti nukleotidů v promotoru *CASP8* (652 6N del, dbSNP: rs3834129), jednonukleotidový polymorfizmus (single nucleotide polymorphism – SNP) v exonu 10 (D302H, rs1045485) a polymorfizmy rs6435074 a rs6723097 v intronech. Dva typy polymorfizmů v promotoru *CASP9*, rs4645978 a rs4645981, byly také popsány v souvislosti s rizikem vzniku karcinomu prsu [11] a dalších karcinomů [3]. Alterace 652 6N del způsobuje sníženou expresi CASP8 v lymfocytech porušením vazebného místa pro transkripční faktor Sp1 [12]. Vliv ostatních alterací na expresi kaspáz v nádorových buňkách není znám.

Alternativním sestřihem CASP8 a CASP9 vznikají, kromě majoritních pro-apoptických variant, varianty alternativní. CASP8L a CASP9B postrádají katalytickou (aktivační) podjednotku, nicméně obsahují vazebné domény DED (death inducing domain, CASP8) a CARD (caspase recruitment domain, CASP9). Pomocí těchto domén se mohou kaspázy vázat, ještě ve formě neaktivních enzymů (prokaspáz), mimo jiné do kaspázových komplexů DISC (death-inducing signaling complex, CASP8) či apoptozómu (CASP9), ve kterých dochází k jejich finálnímu štěpení a aktivaci. Alternativní varianty mohou blokovat vazebná místa v aktivačních komplexech a tím negativně regulovat buněčnou smrt [13–15]. Vliv polymorfizmů v *CASP8* a *CASP9* spojovaných s rizikem vzniku karcinomu prsu na alternativní sestřih těchto genů není zatím objasněn.

Cílem práce bylo zjistit, zda existuje souvislost mezi výskytem vybraných polymorfizmů v *CASP8* a *CASP9* a expresní hladinou těchto genů v nádorových tkáních karcinomu prsu, vč. jejich alternativních sestřihových variant. Studie rovněž zkoumala potenciální vztahy polymorfizmů ke klinickým údajům pacientek. Do studie byly zařazeny polymorfizmy rs1045485, rs3834129, rs6435074 a rs6723097 (*CASP8*), rs4645978 a rs4645981 (*CASP9*), a dále polymorfizmy vyskytující se v oblasti alternativního sestřihu *CASP9* (rs4646032, rs2020902, rs2020903, rs4646034, rs6685648, rs4661636, rs4646088-91) (schéma 1). V rámci pilotní studie byly polymorfizmy stanoveny jak ve vzorcích nádorové tkáně, tak i v párových kontrolních vzorcích periferní krve od stejných pacientek. Nalezené vztahy polymorfizmů ke klinickým údajům o onemocnění pacientek byly ověřeny následnou validační studií.

Soubor pacientů a metody

Soubor pacientů

Do pilotní studie bylo zahrnuto 60 pacientek diagnostikovaných ve FN Motol (Praha) během let 2003–2007, od kterých byl získán vzorek nádorové tkáně a vzo-

rek nesrážlivé krve. Validační studie zahrnovala 615 pacientek diagnostikovaných ve FN Motol, Ústavu pro matku a dítě, FN Královské Vinohrady (Praha) a nemocnici Atlas (Zlín), kterým byl odebrán vzorek nesrážlivé krve. Protokol odběru vzorků byl popsán již dříve [16,17]. Histologická klasifikace nádorů byla provedena dle Tavassoli et al [18]. Exprese estrogenního a progesteronového receptoru byla hodnocena jako pozitivní v případě 1% a vyšší exprese receptorů detekovaných imunohistochemicky. Exprese ERBB2 (v-erb-b2 avian erythroblastic leukemia viral oncogene homolog 2, OMIM: 164870) byla stanovena imunohistochemicky a v případě hodnocení skóre 2+ nebo 3+ potvrzena FISH (fluorescent *in situ* hybridisation) nebo SISH (silver *in situ* hybridization) analýzou. Pacientky byly pro účely statistických analýz rozděleny na prognosticky nejhorší subtyp TNBC (triple negative breast cancer, bez exprese estrogenního, progesteronového receptoru a ERBB2) a ostatní (tj. luminal A, luminal B a ERBB2-pozitivní dle [19]).

Všechny pacientky byly informovány o účelu studie a požádány o vyjádření souhlasu podpisem Informovaného souhlasu pacienta. Protokol studie a formulář Informovaného souhlasu pacienta byly schváleny Etickou komisí Státního zdravotního ústavu v Praze.

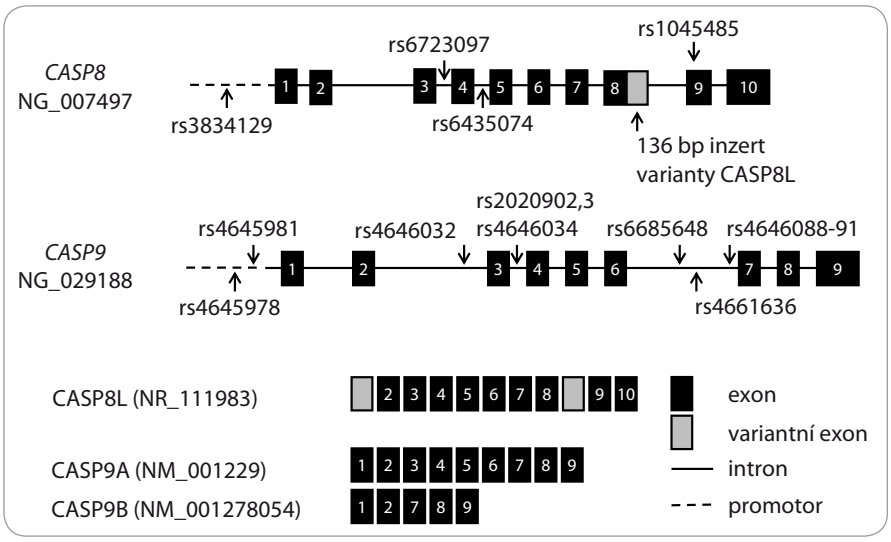


Schéma 1. Schéma studovaných polymorfizmů a alternativních transkripčních variant genů *CASP8* a *CASP9*.

Tab. 1. Seznam a distribuce všech polymorfizmů analyzovaných v rámci studie.

Gen	dbSNP ID	HGVS	Referenční MAF	Referenční populace	MAF nádorová tkáň n = 60	MAF periferní krev n = 60
CASP8	rs3834129	NG_007497.1:g.4352_4357 delAGTAAG	0,45 (insAGTAAG)	EGP_CEPH--PANEL	0,54	0,54
	rs1045485	NG_007497.1:g.56409G>C	0,13 (C)	HapMap-CEU	0,13	0,13
	rs6435074	NG_007497.1:g.34767A>C	0,37 (A)	pilot_1_CEU	0,18	0,18
	rs6723097	NG_007497.1:g.35438A>C	0,41 (A)	HapMap-CEU	0,33	0,33
CASP9	rs4645978	NG_029188.1:g.4252G>A	0,47 (A)	pilot_1_CEU	0,51	0,51
	rs4645981	NG_029188.1:g.4803C>T	0,04 (T)	1000 Genomes	0,00	0,00
	rs4646032	NG_029188.1:g.21795C>T	0,48 (T)	pilot_1_CEU	0,49	0,49
	rs2020902	NG_029188.1:g.21926T>C	0,21 (C)	HapMap-CEU	0,14	0,14
	rs2020903	NG_029188.1:g.21989C>T	0,48 (T)	pilot_1_CEU	0,49	0,49
	rs4646034	NG_029188.1:g.22126A>G	0,48 (G)	pilot_1_CEU	0,51	0,51
	rs4661636	NG_029188.1:g.33225G>A	0,40 (A)	HapMap-CEU	0,37	0,37
	rs6685648	NG_029188.1:g.31091A>G	0,24 (G)	HapMap-CEU	0,26	0,26
	rs4646088	NG_029188.1:g.34168C>T	0,04 (T)	1000 Genomes	0,02	0,02
	rs4646089	NG_029188.1:g.34169G>A	0,05 (A)	1000 Genomes	0,00	0,00
	rs4646090	NG_029188.1:g.34213T>C	0,19 (C)	pilot_1_CEU	0,28	0,28
	rs4646091	NG_029188.1:g.34243A>G	0,27 (G)	HapMap-CEU	0,23	0,23

MAF – minor allele frequency, dbSNP ID – identifikační číslo v databázi jednonukleotidových polymorfizmů (www.ncbi.nlm.nih.gov/snp)

Tab. 2. Klinické charakteristiky pacientek zařazených do pilotní (n = 60) a ověřovací studie (n = 615).

Charakteristika	Pilotní soubor n (%)	Validační soubor n (%)
Věkový průměr při diagnóze, roky ± standardní odchylka	62,9 ± 10,6	58,1 ± 12,0
Menopauzální status		
premenopauzální	5 (8,3)	89 (14,5)
postmenopauzální	55 (91,7)	272 (44,2)
neznámý	0	254 (41,3)
Histologický typ		
invazivní duktální	53 (88,3)	479 (77,9)
jiný typ[1]	7 (11,7)	131 (21,3)
neznámý	0	5 (0,8)
Stadium		
0	0	44 (7,2)
I	17 (28,3)	255 (41,5)
II	30 (50,0)	326 (36,7)
III	10 (16,7)	57 (9,2)
IV	1 (1,7)	1 (0,2)
neznámé	2 (3,3)	32 (5,2)
Postižení spádových mízních uzlin metastatickým rozsevem		
pozitivní (pN1–3)	28 (46,7)	201 (32,7)
negativní (pN0)	30 (50,0)	382 (62,1)
pNx	2 (3,3)	32 (5,2)
Grade		
1	10 (16,7)	140 (22,8)
2	36 (60,0)	301 (48,9)
3	11 (18,3)	151 (24,6)
Gx	3 (5,0)	23 (3,7)

Charakteristika	Pilotní soubor n (%)	Validační soubor n (%)
Exprese estrogenního receptoru		
pozitivní	38 (63,3)	474 (77,1)
negativní	22 (36,7)	136 (22,1)
neznámá	0	5 (0,8)
Exprese progesteronového receptoru		
pozitivní	35 (58,3)	444 (72,2)
negativní	25 (41,7)	166 (27,0)
neznámá	0	5 (0,8)
ERBB2 status		
pozitivní	18 (30,0)	136 (22,1)
negativní	42 (70,0)	466 (75,8)
neznámý	0	13 (2,1)
Subtyp		
luminální typ (ER+ nebo PR+)	39 (65,0)	493 (80,1)
ERBB2 typ (ERBB2+, ER–, PR–)	10 (16,7)	44 (7,2)
triple negativní (ER–, PR–, ERBB2–)	11 (18,3)	69 (11,2)
neznámý	0	9 (1,5)
Typ terapie		
chemoterapie nebo kombinace	nehodnoceno	306 (49,8)
chemoterapie a hormonální terapie		
hormonální terapie		226 (36,7)
neznámá		83 (13,5)

[1] Ostatní histologické typy zahrnují nádory invazivní lobulární (3/70), duktální *in situ* (0/19), tubulární (0/10), mucinózní (2/9), medulární (0/8), papilární (1/5), metaplastický (0/3), neuroendokrinní (0/1), sekretorický (0/1), komedo (1/0) a smíšené formy (0/5)

Izolace DNA z nádorových tkání a periferní krve

DNA byla izolována z tkání nádoru prsu pomocí AllPrep® DNA/RNA/Protein Mini Kitu (Qiagen, Hildesheim, Germany). DNA ze vzorků lymfocytů periferní krve byla izolována metodou fenol-chloroformové extrakce [20]. Koncentrace DNA byly kvantifikovány pomocí Quant-iT PicoGreen DNA Assay Kitu (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA).

Izolace RNA z nádorových tkání a příprava cDNA

Celková RNA byla izolována z čerstvě zamražených nádorových tkání pomocí Trizol Reagent (Invitrogen) a kvantifikována kitem Quant-iT RiboGreen RNA Assay Kit (Invitrogen) pomocí Infinite M200 multiplate reader (Tecan Group Ltd, Männedorf, Switzerland). Integrita RNA byla ověřena na přístroji Agilent 2100 Bioanalyzer a pomocí kitu Agilent RNA 6000 Nano Assay Kit (Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, CA, USA) a následně přepsána do cDNA pomocí random hexamer primerů [17].

Stanovení polymorfizmů

Celkem bylo analyzováno 16 polymorfizmů s MAF (minor allele frequency) > > 1 % (tab. 1) pomocí Sangerova sekvenování (rs4645981, rs4645978, rs4646032, rs2020902, rs2020903, rs4646034, rs4646088-91), HRM analýzy (high resolution melting analysis) (rs3834129, rs4661636 a rs6685648) nebo alelické diskriminace s využitím TaqMan sond (C___8823877_20 pro rs1045485, C__26112773_10 pro rs6435074, C__28993492_10 pro rs6723097, Invitrogen). Ke stanovení genotypu rs2020903 ve validační studii byla použita také TaqMan sonda (C___2845923_10). Sekvence primerů a podmínky všech stanovení jsou k dispozici na vyžádání. PCR produkty sekvenačních reakcí byly zkontrolovány na 1% agarózovém gelu a dále amplifikovány pomocí BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kitu podle protokolu výrobce (Life Technologies, Carlsbad, CA, USA). Sekvence byly analyzovány pomocí sekvenátoru ABI3100 a softwaru Sequencing Analysis Software v5.2 (Life Technologies). Pro HRM analýzu byl využit Type-It HRM PCR kit (Qiagen) a systém RotorGene 6000 (Corbett Reseach, Sydney, Australia). ViiA7 Real-Time PCR Systém (Life Technologies) byl použit pro alelickou diskriminaci s TaqMan sondami. Opakovaně analyzováno bylo 10 % náhodně vybraných vzorků, přičemž výsledky se 100% shodovaly.

Kvantitativní real-time PCR

Pro stanovení hladin celkového transkriptu CASP8 a CASP9 a specifickou detekci proapoptické varianty CASP9A a alternativních variant CASP9B a CASP8L byla využita PCR kvantifikace v reálném čase (qPCR) na ViiA7 Real-Time PCR Systému (Life Technologies) a komerčně dostupné (CASP8 Hs01018151_m1, CASP9 Hs00154260_m1, CASP9A Hs00154261_m1) či uživatelsky navržené (CASP9B dle [21], CASP8L „in-house") TaqMan sondy. Transkripty genů *EIF2B1 (eukaryotic translation initiation factor 2B, subunit 1)*, *MRPL19 (mitochondrial ribosomal protein L19)* a *IPO8 (importin 8)* byly použity pro normalizaci transkripčních hladin dle předchozí studie [17]. Sekvence primerů a sond vč. podmínek všech qPCR reakcí jsou k dispozici na vyžádání. Účinnost všech TaqMan esejí byla mezi 90 a 100 %. Vzorky byly amplifikovány jako duplikáty a při rozdílu mezi duplikáty větším než 0,5 cyklu byly vzorky opakovaně analyzovány. Negativní PCR kontroly a negativní kontroly cDNA syntézy byly zahrnuty v protokolech pro kontrolu potenciální kontaminace.

Tab. 3. Statisticky významné vztahy polymorfizmů k transkripčním hladinám CASP9 v nádorových tkáních (n = 60).

Gen, dbSNP ID	Genotyp	n	CASP9	CASP9A
CASP9, rs4645978	GG GA nebo AA	12 48	1,07 ± 0,02 1,05 ± 0,02 p = 0,017[1]	
CASP9, rs4646032	CC CT nebo TT	14 46	1,07 ± 0,02 1,05 ± 0,02 p = 0,018[1]	1,07 ± 0,02 1,05 ± 0,02 p = 0,034
CASP9, rs2020903	CC CT nebo TT	12 48	1,07 ± 0,02 1,05 ± 0,02 p = 0,017[1]	
CASP9, rs4646034	AA AG nebo GG	12 48	1,07 ± 0,02 1,05 ± 0,02 p = 0,017[1]	
CASP9, rs4661636	GG GA nebo AA	24 36	1,05 ± 0,02 1,06 ± 0,02 p = 0,028[1]	

P hodnoty byly vypočteny pomocí Mann-Whitney U testu. Expresní hladiny, vyjádřené Cq hodnotou, jsou vztaženy na průměrnou hladinu tří referenčních genů (viz Soubor pacientů a metody), tudíž čím menší je daný poměr, tím větší je expresní hladina sledovaného transkriptu.

[1] Výsledky, které byly potvrzeny FDR korekcí Benjamini-Hochberga (q = 0,029)

CASP9 haplotyp je orámován modře.

Statistická analýza

Vztahy transkripčních hladin *CASP8* a *CASP9* k polymorfizmům byly analyzovány pomocí Mann-Whitney testu. Pro analýzy byly použity hodnoty poměru Cq (quantification cycle, odpovídá cyklu, ve kterém došlo k významnému nárůstu fluorescenčního signálu v dané reakci) testovaných genů k průměru tří referenčních genů. Vztahy polymorfizmů s klinickými údaji byly v pilotní studii analyzovány pomocí Kruskal-Wallisova testu a Pearsonova chi-kvadrát testu. K vyjádření vztahů polymorfizmů ke sledovaným parametrům ve validační studii byl použit odhad relativního rizika (odds ratio – OR, Mantel-Haenszel common odds ratio estimate) s 95% CI v kodominantním, dominantním a recesivním genetickém modelu. Potenciální funkční význam validovaných polymorfizmů byl predikován *in silico* pomocí HaploReg v4 [22].

Pro určení vztahu vybraných polymorfizmů s bezpříznakovým přežíváním pacientek byl použit Kaplan-Meierův plot a Log Rank test jak v celém souboru pacientek, tak v podskupinách rozdělených dle typu terapie. Medián doby sledování pacientek byl 46,5 měsíce.

Za významné byly považovány $p < 0,05$ v rámci oboustranných testů. Pro statické analýzy byl využit statistický software SPSS v16.0 (SPSS Inc., Chicago, IL). Korekce statistické chyby typu I dle Benjamini-Hochberga (false discovery rate – FDR) byla použita na všechny analýzy kromě analýz přežívání [23].

Výsledky

Pilotní analýza polymorfizmů *CASP8* a *CASP9* v nádorové a kontrolní DNA

Vybrané polymorfizmy v *CASP8* a *CASP9* byly stanovené v nádorové a kont-

Tab. 4. Významné vztahy polymorfizmů v *CASP8* a *CASP9* ke klinickým charakteristikám pacientek nalezené v pilotní studii (n = 60).

Charakteristika	Gen, polymorfizmus Genotyp[1]			p
	***CASP9*, rs4645978**			
Exprese ER	GG	GA	AA	0,008[2]
pozitivní	3	26	9	
negativní	9	9	4	
Exprese PR	GG	GA	AA	
pozitivní	3	23	9	0,032
negativní	9	12	4	
	***CASP9*, rs4646032**			
Exprese ER	CC	CT	TT	0,049
pozitivní	5	24	9	
negativní	9	9	4	
	***CASP9*, rs2020903**			
Exprese ER	CC	CT	TT	0,008[2]
pozitivní	3	26	9	
negativní	9	9	4	
Exprese PR	CC	CT	TT	
pozitivní	3	23	9	0,032
negativní	9	12	4	
	***CASP9*, rs4646034**			
Exprese ER	AA	AG	GG	0,008[2]
pozitivní	3	26	9	
negativní	9	9	4	
Exprese PR	AA	AG	GG	
pozitivní	3	23	9	0,032
negativní	9	12	4	

Charakteristika	Gen, polymorfizmus Genotyp[1]			p
	***CASP9*, rs4661636**			
Exprese ER	GG	GA	AA	0,039
pozitivní	18	18	2	
negativní	6	10	6	
	***CASP8*, rs3834129**			
Stadium	–/–	–/AGTAAG	AGTAAG/ /AGTAAG	0,006[2]
I a II	13	15	19	
III	2	9	0	
	***CASP8*, rs6435074**			
Grade	CC	CA	AA	0,002[2]
1 a 2	36	9	1	
3	3	8	0	
	***CASP8*, rs6435074**			
Exprese ER	CC	CA	AA	0,027
pozitivní	29	7	2	
negativní	11	11	0	
	***CASP8*, rs6435074**			
Exprese ERBB2	CC	CA	AA	0,001[2]
pozitivní	6	10	2	
negativní	34	8	0	
	***CASP8*, rs6723097**			
Exprese ERBB2	CC	CA	AA	0,003[2]
pozitivní	4	8	6	
negativní	25	15	2	

P hodnoty byly vypočteny pomocí Pearsonova chi-kvadrát testu.

ER – estrogenní receptor, PR – progesteronový receptor

[1] Počet pacientek ve srovnávaných skupinách

[2] Výsledky, které byly potvrzeny FDR korekcí Benjamini-Hochberga (q = 0,029)

CASP9 haplotyp je orámován modře.

rolní (lymfocytární) DNA získané od 60 pacientek (tab. 2). Rozdíly ve frekvenci alel ani v rozdělení jednotlivých genotypů mezi nádorovou a kontrolní DNA nebyly zjištěny (tab. 1).

Nalezené polymorfizmy s frekvencí MAF nad 10 % byly vztaženy k míře exprese transkriptů CASP8, CASP9, CASP8L, CASP9A a CASP9B. U nosiček homozygotních genotypů CC pro polymorfizmus rs4646032, CC pro rs2020903, AA pro rs4646034 a GG pro rs4645978 v genu *CASP9* byly nalezeny významně nižší exprese transkriptu CASP9 v nádorové tkáni ve srovnání s nosičkami alternativních genotypů. Genotyp GG polymorfizmu rs4661636 v *CASP9* byl naopak spojen s vyššími nádorovými hladinami transkriptu CASP9 oproti nosičkám genotypů CG a CC (tab. 3). Významné vztahy polymorfizmů v *CASP8* k hladinám celkového transkriptu CASP8 a k sestřihové variantě CASP8L nalezeny nebyly. Genotypy tří polymorfizmů (rs645978,

rs2020903 a rs4646034) měly ve sledovaném souboru shodnou distribuci, a vytvářely tedy haplotyp.

Dále byly vybrané polymorfizmy porovnány s klinickými údaji pacientek. Všechny významné výsledky jsou shrnuty v tab. 4. Mezi nejvýznamnější výsledky pilotní studie patří odhalení vztahu haplotypu *CASP9* rs4645978-rs2020903-rs4646034 k expresi estrogenního a progesteronového receptoru v nádorech, vztah polymorfizmu rs3834129 v *CASP8* ke stadiu onemocnění, polymorfizmu rs6435074 k expresi estrogenního receptoru, ERBB2 a ke gradu nádoru a polymorfizmu rs6723097 v *CASP8* k expresi ERBB2.

Validační analýza polymorfizmů CASP8 a CASP9 v kontrolní DNA

Výše popsané vztahy haplotypu *CASP9* rs4645978-rs2020903-rs4646034 a polymorfizmů *CASP8* rs3834129, rs6435074 a rs6723097 ke klinickým údajům pacientek byly dále validovány ve vzorcích DNA periferních krevních lymfocytů získaných od 615 pacientek s karcinomem prsu (tab. 2).

Ve validační studii byly nalezeny vztahy haplotypu *CASP9* (dále reprezentovaný polymorfizmem rs2020903) k expresi ERBB2, postižení spádových mízních uzlin metastatickým rozsevem a k výskytu subtypu TNBC, které v pilotní studii pozorovány nebyly (tab. 5). Vztah polymorfizmu rs2020903 v *CASP9* k expresi estrogenního receptoru sice nebyl potvrzen, avšak významně vyšší frekvence alely C tohoto polymorfizmu u pacientek s nádory, které neexprimují progesteronový receptor, byla patrná ve všech testovaných genetických modelech (tab. 5).

Žádný z dříve nalezených vztahů polymorfizmů *CASP8* ke klinickým údajům se ve validační studii nepodařilo ověřit. Analýza přežívání však ukázala, že pacientky léčené hormonální terapií, které mají alelu A v polymorfizmu rs6723097 *CASP8,* vykazují delší bezpříznakové přežívání než nosičky genotypu CC (p = 0,009, Log Rank test) (graf 1).

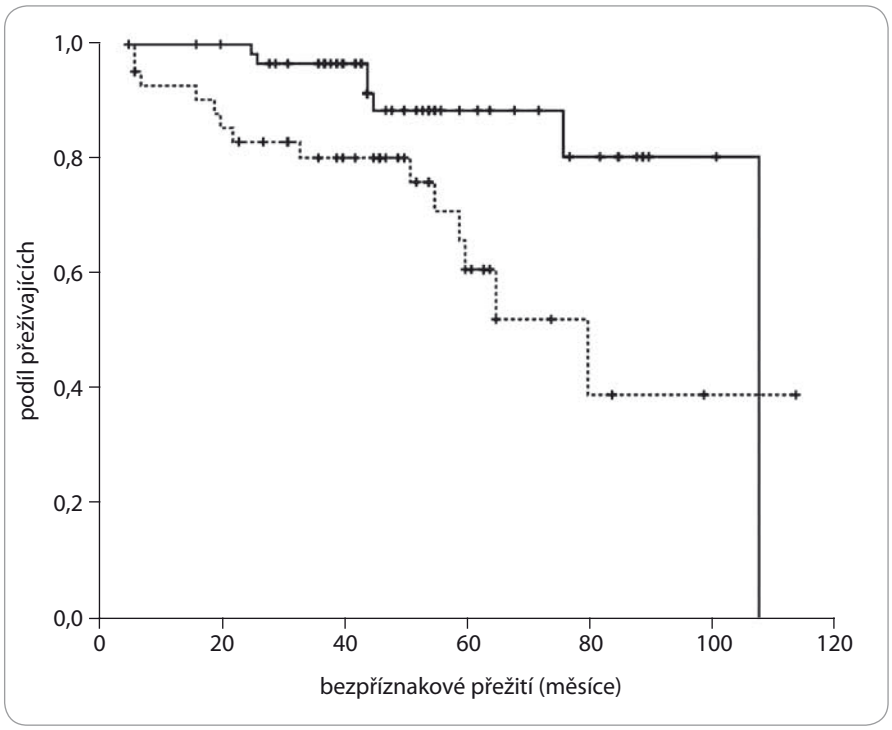
Tab. 5. Významné vztahy haplotypu rs4645978-rs2020903-rs4646034 v *CASP9* (reprezentovaný rs2020903) ke klinickým charakteristikám pacientek (n = 615).

Polymorfizmus Genotyp	Charakteristika[1]				
rs2020903	**postižení spádových mízních uzlin**		**OR**	**95% CI**	**p**
	pN0	pN1–3			
TT	74	39	reference	reference	reference
TC	175	111	0,83	0,53–1,31	0,425
CC	134	52	1,36	0,82–2,25	0,233
C alela	309	163	0,99	0,65–1,54	0,997
T alela[2]	249	150	**0,64**	**0,44–0,94**	**0,023**
rs2020903	**Exprese PR**				
	negativní	pozitivní			
TT	45	77	reference	reference	reference
TC	81	217	**0,64**	**0,41–0,99**	**0,050**
CC	41	152	**0,46**	**0,28–0,74**	**0,003[3]**
C alela	122	369	**0,57**	**0,37–0,86**	**0,008**
T alela[2]	126	294	**1,59**	**1,06–2,37**	**0,024**
rs2020903	**Exprese ERBB2**				
	negativní	pozitivní			
TT	89	32	reference	reference	reference
TC	220	72	1,10	0,68–1,78	0,703
CC	160	32	**1,80**	**1,03–3,12**	**0,038**
C alela	380	104	1,31	0,83–2,08	0,243
T alela[2]	309	104	**0,59**	**0,38–0,92**	**0,020**
rs2020903	**Subtyp**				
	TNBC	jiný			
TT	20	101	reference	reference	reference
TC	28	268	**1,89**	**1,02–3,52**	**0,043**
CC	21	173	1,63	0,84–3,15	0,146
C alela	49	441	**1,78**	**1,05–3,13**	**0,044**
T alela[2]	48	369	0,93	0,54–1,61	0,803

OR – odhad relativního rizika, PR – progesteronový receptor
[1] Počet pacientek v porovnávaných skupinách
[2] CC referenční genotyp
[3] Výsledky, které byly potvrzeny FDR korekcí Benjamini-Hochberga (q = 0,003)
Významné výsledky jsou vyznačeny tučným písmem. Validované výsledky jsou orámovány modře.

Diskuze

Apoptóza je hlavním mechanizmem programované buněčné smrti a její změny mohou vést ke vzniku nádorového onemocnění, jeho progresi i k rezistenci nádorů na podanou terapii. Tato práce měla za úkol prostudovat genetické polymorfizmy genů kódujících dvě hlavní kaspázy iniciující apoptózu na základě stimulů různého typu. Sledované polymorfizmy byly opakovaně publikovány v souvislosti s rizikem vzniku karcinomu prsu. Cílem práce nebylo hodnotit význam těchto polymorfizmů z hlediska



Graf 1. Pacientky léčené hormonální terapií (bez chemoterapeutického režimu), které měly genotyp AA nebo AC v polymorfizmu rs6723097 *CASP8* (n = 69, plná čára) vykazovaly delší bezpříznakové přežívání než nosičky CC genotypu (n = 57, přerušovaná čára) (p = 0,009, Log rank test).

rizika vzniku karcinomu, ale ověřit, zda tyto polymorfizmy souvisejí s expresí genů v nádorové tkáni karcinomu, tzn. s molekulárním fenotypem, a definovat jejich možný klinický význam.

Zjistili jsme, že výskyt haplotypu složeného ze tří polymorfizmů rs4645978-rs2020903-rs4646034 ležících v oblasti promotoru (rs4645978) a intronu 3 (rs2020903 a rs4646034 ve vzdálenosti 71 a 208 bp od místa sestřihu, schéma 1) *CASP9* je významně spojen s hladinou transkriptu CASP9 v nádorech, ale dále i s řadou prognosticky významných klinických parametrů (exprese progesteronového receptoru, ERBB2 a TNBC subtyp).

Alela G polymorfizmu rs4645978 byla častěji zastoupena u pacientů s nádory prsu v porovnání se zdravými kontrolami [11], ačkoli v jiných studiích se tento trend neprojevil [8,9]. V této práci byl genotyp GG-CC-AA haplotypu rs4645978-rs2020903-rs4646034 spojen s nižšími hladinami CASP9 a s absencí exprese progesteronového receptoru v nádorech. *In silico* analýza (HaploReg v4) navíc ukázala, že rs2020903 mění motiv pro vazbu transkripčních faktorů GATA a Nanog, které byly již dříve diskutovány v souvislosti se vznikem a progresí karcinomu prsu [24,25]. Tato data ukazují na možný klinický význam haplotypu rs4645978-rs2020903-rs4646034 v procesu vzniku a progrese karcinomu prsu, který by měl být ověřen odpovídající funkční studií.

Kaspáza 8 se spolu s kaspázou 10 uplatňuje především ve vnější dráze buněčné smrti iniciované vazbou ligandů smrti na receptory smrti (např. Fas/FasL, TNFR/TNF). Žádný ze čtyř vybraných polymorfizmů *CASP8* v této studii nebyl významně spojen s expresí transkriptu CASP8 ani s expresí alternativní varianty CASP8L v nádorových tkáních karcinomu prsu. Ze studovaných polymorfizmů např. výskyt D302H (rs1045485) dříve nebyl spojen s expresí CASP8 v nádorových buňkách neuroblastomu [26], což nepřímo podporuje naše výsledky. V práci Sun et al 2007 [11] pozorovali snížení exprese kaspázy 8 v buňkách lymfocytů u nosiček delece v promotoru *CASP8* (652 6N, rs3834129). V nedávno publikovaných pracích [27,28] byl nalezen vztah lokusu zahrnujícího geny *CASP8* a *ALS2CR12* (v oblasti 2q33) k riziku vzniku karcinomu prsu a bazocelulárního karcinomu. Zároveň variabilita v tomto lokusu významně souvisela s expresí alternativních variant CASP8, CASP8E a CASP8L v lymfocytech a vzorcích tukové tkáně [28]. V současné studii však byly detekovány velmi nízké hladiny CASP8L v tkáňových vzorcích karcinomu prsu ve srovnání s hlavním transkriptem, což nenaznačuje významnou biologickou funkci této varianty v progresi karcinomu prsu.

Polymorfizmus rs6723097 v *CASP8* významně koreloval s bezpříznakovým přežíváním pacientek léčených hormonální terapií. Vztah fenotypu či genotypu CASP8 k účinnosti hormonální terapie karcinomu prsu byl zatím studován velmi omezeně [29], a měl by proto být následně ověřen nezávislou studií.

Závěr

Současná studie odhalila dosud neznámý, potenciálně (*in silico*) funkční vztah haplotypu CASP9, složeného ze tří polymorfizmů typu SNP, k molekulárnímu (expresi hlavního transkriptu) i klinickému (prognostické faktory) fenotypu karcinomu prsu. Tento vztah naznačuje, za předpokladu, že bude ověřen nezávislými studiemi na větších skupinách pacientek, možné využití v prognostice onemocnění.

Literatura

1. Svod.cz [internetová stránka]. Český národní webový portál epidemiologie nádorů. Masarykova univerzita, Česká republika; [aktualizováno 6. prosince 2015; citováno 1. února 2016]. Dostupný z: www.svod.cz.
2. Michailidou K, Hall P, Gonzalez-Neira A et al. Large-scale genotyping identifies 41 new loci associated with breast cancer risk. Nature Genetics 2013; 45(4): 353–361. doi: 10.1038/ng.2563.
3. Ghavami S, Hashemi M, Ande SR et al. Apoptosis and cancer: mutations within caspase genes. J Med Genet 2009; 46(8): 497–510. doi: 10.1136/jmg.2009.066944.
4. Stephens PJ, Tarpey PS, Davies H et al. The landscape of cancer genes and mutational processes in breast cancer. Nature 2012; 486(7403): 400–404. doi: 10.1038/nature11017.
5. Cox A, Dunning AM, Garcia-Closas M et al. A common coding variant in CASP8 is associated with breast cancer risk. Nature Genetics 2007; 39(3): 352–358.
6. Shephard ND, Abo R, Rigas SH et al. A breast cancer risk haplotype in the caspase-8 gene. Cancer Research 2009; 69(7): 2724–2728. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-4266.
7. Sergentanis TN, Economopoulos KP. Association of two CASP8 polymorphisms with breast cancer risk: a meta-analysis. Breast Cancer Res Treat 2010; 120(1): 229–234. doi: 10.1007/s10549-009-0471-5.

8. Turnbull C, Ahmed S, Morrison J et al. Genome-wide association study identifies five new breast cancer susceptibility loci. Nature Genetics 2010; 42(6): 504–507. doi: 10.1038/ng.586.
9. Zhang B, Beeghly-Fadiel A, Long J et al. Genetic variants associated with breast-cancer risk: comprehensive research synopsis, meta-analysis, and epidemiological evidence. Lancet Oncol 2011; 12(5): 477–488. doi: 10.1016/S1470-2045(11)70076-6.
10. Camp NJ, Parry M, Knight S et al. Fine-mapping CASP8 risk variants in breast cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2012; 21(1): 176–181. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-11-0845.
11. Sun T, Gao Y, Tan W et al. A six-nucleotide insertion-deletion polymorphism in the CASP8 promoter is associated with susceptibility to multiple cancers. Nat Genet 2007; 39(5): 605–613.
12. Horiuchi T, Himeji D, Tsukamoto H et al. Dominant expression of a novel splice variant of caspase-8 in human peripheral blood lymphocytes. Biochem Biophys Res Commun 2000; 272(3): 877–881.
13. Himeji D, Horiuchi T, Tsukamoto H et al. Characterization of caspase-8L: a novel isoform of caspase-8 that behaves as an inhibitor of the caspase cascade. Blood 2002; 99(11): 4070–4078.
14. Theodoropoulos GE, Michalopoulos NV, Pantou MP et al. Caspase 9 promoter polymorphisms confer increased susceptibility to breast cancer. Cancer Genetics 2012; 205(10): 508–512. doi: 10.1016/j.cancergen.2012.08.001.
15. Srinivasula SM, Ahmad M, Guo Y et al. Identification of an endogenous dominant-negative short isoform of caspase-9 that can regulate apoptosis. Cancer Research 1999; 59(5): 999–1002.
16. Hubackova M, Vaclavikova R, Ehrlichova M et al. Association of superoxide dismutases and NAD (P) H quinone oxidoreductases with prognosis of patients with breast carcinomas. Int J Cancer 2012; 130(2): 338–348. doi: 10.1002/ijc.26006.
17. Brynychová V, Hlaváč V, Ehrlichová M et al. Importance of transcript levels of caspase-2 isoforms S and L for breast carcinoma progression. Future Oncol 2013; 9(3): 427–438. doi: 10.2217/fon.12.200.
18. Tavassoli FA, Devilee P eds. Pathology & genetics: tumours of the breast and female genital organs. Vol. 4. Lyon: IARC 2003.
19. Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS et al. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. Ann Oncol 2013; 24(9): 2206–2223. doi: 10.1093/annonc/mdt303.
20. Topić E, Gluhak J. Isolation of restrictible DNA. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1991; 29(5): 327–330.
21. Vu NT, Park MA, Shultz JC et al. hnRNP U enhances caspase-9 splicing and is modulated by AKT-dependent phosphorylation of hnRNPL. J Biol Chem 2013; 288(12): 8575–8584. doi: 10.1074/jbc.M112.443333.
22. Ward LD, Kellis M. HaploReg: a resource for exploring chromatin states, conservation, and regulatory motif alterations within sets of genetically linked variants. Nucleic Acid Research 2012; 40: D930–D934. doi: 10.1093/nar/gkr917.
23. Benjamini Y, Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. J R Statist Soc B 1995; 57(1): 289–300.
24. Kouros-Mehr H, Slorach EM, Sternlicht MD et al. GATA-3 maintains the differentiation of the luminal cell fate in the mammary gland. Cell 2006; 127(5): 1041–1055.
25. Wang D, Lu P, Zhang H et al. Oct-4 and Nanog promote the epithelial-mesenchymal transition of breast cancer stem cells and are associated with poor prognosis in breast cancer patients. Oncotarget 2014; 5(21): 10803–10815.
26. Rihani A, De Wilde B, Zeka F et al. CASP8 SNP D302H (rs1045485) is associated with worse survival in MYCN-amplified neuroblastoma patients. PLoS One 2014; 9(12): e114696. doi: 10.1371/journal.pone.0114696.
27. Lin WY, Camp NJ, Ghoussaini M et al. Identification and characterization of novel associations in the CASP8/ALS2CR12 region on chromosome 2 with breast cancer risk. Hum Mol Genet 2015; 24(1): 285–298. doi: 10.1093/hmg/ddu431.
28. Stacey SN, Helgason H, Gudjonsson SA et al. New basal cell carcinoma susceptibility loci. Nat Commun 2015; 6: 6825. doi: 10.1038/ncomms7825.
29. Nehra R, Riggins RB, Shajahan AN et al. BCL2 and CASP8 regulation by NF-κB differentially affect mitochondrial function and cell fate in antiestrogen-sensitive and-resistant breast cancer cells. FASEB J 2010; 24(6): 2040–2055. doi: 10.1096/fj.09-138305.

Pacientka s primárním intraventrikulárním gliosarkomem s dlouhodobým přežíváním – kazuistika

A Patient with Primary Intraventricular Gliosarcoma and Long-term Survival – a Case Report

Kalita O.[1], Zlevorová M.[2], Megová M.[3], Vaverka M.[1], Trojanec R.[3], Tučková L.[4]

[1] Neurochirurgická klinika LF UP a FN Olomouc
[2] Onkologická klinika LF UP a FN Olomouc
[3] Laboratoř experimentální medicíny, Ústav molekulární a translační medicíny, LF UP a FN Olomouc
[4] Laboratoř molekulární patologie, Oddělení patologie, LF UP a FN Olomouc

Souhrn

Východiska: Gliosarkom je vzácný maligní nádor CNS s velmi špatnou prognózou. Gliosarkom je variantou glioblastomu multiforme charakterizovaný přítomností jak gliální, tak mezenchymální komponenty. Léčebná strategie u gliosarkomů není dosud jednoznačně stanovena. ***Pozorování:*** Naše kazuistika prezentuje 23letou pacientku, která byla vyšetřována pro narůstající bolesti hlavy, nauzeu, zvracení a diskrétní motorické oslabení levé paže. MRI mozku odhalilo nádor vyplňující přední část pravé postranní komory s extenzí do pravého čelního laloku. Byla provedena exstirpace nádoru. Histologický nález odhalil gliosarkom. Následně absolvovala konkomitantní chemoradioterapii s temozolomidem ve Stuppově režimu. Po čtvrtém cyklu pokračovací chemoterapie temozolomid solo byla osm měsíců od diagnózy na MRI nalezena progrese rezidua nádoru. Pacientka podstoupila druhou operaci a poté absolvovala 10 cyklů 2. linie chemoterapie v režimu ICE (ifosfamid, karboplatina, etoposid). Pacientka zvládla onkologickou léčbu s minimální toxicitou a na kontrolních MRI došlo prakticky k vymizení reziduálního nádoru. Na kontrolním MRI, 28 měsíců od diagnózy, došlo opětovně k progresi rezidua nádoru. Třetí operace nádoru byla provedena 29 měsíců od diagnózy. Histologický nález opět potvrdil gliosarkom. Časné pooperační MRI ukázalo subtotální resekci opět s reziduem nádoru v elokventních oblastech a nově i suspektní implantační metastázu v páteřním kanále ve výši C2. Z neurologického pohledu byla pacientka plně soběstačná, pozůstává jen velmi lehký motorický deficit na levé paži. Nyní, 31 měsíců od diagnózy, je pacientka ve stabilizovaném stavu, plně soběstačná. ***Závěr:*** Naše kazuistika ukazuje dlouhodobé přežívání u pacientky s gliosarkomem, který měl všechny nepříznivé klinicko-patologické znaky. Je obecně akceptováno, že maximální resekce následovaná pooperační radioterapií je minimální doporučenou léčbou. Naše pacientka podstoupila chemoradioterapii s temozolomidem ve Stuppově režimu. Recidiva osm měsíců od diagnózy byla řešena opakovanou operací následovanou intenzivní kombinovanou chemoterapií, která od prvního relapsu po dobu 20 měsíců udržela onemocnění v remisi. Absence jednoznačných pravidel pro chemoterapii dává možnost použití i méně obvyklých režimů.

Klíčová slova

gliosarkom – operace – chemoterapie – radioterapie – přežívání

Tato práce byla z části podpořena grantem IGA MZ ČR č. NT13581-4/2012(86-91).

This study was supported in part by the grant No. NT13581-4/2012(86-91) of the Internal Grant Agency of the Czech Ministry of Health.

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 recommendation for biomedical papers.

MUDr. Ondřej Kalita, Ph.D., MBA
Neurochirurgická klinika
LF UP a FN Olomouc
I. P. Pavlova 6
779 00 Olomouc
e-mail: ondrej.kalita@fnol.cz

Obdrženo/Submitted: 26. 3. 2016
Přijato/Accepted: 27. 4. 2016

http://dx.doi.org/10.14735/amko2016454

Summary

Background: Gliosarcoma is a rare, malignant CNS tumor with a very poor prognosis. Gliosarcoma is a variant of glioblastoma multiforme, which is characterized by the presence of both glial and mesenchymal components. The treatment strategy for gliosarcomas has not yet been determined clearly. ***Case presentation:*** This case report presents a 23-year-old female patient who complained of increasing headaches, nausea and vomiting, and slight motor weakness in her left arm. An MRI scan of the brain showed a tumor filling the anterior part of the right lateral ventricle and extending into the right frontal lobe. Tumor extirpation was performed. Histology revealed gliosarcoma. Subsequently, the patient received concomitant chemoradiotherapy with temozolomide in the Stupp regimen. Following the fourth cycle of maintenance temozolomide chemotherapy, at eight months after diagnosis, an MRI scan detected progression of the tumor residue. The patient underwent another surgery and then received 10 cycles of second-line chemotherapy in the ICE (ifosfamide, carboplatin, and etoposide) regimen. She completed oncological therapy with minimal toxicity and follow-up MRI scans showed virtually no residual tumor. Another follow-up MRI scan, performed 28 months after diagnosis, demonstrated progression of the tumor residue again. A third tumor resection was performed 29 months after initial diagnosis. Histology again confirmed gliosarcoma. An early postoperative MRI scan showed subtotal resection with a tumor residue in eloquent areas and also suspected implantation metastasis in the spinal canal at the C2 level. From the neurological perspective, the patient was fully self-sufficient, and had only a very mild motor deficit in her left arm. Currently, at 31 months after initial diagnosis, the patient is in a stable condition and fully self-sufficient. ***Conclusion:*** Our case report shows that long-term survival can be achieved in a gliosarcoma patient exhibiting all the unfavorable features in clinical-pathological terms. The minimal recommended treatment is maximal resection followed by adjuvant radiotherapy. Our patient also underwent chemoradiotherapy with temozolomide in the Stupp regimen. Recurrence at eight months after diagnosis was managed by a repeat operation and high-dose combination chemotherapy, which kept the disease in remission for 20 months after the initial relapse. The lack of unequivocal rules for chemotherapy provides an opportunity to test less common treatment regimens.

Key words

gliosarcoma – surgery – chemotherapy – radiotherapy – survival

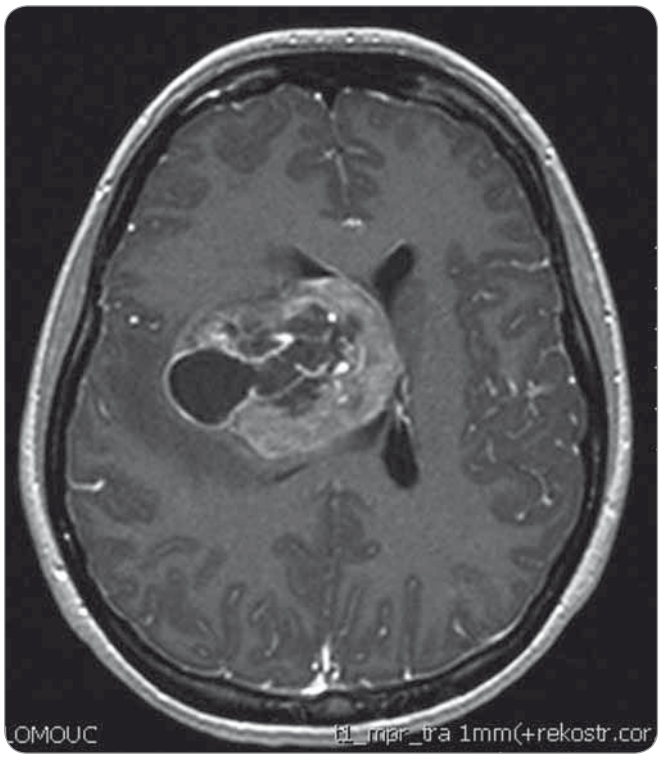
Úvod

Gliosarkom je vzácný maligní nádor CNS, WHO klasifikace stupně IV, s velmi špatnou prognózou [1]. Gliosarkom tvoří 1–8 % všech glioblastoma multiforme (GBM) a méně než 0,5 % všech intrakraniálních nádorů [2,3]. Typicky se vyskytuje mezi 50 a 70 lety, s mediánem věku nad 60 let a významnou mužskou prevalencí [4–6]. Gliosarkom je variantou GBM charakterizovaný přítomností jak gliální (WHO stupeň 4), tak mezenchymální (sarkomatózní) komponenty [1,7]. Sarkomatózní komponenta je tvořena vřetenobuněčným sarkomem, ale může jít i o fibrosarkom, angiosarkom, měkkotkáňový sarkom nebo rhabdomyosarkom [8]. Při histologickém vyšetření na přítomnost retikulinu a GFAP pomáhá definovat gliomatózní a mezenchymální elementy. Sarkomatózní areály jsou bohaté na retikulin a naopak gliální komponenta je chudá na retikulin, ale bohatá na GFAP pozitivní elementy. Vimentin je pozitivní v obou komponentách, a proto jej není možné použít k jejich odlišení. Na základě současného genetického výzkumu se přepokládá monoklonální původ obou složek [9].

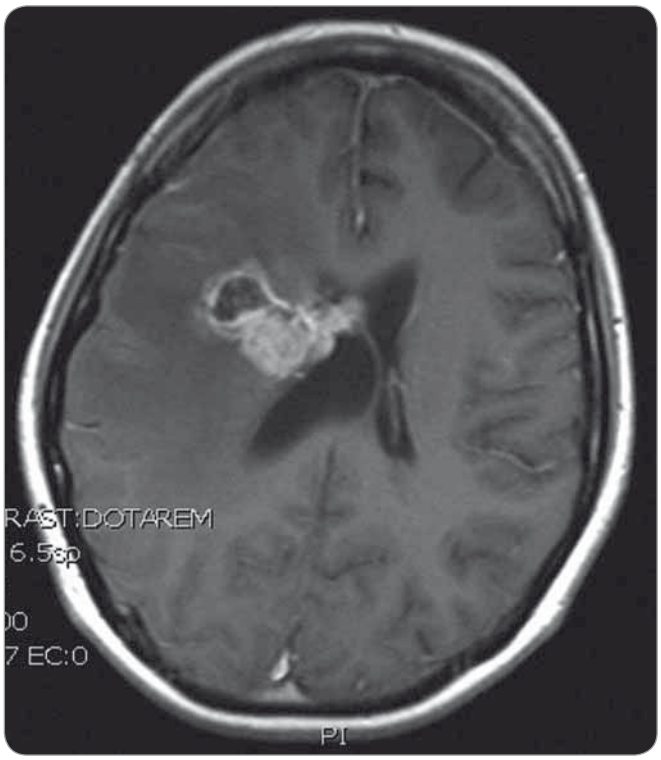
Léčebná strategie u gliosarkomů je nejasná a většinou zahrnuje maximální možnou resekci následovanou radioterapií. Chemoterapie je obvykle podávána taktéž, ale její typ, dávkování a počet cyklů není dosud stanoven.

Průběh onemocnění

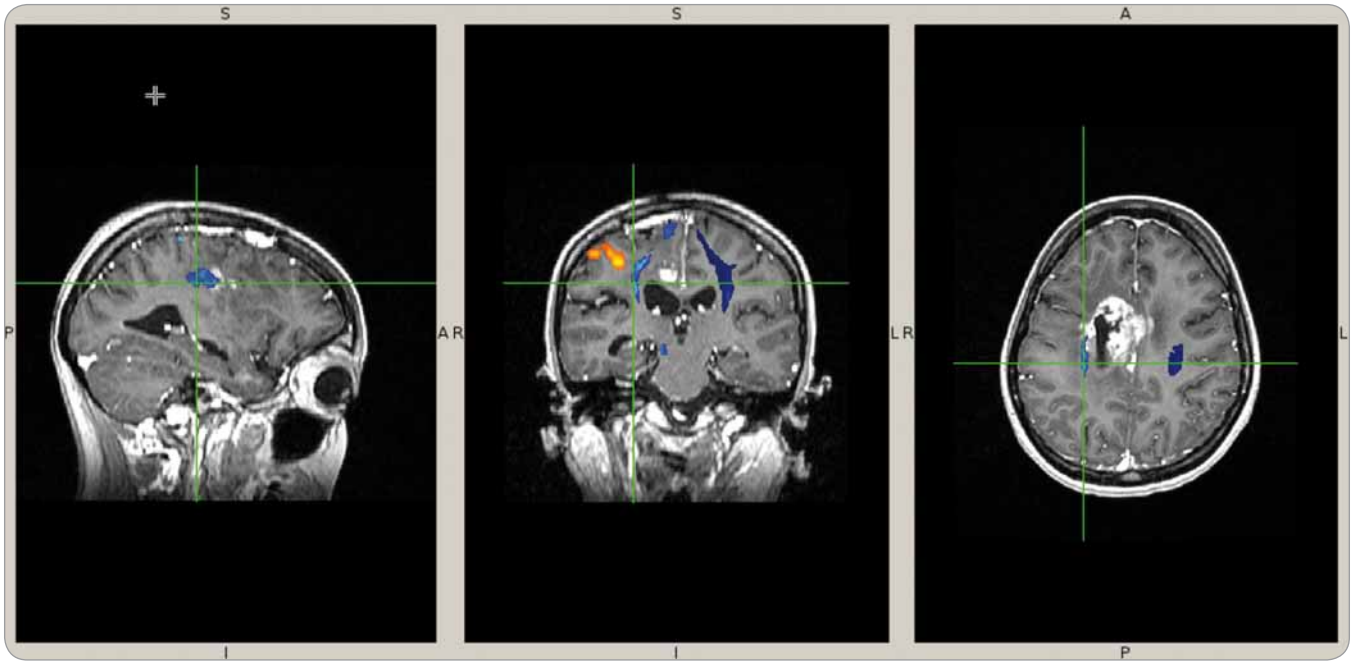
Naše kazuistika prezentuje 23letou pacientku, která byla vyšetřována pro narůstající bolesti hlavy, nauzeu, zvracení a diskrétní motorické oslabení levé paže. Na MRI mozku (obr. 1) byl nalezen objemný, částečně cystický nehomogenně se sytící nádor s neostrými okraji, vyplňující přední část pravé postranní komory s extenzí do pravého čelního laloku. V září 2013 byla provedena exstirpace nádoru. Časné pooperační MRI ukázalo subtotální resekci s reziduem nádoru v elokventních oblastech. Z neurologického pohledu byla pacientka bez trvalého neurologického deficitu. Histologické vyšetření odhalilo gliosarkom WHO stupně IV, přičemž sarkomatózní komponenta byla lokalizována především okolo tlustostěnných cév. Imunohistochemicky nádorové buňky exprimovaly difuzní pozitivitu GFAP, pozitivita p53 se pohybovala v rozmezí 10–70 %, negativní bylo EGFR, p16 a IDH-1; Ki-67 dosáhlo 10 %. Nemocná byla dispenzarizována pravidelnými MRI a klinickými kontrolami. Pacientka absolvovala v období od října do prosince 2013 konkomitantní chemoradioterapii (30 × 2 Gy/temozolomid 75 mg (m^2 den 1–42)). Od ledna 2014 zahájila solo chemoterapii temozolomidem (350 mg den 1–5 à 4 týdny) a po 4. cyklu, osm měsíců od diagnózy, byla na MRI nalezena progrese rezidua nádoru (obr. 2). V červnu 2014 pacientka podstoupila druhou operaci. Časné pooperační MRI ukázalo subtotální resekci s reziduem nádoru v elokventních oblastech. Nález odpovídal předoperačnímu funkčnímu MRI (obr. 3), kdy nádor byl v těsném kontaktu s kortikospinální drahou. Pacientka byla nadále bez trvalého neurologického deficitu. Histologický nález potvrdil gliosarkom. Imunohistochemicky nádorové buňky exprimovaly difuzně GFAP v cca 90 %, p53 v 5–20 %, p16 v 1–5 %; Ki-67 dosáhlo 5 %; negativní bylo vyšetření IDH a EGFR. Od července 2014 do září 2015 bylo pacientce podáno 10 cyklů 2. linie chemoterapie v režimu ICE (ifosfamid, karboplatina, etoposid). Pacientka zvládla onkologickou léčbu s minimální toxicitou a na kontrolních MRI reziduální nádor prakticky vymizel. Na kontrolním MRI, 28 měsíců od diagnózy, došlo opětovně k progresi rezidua nádoru. V klinickém obraze se objevily epileptické ataky, znovu se objevilo motorické oslabení levé paže. V prosinci 2015 byla provedena opakovaná resekce nádoru. Časné pooperační MRI ukázalo subtotální resekci, opět s reziduem nádoru v elokventních oblastech.



Obr. 1. T1 vážený MRI obraz intraventrikulárního gliosarkomu.



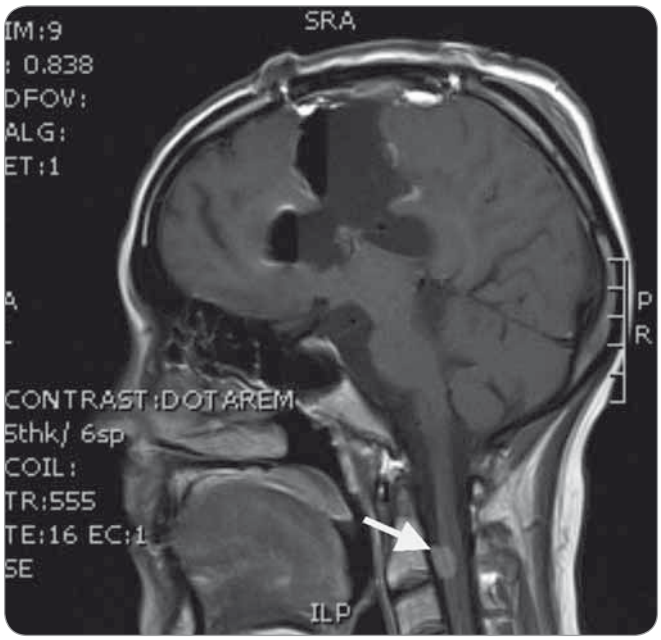
Obr. 2. T1 vážený MRI obraz recidivy intraventrikulárního sarkomu.



Obr. 3. Funkční předoperační MRI.

Navíc byla nově objevena suspektní implantační metastáza v páteřním kanále ve výši C2 (obr. 4). Z neurologického pohledu byla pacientka plně soběstačná, pozůstává jen velmi lehký motorický deficit levé paže. Histologický nález opět potvrdil gliosarkom. Imunohistochemicky nádorové buňky vykazovaly difuzní pozitivitu GFAP, p53 v 60 %, p16 v 1 %. Negativní bylo vyšetření AE1/3, EMA, TTF-1, IDH-1 a EGFR; Ki-67 dosahovala 40 %.

U všech vzorků byl pomocí fluorescenční *in situ* hybridizace vyšetřen status genů *EGFR, TP53, RB1, MDM2,* chromozomálních oblastí 1p36, 9p21, 19q13, chromozomu 7 a 10 s použitím fluorescenčně značených DNA sond (IntellMed,



Obr. 4. Časné pooperační T1 vážené MRI s radikální resekcí v místě původního nádoru, šipka ukazuje implantační metastázu v páteřním kanále.

Česká republika) a již dříve popsané metodiky [9]. Gen *EGFR* byl hodnocen jako amplifikovaný v případě, že poměr EGFR/CEP7 byl > 2. Další markery byly hodnoceny jako „navýšení", resp. „ztráta" v případě průměrného počtu kopií > 2,3, resp. < 1,9 nebo v případě „navýšení", resp. „ztráty" u více než 20 % jader ve vzorku nádorové tkáně. Vyšetření metylace promotoru *MGMT* bylo provedeno pomocí metylačně specifické real-time PCR po předchozí bisulfidační konverzi DNA [11]. Pro vyšetření mutací genu *IDH1* R132H a R132C byla použita CADMA (competitive amplification of differecially melting amplicons) PCR dle principu, který popsal ve své práci Kristensen et al [12].

Nyní, 31 měsíců od diagnózy, je pacientka ve stabilizovaném stavu, plně soběstačná. Vzhledem k uvedené diseminaci nádoru je v současnosti uvažováno o některé z 3. linie paliativní chemoterapie.

Diskuze

Gliosarkomy jsou primárně lokalizované v mozkových hemisférách a jen řídce se vyskytují intraventrikulárně [1,7]. Celkové přežívání (overall survival – OS) pacientů s gliosarkomem se dle literatury pohybuje mezi 4 a 18,5 měsíce [6,7,13,14]. Jen velmi vzácně přesahuje 40 měsíců. Neléčení pacienti s gliosarkomy mají OS okolo čtyř měsíců. Nejdelší zaznamenaný případ přežívání pacienta byl 22 let [15]. Přežívání intraventrikulárně lokalizovaných gliosarkomů se pohybuje v rozmezí mezi 10 dny a 8 měsíci, s mediánem okolo 3 měsíců [7]. V novějších pracích lze nalézt i ojedinělý případ pacienta s takto uloženým nádorem s OS přesahujícím 130 měsíců, a to bez rekurence či metastazování [16].

Gliosarkomy sdílejí obdobné genetické, klinické a prognostické znaky s GBM, proto je obvyklé, že jsou léčeny stejným způsobem jako GBM. Nicméně existují i rozdílné klinicko-patologické znaky. Především gliosarkomy lokalizované v periferii mozkových laloků mají větší sklon k durální adhezi. Také je u gliosarkomů zaznamenán větší výskyt intra- i extrakraniálních metastáz (11 %) a tendence k horšímu přežívání ve srovnání s glioblastomy [4]. Sarkomatózní komponenta má větší tendenci k diseminaci a často tvoří jedinou komponentu v metastázách [13]. Nejčastěji gliosarkomy metastazují do plic a jater, méně i do sleziny, nadledvinek, ledvin, ústní sliznice, kůže, kostí a lymfatických uzlin [14,17,18]. Existuje i diseminace v rámci CNS, přičemž intraventrikulární gliosarkomy se mohou šířit likvorovými cestami.

Gliosarkomy se na MRI zobrazují jako heterogenní expanze, postkontrastně se sytící, dobře ohraničené nebo s nejasnou hranicí a s výrazným peritumorózním edémem. Někdy je přítomna i cystická komponenta s nepravidelným, různě utvářeným postkontrastním sycením [14]. Na podkladě radiologického obrazu lze gliosarkomy rozdělit do dvou variant [19,20]. První jsou nádory podobné GBM, které jsou charakterizovány nejasnými okraji a nehomogenním postkontrastním sycením. Druhou variantou jsou nádory podobné meningeomům, které mají homogenní sycení a jasné radiologické okraje. Taktéž i peroperačně bývá nalézán u této varianty tužší, dobře ohraničený nádor umožňující radikální exstirpaci. Tyto nádory mají i lepší OS (medián OS 8 měsíců, resp. 71 ± 6 týdnů) ve srovnání s gliosarkomy, které se radiologicky i peroperačně podobají GBM (medián 2 měsíce, resp. 63 ± 6 týdnů) [19,20].

Dle provedených genetických analýz mají gliosarkomy vyšší frekvenci mutace *TP53* a nižší frekvenci *EGFR* amplifikace (0–8 %) než primární GBM [9]. Na druhé straně mají vyšší frekvenci *PTEN* mutace a p16 delece, ale nižší frekvenci *TP53* mutace než sekundární GBM [17]. Tedy z pohledu frekvencí genetických alterací jsou gliosarkomy na půl cesty mezi primárními a sekundárními GBM, přičemž mutace *TP53* je přítomna jak v gliální, tak v sarkomatózní komponentě [19]. Ze studií zabývajících se metylací promotoru *MGMT* u gliosarkomů vyplynuly značně rozporuplné výsledky. První práce [21,22] nalézaly *MGMT* metylaci poměrně často (31,25 a 58,3 %), zatímco pozdější práce [23] odhalily jen nízký výskyt metylace *MGMT* u gliosarkomů (11,5 %). Co se týče vlivu vztahu mezi metylací *MGMT* a přežíváním, jedna práce [22] potvrdila, že OS pacientů s gliosarkomy koreluje se stavem metylace *MGMT*, zatím druhé práce [21] ukázaly, že s OS nesouvisejí. Prognostický či prediktivní vliv mutace *IDH* u gliosarkomů nebyl zatím zkoumán.

Gliosarkomy jsou dnes léčeny stejným způsobem jako GBM, tzn. maximální resekcí následovanou pooperační chemoradioterapií. Jako faktory ovlivňující OS jsou uváděny věk, předoperační Karnofského skóre, radiologický a již zmíněný peroperační nález (konzistence, ohraničení), rozsah resekce a zmíněná adjuvantní chemoradioterapie [19,20].

Existuje množství studií ukazujících, že radikalita resekce u GBM má vliv na prodloužení OS [24,25]. Z důvodu absence takových dat je tendence extrapolovat výsledky z GBM i na pacienty s gliosar-

Tab. 1. Modře jsou označeny „navýšení", šedě „ztráty" v počtu kopií genů či chromozomálních úseků dle pravidel popsaných v metodice.

Operace	Chromozom 7	*EGFR*	9p21/ /p16	1p36	*RB1*	*TP53*	Chromozom 10	19q13	*MDM2*	Metylace *MGMT*	Mutace *IDH1*
1.	2,7	0,99	2,1	2,11	2,5	3,2	2,28	2,63	2,3	ne	ne
2.	2,8	1,09		2,16	3,12	7,5	2,78	3,8		ne	ne
3.				2,34		1,71		1,71			

komy. Přesto existují retrospektivní práce s menším počtem pacientů, které ukázaly až půlroční rozdíl v OS ve prospěch radikálnějších operací. Jedna z prvních studií ukázala, že i pouhá resekce bez další terapie oproti biopsii s následnou chemoterapií má lepší výsledky [4]. Gliosarkomy se často nacházejí na periferii mozkových laloků, a tím umožňují lepší bezpečnou radikalitu resekce [19,20]. Také nádory mající sarkomatózní část větší než 50 % mají tendenci k lepšímu OS oproti těm, kde sarkomatózní komponenta je menší než 25 %. Delší OS bylo zdůvodněno průměrnou vyšší radikalitou resekce u gliosarkomu s dominantní mezenchymální částí, kdy nádory bývají tužší a dobře ohraničené od mozkové tkáně [20].

Efekt radioterapie a chemoterapie u gliosarkomů není zcela jasný. Jedna ze starších studií ukázala zlepšení OS u pacientů, kteří podstoupili pooperační radioterapii v porovnání s těmi, kteří měli pouhou observaci po resekci (10,6 vs. 6,25 měsíce) [26]. Použité radioterapeutické dávky se pohybovaly mezi 45 a 81 Gy [7]. Existujícím kontroverzím ohledně role chemoterapie u gliosarkomů odpovídá i velké množství používaných cytostatik, jako jsou dakarbazin, prokarbazin, mitomycin C, temozolomide, irinotecan, vinkristine, cisplatina, karboplatina, doxorubicin, etoposid a další [4]. Již jedna z prvních prací ukázala lehké zlepšení přežívání u pacientů s chemoradioterapií oproti skupině s pouhou radioterapií (36 vs. 33 týdnů) [27]. Protože se chemoterapie s temozolomidem stala standardem péče u GBM, stala se i dominantním typem léčby u gliosarkomů. Přesto účinnost temozolomidu u gliosarkomů nebyla dosud potvrzena a v první studii efekt této chemoterapie dokonce nebyl nalezen [28]. V další studii byl již ve skupině s temozolomidem dosažen medián OS okolo 18,5 měsíce, což podpořilo jeho zahrnutí do standardní terapie [21]. Jedna z posledních prací ukázala, že adjuvantní chemoradioterapie s temozolomidem vedla k vzestupu 2letého OS na 20 % oproti 10,2 % u skupiny léčené jiným režimem [29]. Stále však zbývá potvrdit, jestli je temozolomid stejně efektivní i u mezenchymální složky nádorů. Pochybnosti vyplývají ze skutečnosti, že navzdory obecnému monoklonálnímu původu gliosarkomy i GBM obsahují rozdílné genetické aberace, což vede ke sporu, zdali je možné plně extrapolovat strategii léčby u GBM na pacienty s gliosarkomy [7,30].

Závěr

Námi prezentovaná kazuistika ukazuje dlouhodobé celkové přežívání u pacientky s gliosarkomem, který měl všechny nepříznivé znaky: 1. intraventrikulární lokalizace nádoru, 2. nehomogenní sycení nádoru na vstupním MRI, 3. peroperační absence jasných hranic nádoru, 4. nižší obsah sarkomatózní porce, 5. cytogenetický profil blížící se GBM (tab. 1), vč. jeho změny vyvolané selekčním tlakem aplikované léčby.

Je obecně akceptováno, že maximální resekce následovaná adjuvantní radioterapií je minimální doporučenou léčbou, kterou by pacienti s gliosarkomem měli obdržet. V našem případě byla snaha dosáhnout radikální operace omezena lokalizací nádoru a jeho vztahem k elokventním oblastem mozku. Následná chemoradioterapie s využitím temozolomidu v Stuppově režimu oddálila recidivu onemocnění o osm měsíců. Uložení nádoru umožnilo opakovanou operaci, po které byla zvažována další chemoterapie. Vzhledem k typu nádoru, věku a dobrému klinickému stavu bylo přikročeno k intenzivní kombinované chemoterapii, která od prvního relapsu po dobu 20 měsíců udržela onemocnění v remisi.

Absence jednoznačných pravidel pro chemoterapii dává možnost použití i méně obvyklých režimů či využití off-label chemoterapie [31,32]. Z důvodu raritnosti onemocnění stále chybí větší prospektivní studie zaměřená na gliosarkomy. Strategická doporučení týkající se role chemoterapie vycházejí často z konfliktních závěrů malých retrospektivních studií. Jsou práce, které tvrdí, že pacienti s gliosarkomy mají právo na specifickou léčbu odlišnou od konvenční GBM terapie. Nicméně se zdá, že léčba gliosarkomů bude kopírovat terapii u GBM až do doby, než se objeví účinná cílená léčba nebo nové chemoterapeutikum.

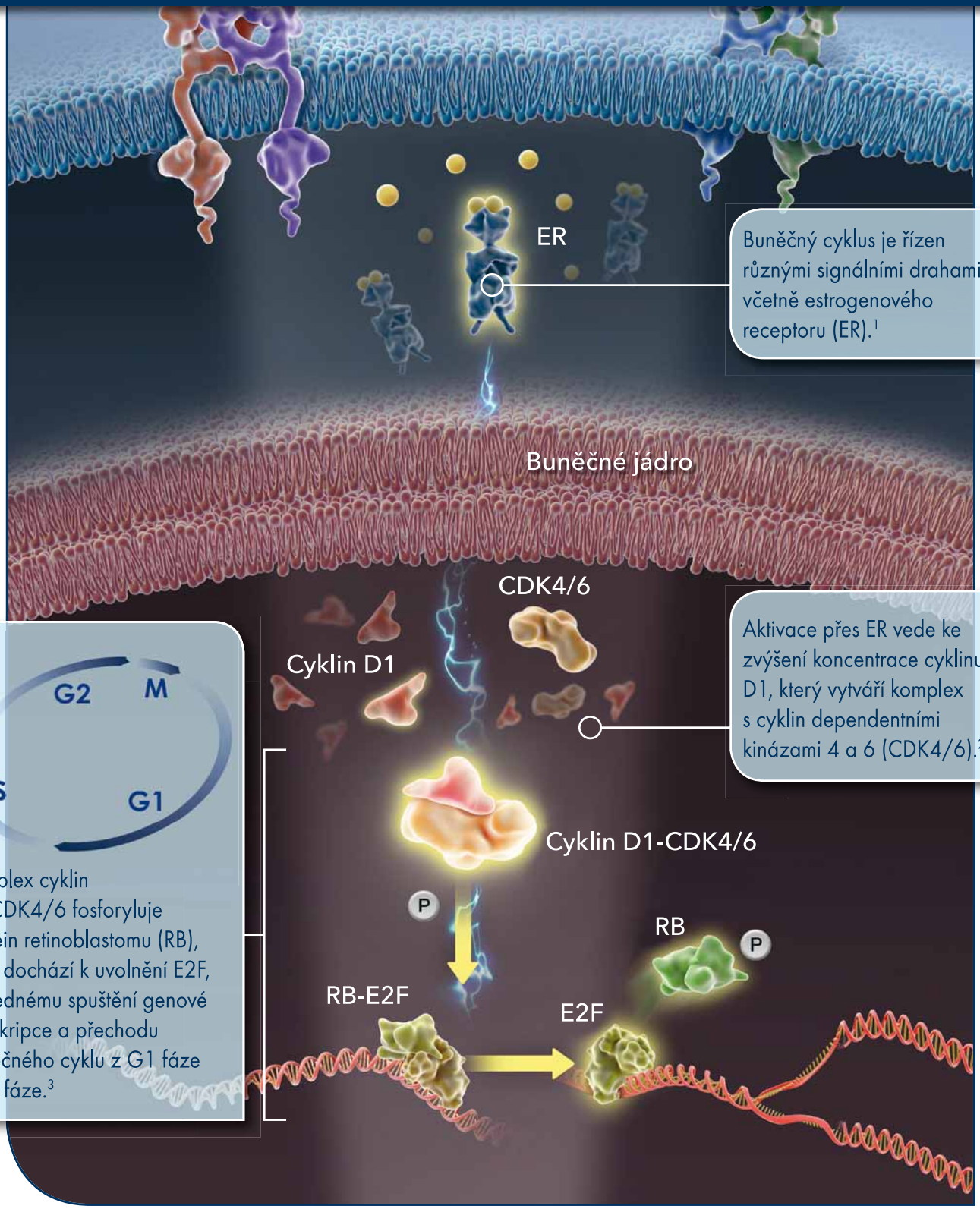
Literatura

1. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD et al. Gliosarcoma. In: WHO classification of tumours of the central nervous system. 4th ed. Lyon: IARC 2007: 48–49.
2. Lutterbach J, Guttenberger R, Pagenstecher A. Gliosarcoma: a clinical study. Radiother Oncol 2001; 61(1): 57–64.
3. Zhang BY, Chen H, Geng DY et al. Computed tomography and magnetic resonance features of gliosarcoma: a study of 54 cases. J Comput Assist Tomogr 2011; 35(6): 667–673. doi: 10.1097/RCT.0b013e3182331128.
4. Kozak KR, Mahadevan A, Moody JS. Adult gliosarcoma: epidemiology, natural history, and factors associated with outcome. Neuro Oncol 2009; 11(2): 183–191. doi: 10.1215/15228517-2008-076.
5. Lee D, Kang SY, Suh YL et al. Clinicopathologic and genomic features of gliosarcomas. J Neurooncol 2012; 107(3): 643–650. doi: 10.1007/s11060-011-0790-3.
6. Romero-Rojas AE, Diaz-Perez JA, Ariza-Serrano LM et al. Primary gliosarcoma of the brain: radiologic and histopathologic features. Neuroradiol J 2013; 26(6): 639–648.
7. Han SJ, Yang I, Tihan T et al Primary gliosarcoma: key clinical and pathologic distinctions from glioblastoma with implications as a unique oncologic entity. J Neurooncol 2010; 96(3): 313–320. doi: 10.1007/s11060-009-9973-6.
8. Švajdler M, Rychlý B, Gajdoš M et al. Gliosarkóm s komponentou pripomínajúcou alveolárny rabdomyosarkóm:

popis prípadu s doposial nepopísanou sarkómovou zložkou. Cesk Patol 2012; 48(4): 210–214.
9. Reis RM, Könü-Leblebliciogiu D, Lopes JM et al. Genetic profile of gliosarcomas. Am J Pathol 2000; 156(2): 425–432.
10. Bouchalova K, Trojanec R, Kolar Z et al. Analysis of ERBB2 and TOP2A gene status using fluorescence in situ hybridization versus immunohistochemistry in localized breast cancer. Neoplasma 2006; 53(5): 393–401.
11. Weisenberger DJ, Campan M, Long TI et al. Analysis of repetitive element DNA methylation by MethyLight. Nucleic Acids Research 2005; 33(21): 6823–6826.
12. Kristensen LS, Andersen GB, Hager H et al. Competitive amplification of differentially melting amplicons (CADMA) enables sensitive and direct detection of all mutation types by high-resolution melting analysis. Hum Mutat 2012; 33(1): 264–271. doi: 10.1002/humu.21598.
13. Biswas A, Kumar N, Kumar P et al. Primary gliosarcoma – clinical experience from a regional cancer centre in north India. Br J Neurosurg 2011; 25(6): 723–729. doi: 10.3109/02688697.2011.570881.
14. Damodaran O, van Heerden J, Nowak AK et al. Clinical management and survival outcomes of gliosarcomas in the era of multimodality therapy. J Clin Neurosci 2014; 21(3): 478–481. doi: 10.1016/j.jocn.2013.07.042.
15. Winkler PA, Büttner A, Tomezzoli A et al. Histologically repeatedly confirmed gliosarcoma with long survival: review of the literature and report of a case. Acta Neurochir (Wien) 2000; 142(1): 91–95.
16. Huo Z, Yang D, Shen J et al. Primary gliosarcoma with long-survival: report of two cases and review of literature. Int J Clin Exp Pathol 2014; 7(9): 6323–6333.
17. Baldawa S, Kasegaonkar P, Vani S et al Primary intraventricular gliosarcoma. Clin Neuropathol 2013; 32(6): 525–528. doi: 10.5414/NP300607.
18. Moiyadi A, Sridhar E, Jalali R. Intraventricular gliosarcoma: unusual location of an uncommon tumor. J Neurooncol 2010; 96(2): 291–294. doi: 10.1007/s11060-009-9952-y.
19. Singh G, Das KK, Sharma P et al. Cerebral gliosarcoma: analysis of 16 patients and review of literature. Asian J Neurosurg 2015; 10(3): 195–202. doi: 10.4103/1793-5482.161173.
20. Salvati M, Caroli E, Raco A et al. Gliosarcomas: analysis of 11 cases do two subtypes exist? J Neurooncol 2005; 74(1): 59–63.
21. Singh G, Mallick S, Sharma V et al. A study of clinico-pathological parameters and O6-methylguanine DNA methyltransferase (MGMT) promoter methylation status in the prognostication of gliosarcoma. Neuropathology 2012; 32(5): 534–542. doi: 10.1111/j.1440-1789.2012.01297.x.
22. Kang SH, Park KJ, Kim CY et al. O6-methylguanine DNA methyltransferase status determined by promoter methylation and immunohistochemistry in gliosarcoma and their clinical implications. J Neuroonco 2011; 101(3): 477–486. doi: 10.1007/s11060-010-0267-9.
23. Lee D, Kang SY, Suh YL et al. Clinicopathologic and genomic features of gliosarcomas. J Neurooncol 2012; 107(3): 643–650. doi: 10.1007/s11060-011-0790-3.
24. Sanai N, Berger MS. Glioma extent of resection and its impact on patient outcome. Neurosurgery 2008; 62(4): 753–764. doi: 10.1227/01.neu.0000318159.21731.cf.
25. Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. N Engl J Med 2005; 352(10): 987–996.
26. Perry JR, Ang LC, Bilbao JM et al. Clinicopathologic features of primary and postirradiation cerebral gliosarcoma. Cancer 1995; 75(12): 2910–2918.
27. Morantz RA, Feigen I, Ransohoff J. Clinical and pathological study of 24 cases of gliosarcoma. J Neurosurg 1976; 45(4): 398–408.
28. Han SJ, Yang I, Ahn BJ et al. Clinical characteristics and outcomes for a modern series of primary gliosarcoma patients. Cancer 2010; 116(5): 1358–1366. doi: 10.1002/cncr.24857.
29. Walker GV, Gilbert MR, Prabhu SS et al. Temozolomide use in adult patients with gliosarcoma: an evolving clinical practice. J Neurooncol 2013; 112(1): 83–89. doi: 10.1007/s11060-012-1029-7.
30. Forshew T, Lewis P, Waldman A et al. Three different brain tumours evolving from a common origin. Oncogenesis 2013; 2: e41. doi: 10.1038/oncsis.2013.1.
31. Stančoková T. Liečba dětských nádorov mozgu. Onkologia (Bratisl.) 2007; 2(3): 176–180.
32. Pavelka Z, Zitterbart K. Nádory centrálního nervového systému u dětí. Neurol pro praxi 2011; 12(1): 52–58.

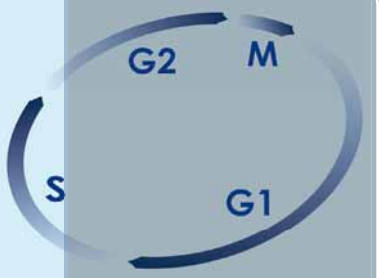
CDK4/6

ŘÍDÍ BUNĚČNOU PROLIFERACI U ER+ KARCINOMU PRSU



Buněčný cyklus je řízen různými signálními drahami, včetně estrogenového receptoru (ER).[1]

Aktivace přes ER vede ke zvýšení koncentrace cyklinu D1, který vytváří komplex s cyklin dependentními kinázami 4 a 6 (CDK4/6).[2]



Komplex cyklin D1-CDK4/6 fosforyluje protein retinoblastomu (RB), čímž dochází k uvolnění E2F, následnému spuštění genové transkripce a přechodu buněčného cyklu z G1 fáze do S fáze.[3]

Ⓟ= fosforylace; E2F = E2F transkripční faktor

U ER+ karcinomu prsu zvyšuje estrogenová signalizace aktivitu signální dráhy cyklin D1-CDK4/6-RB, která má za následek ztrátu kontroly proliferace.[4,5] V preklinických modelech byla zjištěna synergie při duální inhibici CDK4/6 a ER.[6]

Společnost Pfizer zaměřuje svůj výzkum na inhibici CDK4/6.

Reference: 1. Lukas J, Bartkova J, Bartek J. *Mol Cell Biol.* 1996;16(12):6917-6925. **2.** Prall OWJ, Sarcevic B, Musgrove EA, Watts CK, Sutherland RL. *J Biol Chem.* 1997;272(16):10882-10894. **3.** Ji J-Y, Dyson NJ. In: Enders GH, ed. *Cell Cycle Deregulation in Cancer.* New York, NY: Humana Press; 2010:23-42. **4.** Rocca A, Farolfi A, Bravaccini S, Schirone A, Amadori D. *Expert Opin Pharmacother.* 2014;15(3):407-420. **5.** Weinberg RA. In: *The Biology of Cancer.* 2nd ed. New York, NY: Garland Science; 2013. **6.** Finn RS, Dering J, Conklin D, et al. *Breast Cancer Res.* 2009;11:R77. doi:10.1186/bcr2419.

Pfizer Oncology

ONC2016.01.031

Intervenční cvičební program pro onkologické pacientky s karcinomem prsu

Intervention Exercise Program for Cancer Patients with Breast Cancer

Pokorná A.[1], Střeštíková R.[2]

[1] Fakulta sportovních studií MU, Brno
[2] Centrum univerzitního sportu, Fakulta sportovních studií MU, Brno

Souhrn

Východiska: Pohyb je známkou života a pravidelná pohybová aktivita má bezesporu významný vliv na každého člověka. Pozitivně se podílí na našem zdraví, kvalitě života a celkové psychické rovnováze člověka. Vhodně zvolená pohybová aktivita zařazená v rámci rehabilitace pacientů, kteří prodělali onkologickou léčbu, se významně podílí na úspěchu celkové rekonvalescence a přispívá velkou měrou ke zlepšení kvality života. Náš intervenční cvičební program pro onkologické pacientky byl vypracován a realizován na základě získaných lékařských doporučení o onkologických pacientech. Intervenční cvičební program byl rozdělen na dvě části – body and mind a kondiční část. ***Cíl:*** Cílem cvičebního programu mimo zvýšení sebevědomí pacientek a zlepšení kvality života bylo zlepšit kardiovaskulární funkce, bazální metabolizmus, svalovou sílu a vytrvalost, zlepšit kloubní rozsah, posílit svaly fázické a protáhnout svaly posturální, a tím předcházet svalovým dysbalancím.

Klíčová slova

karcinom prsu – cvičení – kvalita života

Summary

Background: Movement is a sign of life and regular physical activity has an indisputable influence on each and every person. When applied selectively to patients after cancer therapy, physical activity, including rehabilitation, positively contributes to complete recuperation and improves quality of life. Our interventional exercise program for cancer patients was prepared and implemented on the basis of reports in the medical literature and on the lecturer's own experience. The interventional exercise program was divided into two parts – body and mind and body fitness. ***Aim:*** Besides increasing self-confidence and improving quality of life, the aim of the exercise program was to improve cardiovascular function, basal metabolism, muscular strength and endurance, and joint flexibility and to strengthen phasic muscles and stretch tonic muscles, both of which are important for balance.

Key words

breast cancer – exercise – quality of life

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 recommendation for biomedical papers.

Mgr. Alena Pokorná, Ph.D.
Fakulta sportovních studií
Masarykova univerzita
Údolní 221/3
602 00 Brno
e-mail: pokorna@fsps.muni.cz

Obdrženo/Submitted: 15. 9. 2016
Přijato/Accepted: 5. 10. 2016

http://dx.doi.org/10.14735/amko2016461

Pohyb je známkou života a pravidelná pohybová aktivita má bezesporu významný vliv na každého člověka. Nejenže rozvíjí naše motorické schopnosti a dovednosti, ale také se pozitivně podílí na našem zdraví, kvalitě života a celkové psychické rovnováze člověka. Vhodně zvolená pohybová aktivita zařazená v rámci rehabilitace pacientů, kteří prodělali onkologickou léčbu, se významně podílí na úspěchu celkové rekonvalescence a přispívá velkou měrou ke zlepšení kvality života. Prospěšnost pohybové aktivity byla ověřena a prokázána u pacientů s rakovinou prsu nejen po ukončení léčby v rámci rehabilitace, ale i v průběhu léčby samotné [1].

Náš intervenční cvičební program pro onkologické pacientky, který byl vypracován a realizován na základě získaných lékařských doporučení o onkologických pacientech a vlastní lektorské zkušenosti, obsahoval tři tréninkové jednotky týdně (pondělí, středa a pátek). Intervenční cvičební program byl rozdělen na dvě části – body and mind a kondiční část. Byl realizován od konce října 2014 do poloviny prosince 2015, celkem 62 cvičebních jednotek body and mind a 128 kondičních cvičebních jednotek. Cvičební jednotka trvala 60 min a byla uskutečněna v pohybových tělocvičnách na Fakultě sportovních studií Masarykovy univerzity v Brně. Cílem cvičebního programu mimo zvýšení sebevědomí pacientek a zlepšení kvality života bylo zlepšit kardiovaskulární funkce, bazální metabolizmus, svalovou sílu a vytrvalost, zlepšit kloubní rozsah, posílit svaly fázické a protáhnout svaly posturální, a tím předcházet svalovým dysbalancím.

Experimentální činitel, v tomto případě intervenční cvičební program, zahrnoval tyto prostředky a metody cvičení:

- **Body and mind cvičení** – je založeno na tzv. holistickém přístupu k pacientce, a tedy též k lidskému pohybu. Důraz byl kladen na správné dýchání a zapojení těla jako celku při pohybu. Během těchto lekcí byly zařazovány především pomalé formy cvičení jako jóga, trénink rovnováhy, stabilizace a relaxační cvičení, kde je možná koncentrace na vědomý prožitek z pohybu, vzájemný vliv pohybu a psychiky.
- **Kondiční cvičení** – zejména aerobní a intervalový trénink pro rozvoj aerobní vytrvalosti, (indoor cycling, cardio trenažéry – treadmill, gleidex, stepper, cycling, aerobik a tanec – zumba a movida fitness, bodystyling, indoor walking).
- **Posilovací cvičení** byla prováděna metodou dynamického pomalého posilování řízeným pohybem v koordinaci s dechem a za stálého zdůrazňování správnosti zapojení potřebných svalů do požadovaného pohybu. Byla využívána metoda kruhového tréninku s využitím balančních pomůcek (bosu, fit ball, overball) a také efektivní metoda kardiovaskulárního intervalového tréninku, tzv. Tabata, metoda pilates. Celkově bylo vyřazeno zatěžování horních končetin.
- **Protahovací cvičení** byla prováděna pomocí metody statického strečinku (pasivní protahování) a metody postizometrické relaxace s dodržováním potřebných didaktických zásad.
- **Balanční cvičení** (využití cvičebních pomůcek overball, fit ball a bosu) a cvičení pro nácvik správného držení těla, zaměřeno na uvědomování si nervosvalové koordinace a udržení jednotlivých segmentů ve správné poloze, core trénink – zpevnění středu těla.
- **Relaxační a dechová cvičení** – pomocí metod lokální i celkové relaxace, automasáž horních končetin pomocí stimulačních míčků a ježků.

Cviky byly vybírány a prováděny s respektováním principu postupnosti a individuálních zvláštností sledovaných žen s diagnózou karcinomu prsu. Dávkování a počty opakování vycházely z nároku na kondiční úroveň probandů a z momentálního psychického a fyzického stavu s respektováním individuality, věku a zásad pro správné provedení a techniky cvičení.

Cvičební jednotka byla zpočátku rozdělena až na čtyři části (2 × 20 min aerobní cvičení, 10 min protahovací a posilovací cvičení, 10 min relaxační a dechová cvičení). Toto rozdělení bylo zvoleno z důvodu nástupu náhlé únavy a nízké tělesné kondice sledovaných probandek. Po čtyřech měsících byla cvičební jednotka rozdělena na 2–3 části, kde byla navýšena zejména úvodní aerobní – kondiční – část na 30–45 min. Motivačním činitelem byla rytmická hudba, která napomáhala udržovat potřebnou intenzitu během cvičení, variabilita a pestrost jednotlivých cvičebních jednotek, pozitivní a individuální přístup lektorů a přátelská atmosféra.

Lektorky si cvičební jednotky zaznamenávaly do tréninkového deníku a pravidelně po týdnu konzultovaly výběr pohybových aktivit vlastních cvičebních jednotek. Během cvičební jednotky byla zátěž probandek monitorována pomocí sporttestrů (ST Polar RS 100, RS 300X) a také s pomocí asistentů lektora byla rovněž zaznamenávána Borgova RPE škála (Rating of Perceived Exertion) k hodnocení subjektivního vnímání intenzity, resp. námahy příslušného fyzického zatížení dané části cvičební jednotky. Pocity probandů, jak je sami jedinci hodnotí v průběhu zatížení, byly zapisovány individuálně do záznamového protokolu vč. získaných funkčních parametrů – hodnot srdeční frekvence během cvičební jednotky.

V současné době probíhá zpracování měřených výsledků u zmíněné skupiny pacientek a program je aplikován na pacientky nové. Dle získaných zkušeností a dle pacientčiných pocitů, které jsme zaznamenali bez jakéhokoli měření, můžeme potvrdit zcela jasné zlepšení jak fyzické, tak psychické kondice. Velmi cenné bylo sociální propojení skupiny, které dále trvá, a ženy ve vlastním zájmu navštěvují naše kondiční hodiny v rámci celoživotního vzdělávání na Fakultě sportovních studií Masarykovy univerzity v Brně.

Literatura

Knols R, Aaronson NK, Uebelhart D et al. Physical exercise in cancer patients during and after medical treatment: a systematic review of randomized and controlled clinical trials. J Clin Oncol 2005; 23(16): 3830–3840. doi: 10.1200/JCO.2005.02.148.

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 řádných číslech v roce 2016.
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 1/2017.

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 čechoslovaca.
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:

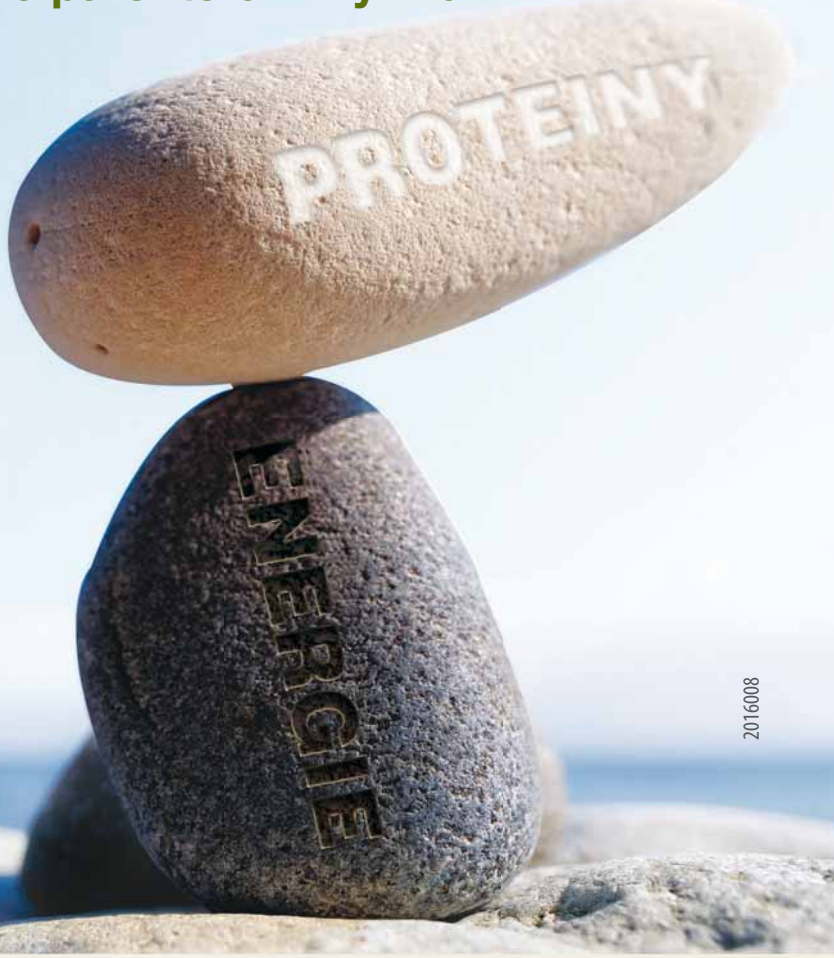
MSD

OLIMEL
OPTIMÁLNÍ NUTRIČNÍ ROVNOVÁHA

Baxter

OLIMEL / PERIOLIMEL
Tříkomorové All-In-One vaky pro parenterální výživu

- Řada Olimel = celkem 7 variant vaků od 44,1 – 113,9 g aminokyselin (1 070 do 2 270 kCal) [1]
- Olimel N9/N9E má vyšší **obsah bílkovinného dusíku** než jiné komerční vaky [1]
- Olimel N9/N9E má z dostupných komerčních vaků **maximum dusíku v poměru k dávce glukózy** a vody [1]
- Odpovídá ESPEN guidelines pro chirurgii a intenzivní péči [2,3]
- Olimel N9/N9E je proto vhodný ke krytí zvýšených nároků na proteiny a energii u kriticky nemocných [1,2,3]



2016008

1. SPCs OLIMEL N9(E), Kabiven, SmofKabiven, NuTRIflex Lipid/Omega Special.
2. Singer P et al. Clin Nutr. 2009;28:387-400.
3. Braga M et al. Clin Nutr. 2009;28:378-386.

Přípravky řady Olimel/Periolimel jsou charakterizovány obsahem dusíku v 1000 ml (např. Periolimel N4E = 4g N/l, Olimel N7E, N9 = 7 nebo 9 g N/l). Verze s elektrolyty jsou označeny E

Zkrácené informace o léčivých přípravcích OLIMEL/PERIOLIMEL
Názvy přípravků:
PERIOLIMEL N4E; OLIMEL N7E; OLIMEL N9E; OLIMEL N9
Infuzní emulze
Kvalitativní a kvantitativní složení:
Přípravky OLIMEL/PERIOLIMEL jsou dodávány v 3komorových vacích.
Léčivé látky: Olivae et sojae oleum raffinatum, alaninum, argininum, acidum asparticum, acidum glutamicum, glycinum, histidinum, isoleucinum, leucinum, lysinum, methioninum, phenylalaninum, prolinum, serinum, threoninum, tryptophanum, tyrosinum, valinum, natrii acetas trihydricus, natrii glycerophosphas hydricus, kalii chloridum, magnesii chloridum hexahydricum, calcii chloridum dihydricum, glucosum

Obsah v rekonstituované emulzi	PERIOLIMEL N4E	OLIMEL N7E	OLIMEL N7E	OLIMEL N9E	OLIMEL N9E	OLIMEL N9	OLIMEL N9
	Infuzní emulze	Infuzní emulze	Infuzní emulze	Infuzní emulze	Infuzní emulze	Infuzní emulze	Infuzní emulze
	2 000 ml	**1 000 ml**	**2 000 ml**	**1 000 ml**	**2 000 ml**	**1 000 ml**	**2 000 ml**
Lipidy (g)	60	40	80	40	80	40	80
Aminokyseliny (g)	50,6	44,1	88,6	57	113,9	57	113,9
Dusík (g)	8	7	14	9	18	9	18
Glukóza (g)	150	140	280	110	220	110	220
Celková energie (kcal)	1400	1135	2270	1070	2140	1070	2140
Neproteinová energie(kcal)	1200	960	1920	840	1680	840	1680
Neproteinová energie /dusík	150 kcal/g	137 kcal/g	137 kcal/g	93 kcal/g	93 kcal/g	93 kcal/g	93 kcal/g
Sodík (mmol)	42	35	70	35	70	-	-
Draslík (mmol)	32	30	60	30	60	-	-
Hořčík (mmol)	4,4	4	8	4	8	-	-
Vápník (mmol)	4	3,5	7	3,5	7	-	-
Fosfát (mmol)	17	15	30	15	30	3	6
Acetát (mmol)	55	45	89	53,5	107	40	80
Chlorid (mmol)	49	45	90	45	90	-	-
pH, přibližně	6,4	6,4	6,4	6,4	6,4	6,4	6,4
Osmolarita, přibližně	760 mosm/l	1 360 mosm/l	1 360 mosm/l	1310 mosm/l	1310 mosm/l	1170 mosm/l	1170 mosm/l

Terapeutické indikace: Přípravky OLIMEL/PERIOLIMEL jsou indikovány pro parenterální výživu dospělých a dětí starších 2 let v případě, že perorální nebo enterální výživa je nemožná, nedostatečná nebo kontraindikovaná. **Dávkování a způsob podání:** Vzhled směsi po rekonstituci je homogenní mléčně zbarvená emulze. *U dospělých a dětí starších dvou let věku* Dávkování závisí na energetickém výdeji, klinickém stavu pacienta a jeho schopnosti metabolizovat složky přípravků OLIMEL/PERIOLIMEL, jakožto i další energii nebo proteiny podané perorálně/enterálně. Proto je nutné zvolit velikost vaku s ohledem na tělesnou hmotnost pacienta. *Způsob a délka podávání* Díky své nízké osmolaritě je možné přípravek PERIOLIMEL podávat do periferní nebo centrální žíly. Přípravky OLIMEL s vysokou osmolaritou pouze do centrální žíly. Doporučená doba trvání infuze pro parenterální nutriční vak je mezi 12 a 24 hodinami. Pokud se podává přípravek dětem starším než 2 roky, je nezbytné použít vak, jehož objem koresponduje s denním dávkováním. **Kontraindikace:** Podávání přípravků OLIMEL/PERIOLIMEL je kontraindikováno v následujících situacích: nedonošení novorozenci, kojenci a děti mladší 2let, hypersenzitivita na vaječné proteiny, sójové nebo arašídové proteiny nebo na kteroukoli léčivou nebo pomocnou látku přípravku; vrozené abnormality metabolismu aminokyselin; závažná hyperlipidémie nebo závažné poruchy metabolismu lipidů charakterizované hypertriglyceridémií, závažná hyperglykémie. U přípravků s elektrolyty navíc patologicky zvýšená plazmatická koncentrace sodíku, draslíku, hořčíku, vápníku a/nebo fosforu. **Zvláštní upozornění**: Příliš rychlé podání roztoků plné parenterální výživy může vést k závažným nebo fatálním následkům. Infuzi je nutné okamžitě zastavit, pokud se objeví jakékoli abnormální příznaky nebo symptomy alergické reakce (např. pocení, horečka, třesavka, bolest hlavy, kožní vyrážka nebo dyspnoe). K žádné složce vaku ani rekonstituované emulzi nepřidávejte žádný jiný léčivý přípravek nebo látky bez předchozího ověření jejich kompatibility a stability výsledného přípravku (především stability lipidové emulze). Při zahájení intravenózní infuze je vyžadováno specifické klinické monitorování. V průběhu léčby sledujte rovnováhu vody a elektrolytů, osmolaritu séra, sérové triglyceridy, acidobazickou rovnováhu, krevní glukózu, jaterní a ledvinové testy, koagulaci a krevní obraz včetně destiček. Pravidelně je nutné sledovat schopnost těla odstraňovat lipidy. S opatrností se přípravek používá u pacientů s poruchou funkce jater, ledvin, koagulace a anemií a při některých poruchách metabolismu a endokrinního systému. Nepřipojujte vaky do série, aby nedošlo ke vzduchové embolii reziduálním vzduchem obsaženým v primárním vaku. V případě použití periferní žíly u přípravku PERIOLIMEL se může vyvinout tromboflebitida. Místo zavedení katétru je nutné denně sledovat, zda se na něm nevyskytují místní známky tromboflebitidy. **Interakce s jinými léčivými přípravky:** Přípravky OLIMEL/PERIOLIMEL nesmí být podávány současně s krví stejným infuzním setem, neboť hrozí riziko pseudoaglutinace. Přípravky s elektrolyty (obsahující vápník) nesmí být smíchány ani podávány společně s antibiotikem ceftriaxon stejným infuzním setem z důvodu rizika vzniku precipitátů ceftriaxon-vapenatých solí. U pacientů užívajících parenterální výživu byly hlášeny pulmonální vaskulární precipitáty. Nadměrné přidání vápníku a fosfátu zvyšuje riziko tvorby vápenato-fosfátových precipitátů. Přípravky s elektrolyty obsahují draslík. Zvláštní pozornost je třeba věnovat pacientům užívajících draslík šetřící diuretika (např. amilorid, spironolacton, triamterene), inhibitory angiotenzin konvertujícího enzymu (ACE), antagonisty receptoru angiotensinu II nebo imunosupresiva takrolimus nebo cyklosporin z pohledu rizika hyperkalémie. **Nežádoucí účinky:** možné nežádoucí účinky mohou nastat jako následek nevhodného použití (např. předávkování, příliš vysoká rychlost infuze). Na začátku infuze může být kterýkoli z následujících abnormálních příznaků (pocení, horečka, třes, bolest hlavy, kožní vyrážka, dyspnoe) důvodem pro okamžité přerušení podávání infuze. Časté nežádoucí účinky (≥1/100 až <1/10): tachykardie, anorexie, hypertriglyceridémie, bolest břicha, průjem, nauzea, hypertenze. **Podmínky uchovávání:** Uchovávejte v ochranném obalu. Chraňte před mrazem. **Registrační čísla:** 76/389/10-C, 76/384/10-C, 76/385/10-C, 76/387/10-C, 76/388/10-C. **Datum revize:** 26.10.2015. **Držitel rozhodnutí o registraci:** BAXTER CZECH spol. s r.o., Praha, Česká republika
Úplné souhrny informací o léčivých přípravcích OLIMEL/PERIOLIMEL naleznete na www.baxter-vpois.cz
Výdej léčivých přípravků vázán na lékařský předpis.
Přípravky Olimel nejsou hrazeny ze zdravotního pojištění.
Kontakt: BAXTER CZECH spol. s r.o., Karla Engliše 3201/6, Praha 5
Tel. +420 225 774 111

Průvodce mladého onkologa infuzní terapií a výživou

Díl 6 – Hypernatremie. Diagnostika nutričního rizika. Závěr

Beneš P.

Nutriční ambulance, Interní oddělení, Nemocnice Na Homolce, Praha

Minerálové minimum – hypernatremie

Hypernatremie je rovněž častou minerálovou poruchou patrnou ve výsledcích laboratorního vyšetření a značí sérovou koncentraci sodíku nad 145 mmol/l. Symptomatika odpovídá buněčné, zvláště mozkové, dehydrataci – žízeň, apatie, slabost, křeče a různý stupeň poruchy vědomí.

Jako vždy v případě sodíkového iontu vypovídá porucha více o deficitu vody než o nadbytku sodíku. Základem je tedy posoudit stav hydratace, resp. odlišit od časté hypertonické dehydratace méně častou hypertonickou hyperhydrataci. Jednoduchým vodítkem je hemokoncetrace či hemodiluce odhadnutá z nápadně vysoké, nebo naopak nízké hodnoty celkové bílkoviny, hemoglobinu, hematokritu; dalším užitečným údajem je centrální žilní tlak.

Hypertonická dehydratace vzniká ztrátami čisté vody pocením (horečky), průjmy nebo ledvinami – k typickým renálním ztrátám dochází při osmotické diuréze (nekompenzovaný diabetes mellitus, antiedematózní léčba manitolem), ale i při diabetu insipidu. Na vině může být i nedostatečný příjem vody při absenci žízně, např. u starých osob nebo užívání psychotropních léků.

Hypertonická hyperhydratace vzniká iatrogenně z hypertonických infuzí (tzv. fyziologický roztok – FR), ač třeba užívaných jen jako vehikulum k podávání léků, antibiotik, cytostatik.

V léčbě se logicky využívá relativně hypotonický infuzní roztok. Přitom se řídíme stavem hydratace, tedy zda je pacientovi třeba celkově tekutiny doplnit, či naopak odstranit. U hypervolemických nemocných si kromě hypotonické infuze (5% glukóza – G5%) pomůžeme kličkovým diuretikem. Normovolemičtí a zvláště pak hypovolemičtí nemocní jsou léčeni kombinací infuze G5% a FR (0,9% NaCl), které střídáme např. v poměru 2 : 1 nebo 1 : 1, podle potřeby doplnění objemu. Rychlost úpravy hypernatremie nesmí být příliš rychlá (hrozí mozkový edém!) – max. 1 mmol/l/hod, u déle trvající poruchy jen 0,5 mmol/l/hod. Správnou rychlost a poměr G5% : FR určíme (spíše než ze vzorců) empiricky opakovanými laboratorními kontrolami po 4–6 hod.

Nutriční minimum – diagnostika nutričního rizika

To, že nutriční diagnostika podává velmi cennou informaci o prognóze onkologického pacienta, je známo přes tři desítky let [1]. Dnes již dokážeme stanovit z kombinace aktuálního BMI a relativní ztráty hmotnosti i grading malnutrice (G0–G4), který úzce koreluje s mediánem očekávaného přežití [2].

V každodenní klinické praxi je ale důležitější než diagnostika manifestní podvýživy včasné rozpoznání tzv. **nutričního rizika**. Jako jeho indikátory se používají základní anamnestické a antropometrické údaje (tab. 1).

Důležitým doplňujícím indikátorem je označení situace, která zvyšuje vnímavost k negativním důsledkům podvýživy. Takovou situací jsou **vyšší věk a závažná interkurentní onemocnění**. V onkologii přibývá ještě samostatný indikátor – nutričně riziková diagnóza a/nebo nutričně riziková léčba, které vycházejí ze zkušenosti s obdobnými stavy.

Mezi typické **nutričně rizikové diagnózy** řadíme nádory hlavy a krku, jícnu,

Tato aktualita byla podpořena společností Baxter.

MUDr. Petr Beneš
Nutriční ambulance
Interní oddělení
Nemocnice Na Homolce
Roentgenova 2
150 30 Praha 5
e-mail: Petr.Benes@homolka.cz

Obdrženo/Submitted: 31. 10. 2016

Tab. 1. Základní anamnestické a antropometrické údaje.

Indikátor	Kritérium patologie	Vysvětlující poznámka
úbytek hmotnosti	≥ 5 % výchozí váhy za minulé 3 měsíce	hodnotí předchozí trend
aktuální hmotnost	BMI < 20 kg/m^2 BMI < 22 kg/m^2 od 65 let výše	hodnotí aktuální stav
nízký příjem stravy	< 2/3 běžné porce po minulé 2 týdny	předvídá budoucí trend

žaludku, žlučových cest, pankreatu, pokročilé nádory kolorekta, nádory utlačující gastrointestinální trakt (nádory mediastina/břicha vč. lymfomů), nádory plic s výjimkou lokalizovaných a nádory generalizované s celkovými příznaky (horečky, pocení, úbytek váhy).

Za **nutričně rizikovou léčbu** považujeme chemoterapii vyvolávající mukozitidu zažívacího traktu, středně a vysoce emetogenní chemoterapii, radioterapii oblasti dutiny ústní, krku, jícnu a epigastria, veškeré tzv. velké operace plánované v blízké době, multimodální protinádorovou léčbu a konkomitantní chemo/radioterapii.

Pro náročné podmínky práce onkologa v ČR byl sestaven jednoduchý Dotazník hodnocení nutričního rizika Pracovní skupiny nutriční péče v onkologii při České onkologické společnosti (ČOS), s jehož pomocí byl opakovaně měřen výskyt podvýživy v populaci onkologických pacientů v ČR. Tento dotazník je doporučen ČOS a vyplněný a v dokumentaci založený je jediným oficiálním dokumentem, kterým onkolog dokazuje zdravotní pojišťovně oprávněnost jím předepsaného ambulantního sippingu. Dotazník vč. vysvětlujících pokynů je volně ke stažení na www.linkos.cz/ /files/Dotaznik_nutricniho_rizika.pdf.

Závěr nutričního miniseriálu 2016

Namísto kazuistiky, kterou jste si v těchto místech navykli číst a kterých jsme v uplynulých několika ročnících Klinické onkologie prezentovali ke dvěma desítkám, naleznete tentokrát **10 bodů**, jejichž reflexe na onkologických pracovištích může pozdvihnout nutriční péči na žádoucí úroveň.

1. Rozvoj významné podvýživy je u onkologických nemocných **častý** a tento fakt dokazují i opakované plošné průzkumy nutričního rizika této skupiny pacientů.
2. Podvýživa má jasný vztah k **prognóze** onkologického pacienta, přičemž tzv. grading malnutrice přímo koreluje s mediánem očekávaného přežití.
3. Podvýživa, zvláště v oblasti beztukové tělesné hmoty, má dopad nejen na kvalitu života a performance status nemocných, ale zhoršuje i **toleranci protinádorové léčby**.
4. Podvýživa je častým vedlejším následkem protinádorové léčby a i z pohledu **iatrogenity** si tak zaslouží aktivní intervenci.
5. Série různých protinádorových intervencí vede k progresi malnutrice, která je v pokročilých stadiích řešitelná obtížněji, nákladněji a méně úspěšně než v počátečních stadiích. Proto je cílem včasný záchyt nemocných již v tzv. **prekachexii** a toto je důvodem k provádění **vstupního nutričního screeningu**.
6. V týmu každého onkologického pracoviště je přítomen **nutriční terapeut**.
7. V týmu každého onkologického pracoviště je přítomen onkolog s nadstavbovou nutriční licencí (tzv. **licence F016**), která jej opravňuje k předpisu umělé výživy i nad rámec dostupný každému onkologovi.
8. Každé onkologické pracoviště úzce spolupracuje s nejbližší **nutriční ambulancí** a v zájmu dodržení časového harmonogramu léčby v něm mají jeho pacienti zajištěny přednostní termíny.
9. Onkologické pracoviště má zajištěný tým k zřizování **permanentních centrálních žilních vstupů** a na úrovni sesterské dokonale zvládnutou péči o tyto vstupy, vč. specifik pro parenterální výživu.
10. Lůžkové onkologické oddělení má k dispozici **stabilní jednoduché portfolio umělé výživy**, konkrétně:
    - koncentrovaný (od 2 kcal/1 ml výše) maloobjemový proteinový sipping,
    - polymerní enterální výživu 1,5 kcal/ /1 ml s vlákninou (tzv. energy fibre),
    - parenterální all-in-one vaky o objemu 1 000 ml s pevným časovým řádem k aplikaci (např. od 20:00 do 06:00).

Za celý kolektiv autorů nutričně orientovaných příspěvků v předešlých ročnících Klinické onkologie děkuji laskavému čtenáři za trvalou pozornost a doufám, že mu publikované rady i kazuistické příklady posloužily jako užitečná inspirace k vlastní práci.

Literatura

1. Dewys WD, Begg C, Lavin PT et al. Prognostic effect of weight loss prior to chemotherapy in cancer patients. Am J Med 1980; 69(4): 491–497.
2. Martin L, Senesse P, Gioulbasanis I et al. Diagnostic criteria for the classification of cancer-associated weight loss. J Clin Oncol 2015; 33(1): 90–99. doi: 10.1200/JCO.2014.56.1894.

Informace z České onkologické společnosti

Zápisy ze schůzí výboru České onkologické společnosti konaných 18. 10. 2016 v MOÚ v Brně a 22. 11. 2016 ve FN Motol v Praze naleznete na **www.linkos.cz.**

Podpořte činnost České onkologické společnosti!

„Fond České onkologické společnosti ČLS JEP pro vědu, vzdělávání a propagaci“ byl založen výborem ČOS ČLS JEP za účelem získávání finančních prostředků pro:

1. **Podpora vydávání a distribuce doporučených postupů „Modrá kniha ČOS“, časopisu Klinická onkologie a provozu internetových stránek ČOS „www.linkos.cz“.**
2. **Podpora a propagace Národního onkologického programu ČR.**
3. **Podpora a propagace vzdělávání a výzkumu v onkologii (včetně akademických klinických studií) v ČR.**

Fond existuje v podobě samostatného nákladového střediska České onkologické společnosti v rámci účetnictví České lékařské společnosti ČLS JEP, které je ČOS ČLS JEP organizační součástí. To zaručuje maximální transparentnost a kontrolu hospodaření fondu a současně nevytváří žádné dodatečné náklady na provoz. O použití finančních prostředků rozhoduje Výbor ČOS ČLS JEP.

Finanční prostředky na tento Fond lze poukázat nejlépe cestou darovací smlouvy, přičemž účel použití darovaných prostředků může být přesně specifikován, nad rámec uvedený výše.

Bankovní spojení: ČSOB, číslo účtu: 500 617 613/0300
Variabilní symbol Fondu ČOS pro vědu, vzdělávání a propagaci: 503002

Děkujeme!

doc. MUDr. Jana Prausová, Ph.D., MBA
předsedkyně ČOS ČLS JEP

MUDr. Tomáš Svoboda, Ph.D.
pokladník ČOS ČLS JEP

Česká onkologická společnost ČLS JEP

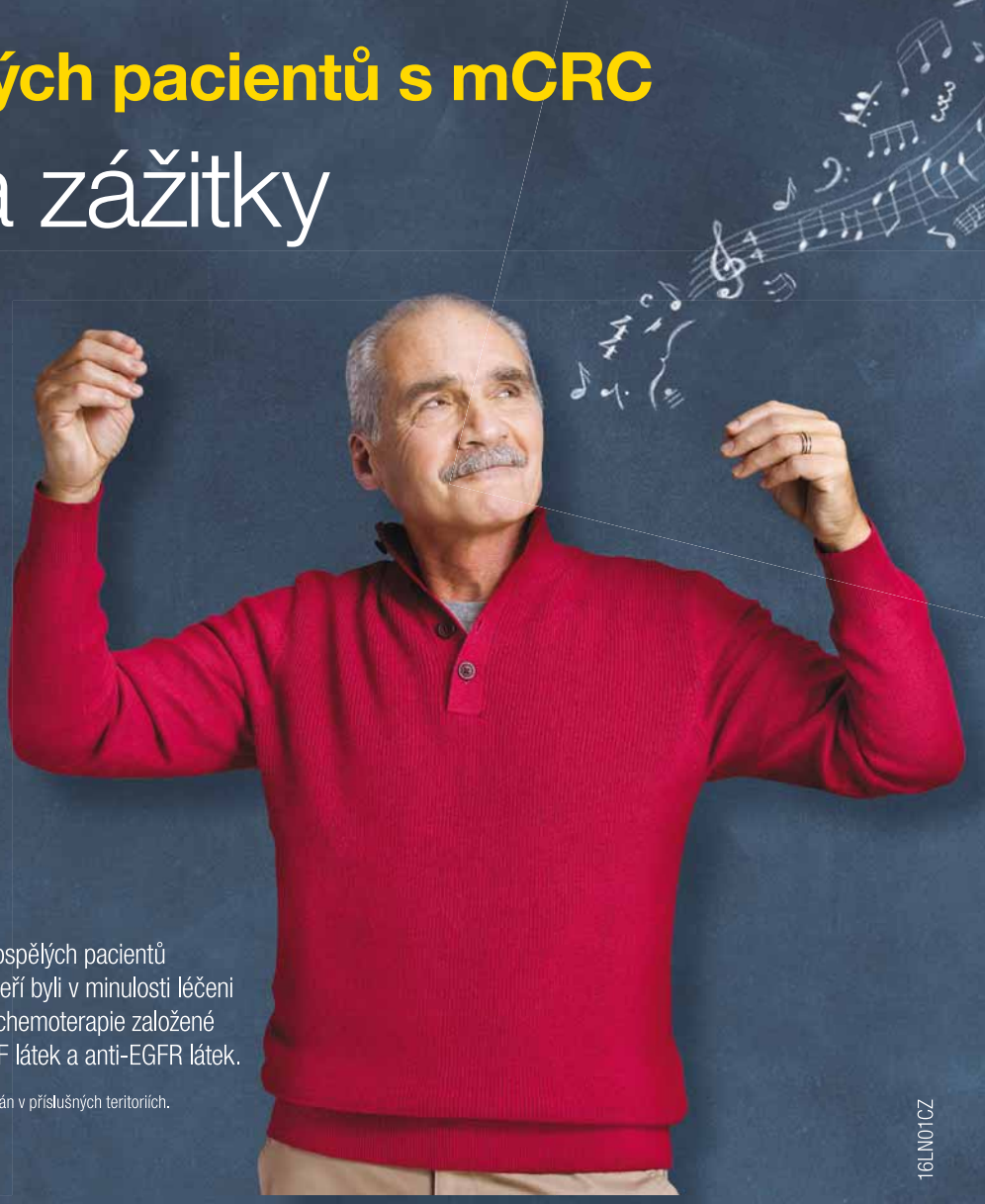
www.linkos.cz

Léčba předléčených pacientů s mCRC

Více času na zážitky

Lonsurf®

trifluridin/tipiracil



Změňte budoucnost vašich pacientů s mCRC

LONSURF® (trifluridin/tipiracil) je indikován pro léčbu dospělých pacientů s metastazujícím kolorektálním karcinomem (mCRC), kteří byli v minulosti léčeni nebo nejsou vhodnými kandidáty pro terapie zahrnující chemoterapie založené na fluoropyrimidinu, oxaliplatině a irinotekanu, anti-VEGF látek a anti-EGFR látek.

LONSURF® je vyvíjen společnostmi Servier a Taiho, a na základě licence obchodován v příslušných teritoriích.

TAIHO PHARMACEUTICAL CO., LTD. SERVIER

16LN01CZ

Zkrácená informace o přípravku Lonsurf®: ▼ Tento léčivý přípravek podléhá dalšímu sledování. **SLOŽENÍ*:** Lonsurf 15 mg/6,14 mg: jedna potahovaná tableta obsahuje trifluridinum 15 mg a tipiracilum 6,14 mg (jako tipiracili hydrochloridum). Lonsurf 20 mg/8,19 mg: jedna potahovaná tableta obsahuje trifluridinum 20 mg a tipiracilum 8,19 mg (jako tipiracili hydrochloridum). **INDIKACE*:** Léčba dospělých pacientů s metastazujícím kolorektálním karcinomem, kteří byli v minulosti léčeni nebo nejsou vhodnými kandidáty pro dostupné terapie zahrnující chemoterapie založené na fluoropyrimidinu, oxaliplatině a irinotekanu, anti-VEGF látek a anti-EGFR látek. **DÁVKOVÁNÍ A ZPŮSOB PODÁNÍ*:** *Dávkování:* Doporučená úvodní dávka je 35 mg/m^2/dávku, podávaných perorálně dvakrát denně 1. až 5. den a 8. až 12. den každého 28denního cyklu do 1 hodiny po ranním a večerním jídle. Dávkování přípravku se počítá podle plochy povrchu těla a nesmí překročit 80 mg v 1 dávce. Úpravy dávkování jsou možné podle individuální bezpečnosti a snášenlivosti: jsou povoleny 3 snížení dávky na minimální hodnotu dávky 20 mg/m^2 dvakrát denně, zvýšení dávky není povoleno poté, co byla snížena. **KONTRAINDIKACE*:** Hypersenzitivita na léčivé látky nebo na kteroukoli pomocnou látku. **ZVLÁŠTNÍ UPOZORNĚNÍ*:** Útlum kostní dřeně. Před zahájením terapie, a dále v intervalech potřebných k monitorování toxicity je nutno provádět vyšetření kompletního krevního obrazu, minimálně však před každým léčebným cyklem. Léčba nesmí být zahájena, je-li absolutní počet neutrofilů $< 1{,}5 \times 10^9$/l, počet trombocytů $< 75 \times 10^9$/l, nebo pokud má pacient nevyřešenou klinicky významnou nehematologickou toxicitu stupně 3 nebo 4 z předchozí léčby. Stav pacienta je třeba pečlivě sledovat a, je-li to klinicky indikováno, mají být nasazena adekvátní opatření. *Gastrointestinální toxicita:* antiemetika, léky proti průjmu a další opatření mají být nasazena, je-li to klinicky indikováno, úpravy dávkování (odložení a/nebo snížení) se mají aplikovat tak, jak je třeba. *Porucha funkce ledvin:* přípravek Lonsurf se nedoporučuje u pacientů s těžkou poruchou funkce ledvin nebo terminálním stadiem onemocnění ledvin. Pacienti se středně těžkou poruchou funkce ledvin by měli být častěji monitorováni kvůli hematologické toxicitě. *Porucha funkce jater:* přípravek Lonsurf se nedoporučuje k použití u pacientů se středně těžkou nebo těžkou poruchou funkce jater. *Proteinurie:* doporučuje se sledovat proteinurii za pomoci diagnostického proužku pro analýzu moči před zahájením a během léčby. *Intolerance laktosy:* Přípravek Lonsurf obsahuje laktosu. **INTERAKCE*:** Opatrnosti je zapotřebí při používání léčivých přípravků, které jsou substráty pro nukleosidové transportéry CNT1, ENT1 a ENT2, inhibitory OCT2 a MATE1, a substráty lidské thymidin-kinázy (zidovudin). **FERTILITA*: TĚHOTENSTVÍ A KOJENÍ*:** Nedoporučuje se. **ANTIKONCEPCE*:** Muži i ženy musí používat účinnou antikoncepci v průběhu léčby a ještě 6 měsíců po ukončení léčby. ÚČINKY NA SCHOPNOST ŘÍDIT A OBSLUHOVAT STROJE*: Během léčby může být pozorována únava, závratě nebo malátnost. **NEŽÁDOUCÍ ÚČINKY*:** *Velmi časté:* Neutropenie, leukopenie, anemie, trombocytopenie, snížená chuť k jídlu, průjem, nauzea, zvracení, únava. Časté: Infekce dolních cest dýchacích, infekce horních cest dýchacích, febrilní neutropenie, lymfopenie, monocytóza, hypalbuminémie, insomnie, dysgeuzie, periferní neuropatie, závrať, bolest hlavy, zčervenání, dušnost, kašel, bolest břicha, zácpa, stomatitida, orální poruchy, hyperbilirubinémie, syndrom palmoplantární erytrodysestézie, vyrážka, alopecie, pruritus, suchá kůže, proteinurie, pyrexie, edém, zánět sliznic, malátnost, zvýšená hladina jaterních enzymů, zvýšená hladina alkalické fosfatázy v krvi, snížení tělesné hmotnosti. *Méně časté:* Septický šok, střevní infekce, plicní infekce, infekce žlučových cest, chřipka, infekce močových cest, infekce dásní, herpes zoster, tinea pedis, kandidóza, bakteriální infekce, infekce, nádorová bolest, pancytopenie, granulocytopenie, monocytopenie, erytropenie, leukocytóza, dehydratace, hyperglykémie, hyperkalémie, hypokalémie, hypofosfatémie, hypernatrémie, hyponatrémie, hypokalcémie, dna, úzkost, neurotoxicita, dysestézie, hyperestézie, hypestézie, synkopa, parestézie, pocit pálení, letargie, snížení zrakové ostrosti, rozostřené vidění, diplopie, katarakta, konjunktivitida, suché oči, vertigo, ušní dyskomfort, angina pectoris, arytmie, palpitace, embolie, hypertenze, hypotenze, plicní embolie, pleurální výpotek, rinorea, dysfonie, orofaryngeální bolest, epistaxe, hemoragická enterokolitida, gastrointestinální krvácení, akutní pankreatitida, ascites, ileus, subileus, kolitida, gastritida, refluxní gastritida, ezofagitida, porucha vyprazdňování žaludku, abdominální distenze, anální zánět, ulcerace v ústech, dyspepsie, gastroesofageální refluxní nemoc, proktalgie, bukální polyp, krvácení dásní, glositida, periodontální nemoc, onemocnění zubu, říhání, flatulence, zápach z úst, hepatotoxicita, biliární dilatace, olupování kůže, kopřivka, fotosenzitivní reakce, erytém, akné, hyperhidróza, puchýře, porucha nehtů, otok kloubů, artralgie, bolest kostí, myalgie, svalová a kosterní bolest, svalová slabost, svalové křeče, bolest končetin, pocit tíhy, renální selhání, neinfekční cystitida, porucha mikce, hematurie, leukocyturie, menstruační porucha, zhoršení celkového tělesného zdravotního stavu, bolest, pocit změn tělesné teploty, xeróza, zvýšená hladina kreatininu v krvi, elektrokardiogram: prodloužený interval QT, zvýšení INR, prodloužení APTT, zvýšená hladina urey v krvi, zvýšená hladina laktátdehydrogenázy v krvi, pokles celkové hladiny proteinů, vzestup C-reaktivního proteinu, pokles hematokritu. *Post-marketingové zkušenosti:* hlášeny případy intersticiálního plicního onemocnění u pacientů v Japonsku. **PŘEDÁVKOVÁNÍ* VLASTNOSTI*:** Trifluridin je antineoplastický analog nukleosidů založený na thymidinu a tipiracil-hydrochlorid je inhibitor thymidin-fosforylázy (TPázy). Po zachycení nádorovými buňkami je trifluridin fosforylován thymidin-kinázou, dále metabolizován v buňkách na substrát kyseliny deoxyribonukleové (DNA) a přímo inkorporován do DNA, čímž narušuje funkci DNA a brání proliferaci buněk. Po perorálním podání je však trifluridin rychle rozkládán TPázou a ihned metabolizován efektem prvního průchodu, proto je do složení přidán inhibitor TPázy, tipiracil-hydrochlorid. **PODMÍNKY UCHOVÁVÁNÍ*:** Nevyžaduje žádné zvláštní podmínky uchovávání. **BALENÍ*:** Balení obsahuje 20, 40 nebo 60 potahovaných tablet. **Datum poslední revize textu:** 04/2016. **Registrační číslo:** EU/1/16/1096/001-006. **Držitel registračního rozhodnutí:** Les Laboratoires Servier, 50 rue Carnot, 92284 Suresnes cedex, Francie. Před předepsáním přípravku si přečtěte Souhrn údajů o přípravku. Výdej léčivého přípravku je vázán na lékařský předpis. Přípravek není k dispozici v lékárnách. Přípravek není hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění, viz Seznam cen a úhrad léčivých přípravků: http://www.sukl.cz/sukl/seznam-leciv-a-pzlu-hrazenych-ze-zdrav-pojisteni. **Další informace** lze vyžádat na adrese Servier s.r.o., Na Florenci 2116/15, 110 00 Praha 1, tel.: (+420) 222 118 111, www.servier.cz

** pro úplnou informaci si prosím přečtěte celý Souhrn údajů o přípravku*

Konsenzuální doporučené postupy ESMO pro léčbu pacientů s metastatickým kolorektálním karcinomem

Tlapáková J.

Redakce AM Review, Praha

Tato aktualita byla podpořena společností Servier.

Jana Tlapáková
Redakce AM Review
Ambit Media, a. s.
Klicperova 604/8
150 00 Praha 5
e-mail: jana.tlapakova@ambitmedia.cz

Obdrženo/Submitted: 4. 11. 2016

Nedávno byla publikována nová verze konsenzuálních guidelines European Society for Medical Oncology (ESMO), která vznikla na základě aktuálně dostupných důkazů a jež má napomoci při léčbě a péči o pacienty s metastatickým kolorektálním karcinomem (metastatic colorectal cancer – mCRC).

Prof. Petruželka: Co nejvýznamnějšího guidelines přinášejí?

Prof. MUDr. Luboš Petruželka, CSc., přednosta Onkologické kliniky 1. LF UK a VFN v Praze, považuje za zásadní zdůraznění významu funkčních multidisciplinárních týmů (MDT), které jsou podmínkou optimálního výběru léčebné strategie. Členy MDT jsou chirurg erudovaný v peritoneálním přístupu a hepatobiliární chirurg – a pokud je třeba, pak i plicní chirurg. Obligatorní součástí MDT je patolog, radiolog a onkologové s erudicí interní a radiační onkologie. S nárůstem využívání lokoregionálních modalit vzrůstá potřeba přítomnosti intervenčního radiologa a odborníka pro nukleární medicínu. V ideální situaci by měli být pacienti soustřeďováni do specializovaných center, pokud to není možné, měla by být definována spolupráce s takovými centry, tedy virtuální MDT. Každý MDT by měl mít možnost vkládat do místního nebo národního registru nemocné s neobvyklým průběhem nemoci a řešením jejich diagnózy. MDT by se měl podílet na iniciální rozvaze, stagingu a celém diagnosticko-terapeutickému rozhodovacím procesu na začátku léčby i v jejím průběhu. Zdůrazněno je pravidelné vyhodnocení možnosti integrace lokoregionálních ablačních metod.

Klíčovým rozhodnutím MDT je určit, zda se jedná o iniciálně jednoznačně resekabilní, nebo o neresekabilní onemocnění, a vyhodnotit možnost resekce při synchronních metastázách či při oligometastatickém onemocnění (OMD). U nemocných vyhodnocených jako definitivně neresekabilní je návrh další léčby zodpovědností interních onkologů po diskuzi s MDT. Zařazení OMD jako samostatné problémové jednotky mCRC je jednoznačným signálem o nutnosti vyčlenit toto onemocnění a použít odlišnou strategii léčby. OMD je charakterizováno lokalizací choroby v omezeném počtu metastatických ložisek, u kterých přináší lokoregionální terapie zlepšení léčebného výsledku. Iniciální léčbou je systémová terapie.

Pokud se týká základních režimů chemoterapie – FOLFOX, FOLFIRI a CAPOX – v kombinaci s cílenou léčbou (cetuximabem, panitumumabem/bevacizumabem, afliberceptem, ramucirumabem) nedochází k zásadním změnám. Novou plně akceptovanou kombinací zejména pro konverzní léčbu je FOLFOXIRI + bevacizumab. Nově se mezi léčebnými metodami objevuje hypertermická peritoneální chemoterapie (HIPEC). Chirurgickou cytoredukci a HIPEC lze zvažovat u nemocných s limitovaným peritoneálním postižením ve specializovaných centrech, která mají klinické zkušenosti s touto metodou.

MUDr. Tomášek: Jak se mění paradigma vyšších linií léčby mCRC?

Podle MUDr. Jiřího Tomáška, Ph.D., z Kliniky komplexní onkologické péče Masarykova onkologického ústavu, Brno, je klinický obraz pacientů s mCRC velmi různorodý. S velkou mírou zjednodušení lze říci, že jsou nádory „hodné", které se neprojevují žádnými symptomy, a potíže způsobuje maximálně vlastní protinádorová léčba. Na druhé straně jsou nádory „zlé", které provází celé spektrum možných komplikací. Existuje velká skupina pacientů, kteří postupně procházejí 1., 2. nebo i 3. linií léčby a nakonec jsou u nich vyčerpány obvyklé možnosti cytostatické a také cílené léčby. Významná část z nich je v dobrém výkonnostním stavu a má zájem o další protinádorovou terapii. Reálným cílem v pozdějších liniích léčby je udržení nemoci pod kontrolou ve smyslu pozastavení, udržení kvality života a výkonnostního stavu.

Je nutné zmínit, že pokroky v léčbě mCRC se neodehrávají po velkých skocích, ale naopak po malých krocích, což lze vyjádřit jako zlepšování celkového přežití nebo přežití bez progrese vždy o několik málo měsíců. Zřetězení těchto malých kroků ale vede k přežití v mediánu kolem 2,5 roku, což znamená, že polovina pacientů žije déle než zmíněnou dobu. Na tomto pokroku se podílí také léčba ve vyšších liniích. V běžné praxi se již řadu měsíců využívá perorální multikinázový inhibitor regorafenib, který v klinické studii fáze III prokázal zlepšení celkového přežití a také udržení kvality ži-

vota proti placebu. Tento lék má ale významnou toxicitu, což vede k určitým pochybám, zda je doporučené dávkování 160 mg/den celkem 21 dnů s následnou pauzou 7 dnů optimální. V ESMO doporučeních je zmíněno, že v některých regionech lékaři často zahajují léčbu nižší dávkou, kterou podle tolerance eskalují. Patří sem i ČR. Je nutné také zmínit, že výsledky z reálné praxe v ČR jsou lepší proti registrační studii regorafenibu. Vyplývá to z analýzy registru CORECT.

Novým přípravkem, který prokázal účinnost u pacientů s jinak vyčerpanou léčbou, je perorální kombinovaný lék trifluridin a tipiracil. Ten vede k obdobnému prodloužení celkového přežití jako regorafenib, ale má příznivější profil nežádoucích účinků. Významná je hematologická toxicita, nehematologické nežádoucí účinky jsou málo významné. Vzhledem k špatné prognóze pacientů je benefit z léčby relativně vysoký, signifikantní je oddálení zhoršení výkonnostního stavu proti placebu a účinnost ve všech podskupinách pacientů, jak byly definovány v registrační studii. Kombinovaný lék trifluridin a tipiracil tedy bude další dobrou léčebnou možností pro naše pacienty s mCRC.

Vybíráme z konsenzuálních doporučených postupů ESMO pro léčbu pacientů s mCRC

Souhrn doporučení pro léčbu metastatického onemocnění

Doporučení 18: 1. linie kombinované systémové léčby v závislosti na použití cíleného léku

- Biologika (cílené léky) jsou indikována v 1. linii léčby u většiny pacientů, pokud neexistuje kontraindikace [I, A].
- Anti-VEGF protilátka bevacizumab by měla být používána v kombinaci s:
  - cytotoxickými dublety FOLFOX/ /CAPOX/FOLFIRI;
  - cytotoxickým tripletem FOLFOXIRI u vybraných motivovaných pacientů v dobré kondici, kde je cytoredukce (zmenšení nádoru) cílem, a potenciálně také u pacientů v dobré kondici s mutací *BRAF* [II, B];
  - se samotným fluoropyrimidinem u pacientů, kteří netolerují agresivní léčbu [I, B].
- Anti-EGFR protilátky by měly být používány v kombinaci s:
  - FOLFOX/FOLFIRI [I, A];
  - naopak by neměly být kombinovány s režimy na bázi kapecitabinu a bolusové aplikace 5-FU [I, E].

Doporučení 19: Udržovací léčba

- U pacientů užívajících jako indukční léčbu FOLFOX nebo CAPOX + terapii na bázi bevacizumabu by měla být zvažována udržovací léčba po šesti cyklech CAPOX nebo osmi cyklech FOLFOX. Optimální udržovací léčbu představuje kombinace s fluoropyrimidinem (+ bevacizumabem). Bevacizumab v monoterapii se nedoporučuje [I, B].
- Pacienti užívající FOLFIRI mohou pokračovat minimálně v indukční léčbě tak dlouho, dokud pokračuje redukce velikosti nádoru a léčba je tolerovatelná [V, B].
- U pacientů, kteří dostávali iniciálně FOLFOXIRI ± bevacizumab, může být jako udržovací léčba zvažována kombinace fluoropyrimidinu + bevacizumabu (jako tomu bylo v pilotních studiích zkoumajících FOLFOXIRI).
- U pacientů, kteří dostávali iniciálně monoterapii fluoropyrimidinem (+ bevacizumabem), by měla být zachována indukční léčba [V, A]. Nezbytná je ovšem individualizace a diskuze s pacientem [V, A].
- Při radiologické progresi nebo při prvních známkách zhoršení symptomů musí být znovu nasazena iniciální indukční terapie nebo 2. linie léčby. V případě 2. linie by mělo být opětovné nasazení iniciální indukční terapie součástí komplexní strategie tak dlouho, dokud se neprojeví reziduální toxicita [III, B].

Doporučení 20: 2. linie kombinované léčby s cílenými léky

- U pacientů, kteří dosud neužívali bevacizumab, je třeba v 2. linii zvážit antiangiogenní léčbu (bevacizumab nebo aflibercept) [I, A]. Použití afliberceptu by mělo být omezeno na kombinaci s FOLFIRI, a to u pacientů progredujících při režimu obsahujícím oxaliplatinu [I, A].
- U pacientů, kteří dostávali bevacizumab v 1. linii, by měla být zvažována léčba:
  - bevacizumabem kontinuálně [I, A];
  - afliberceptem nebo ramucirumabem (v kombinaci s FOLFIRI), pokud byli léčeni v 1. linii režimem s oxaliplatinou [I, A];
  - anti-EGFR protilátkami v kombinaci s FOLFIRI/irinotekanem v případě onemocnění *RAS* wild type (*BRAF* wild type);
  - relativní výhoda anti-EGFR protilátek je v pozdějších liniích podobná jako ve 2. linii [II, A].
- U pacientů, kteří rychle progredují při režimu s bevacizumabem v 1. linii, by měla být zvažována léčba afliberceptem nebo ramucirumabem (pouze v kombinaci s FOLFIRI) [II, B], a v případě pacientů s onemocněním *RAS* wild type a dosud neléčených anti-EGFR terapií pak léčba anti-EGFR protilátkami, pokud možno v kombinaci s chemoterapií [II, B].

Doporučení 21: 3. linie léčby

- U pacientů s onemocněním *RAS* wild type a *BRAF* wild type, kteří dosud nebyli léčeni anti-EGFR protilátkami, by měla být zvažována léčba cetuximabem nebo panitumumabem:
  - cetuximab a panitumumab jsou v monoterapii stejně účinné [I, A];
  - u pacientů refrakterních k irinotekanu je efektivnější kombinace cetuximabu + irinotekanu než samotný cetuximab [II, B];
  - neexistuje žádný jednoznačný důkaz pro podávání alternativní anti-EGFR protilátky, pokud je pacient refrakterní k jedné z nich [I, C].
- Regorafenib je doporučován u pacientů předléčených fluoropyrimidinem, oxaliplatinou, irinotekanem, bevacizumabem a u pacientů s onemocněním *RAS* wild type dříve léčených anti-EGFR protilátkami [I, B]:
  - pokud jde o celkové přežití, regorafenib je superiorní vůči placebu, ačkoli existují obavy týkající se toxicity u křehkých pacientů.
- Trifluridin/tipiracil je novou možností terapie u pacientů předléčených fluoropyrimidinem, oxaliplatinou, irinotekanem, bevacizumabem a u pacientů s onemocněním *RAS* wild type dříve léčených anti-EGFR protilátkami [I, B].

Převzato z AM Review 19–20/2016 – redakčně zkráceno.

Aktuality z odborného tisku

Association of Polymorphisms in *FCGR2A* and *FCGR3A* with Degree of Trastuzumab Benefit in the Adjuvant Treatment of ERBB2/HER2-positive Breast Cancer Analysis of the NSABP B-31 Trial

Gavin GP, Song N, Kim R et al.
JAMA Oncol 2016. Published online November 3, 2016. doi:10.1001/jamaoncol.2016.4884. PubMED PMID: 27812689.

Z výsledků analýzy studie NSABP B-31, které se účastnilo 1 251 pacientek, vyplývá, že na základě polymorfizmu *FCGR3A-158* můžeme predikovat efekt trastuzumabu v adjuvantní léčbě žen s ERBB2/HER2-pozitivním karcinomem prsu. V mechanizmu účinku trastuzumabu hraje významnou úlohu protilátkami zprostředkovaná imunita (antibody-dependent cellular cytotoxicity – ADCC), *in vitro* byl větší cytotoxický efektu trastuzumabu zprostředkovaný ADCC popsán v případě genotypu F*CGR3A-158* (V/V) a *FCGR2A-131* (H/H). Výzkumný tým autorů se zaměřil právě na tyto dva genotypy ve všech dostupných vzorcích krve pacientek účastnících se studie z NSABP B-31, aby ověřil, zda ženy s karcinomem prsu s *FCGR3A-158* V/V nebo *FCGR3A-158* V/F mají vyšší efektivitu trastuzumabu než ženy s genotypem *FCGR3A-158* F/F. *FCGR3A-158* single-nukleotidový polymorfizmus nebyl spojen s postižením lymfatických uzlin, pozitivitou estrogenového nebo progesteronového receptoru, velikostí nádoru nebo rasou. Pacientky s V/V genotypem měly z podání trastuzumabu největší prospěch, heterozygotní pacienti F/V měli efektivitu střední (HR 0,31; 95% CI 0,22–0,43; p < 0,001), nejmenší prospěch pak měly pacientky s genotypem F/F (HR 0,71; 95% CI 0,51–1,01; p = 0,05). V léčebných ramenech, která nezahrnovala podání trastuzumabu, měli pacienti s *FCGR3A-158* V/F nebo V/V horší prognózu než ti s genotypem F/F. Na rozdíl od těchto výsledků nebyl žádný rozdíl v účinnosti trastuzumabu v závislosti na genotypu *FCGR2A-131*. V komentáři ke studii autoři uvádějí, že Fc fragment monoklonálních protilátek, jako je trastuzumab, by mohl být znovu navržen tak, aby zvýšil afinitu pro různé inhibiční a aktivační *FCGR* allelotypy. Jednotlivé změny aminokyselin na vazebném místě protilátky tak mohou silně ovlivnit vazebnou sílu trastuzumabu. Tato studie podporuje hypotézu, že ADCC aktivita hraje důležitou roli v jeho efektivitě. V době, kdy imunoterapie ukazuje konkrétní přínosy pro jednotlivé pacienty se zhoubnými nádory, mohou spolehlivé imunogenetické biomarkery představovat užitečné nástroje pro přesnější přizpůsobení možností terapie.

PANCREOX: a Randomized Phase III Study of Fluorouracil/Leucovorin with or without Oxaliplatin for Second-line Advanced Pancreatic Cancer in Patients who Have Received Gemcitabine-based Chemotherapy

Gill S, Ko YJ, Cripps Ch et al.
J Clin Oncol 2016; 34(32): 3914–3920. doi: 10.1200/JCO.2016.68.5776. PubMED PMID: 27621395.

Standardní terapie 2. linie pro pacienty s pokročilým adenokarcinomem pankreatu zatím není jednoznačně definována. V roce 2014 byly publikovány výsledky studie fáze III CONKO-003, v níž bylo dokumentováno delší přežití při podání kombinace fluorouracilu (FU) a oxaliplatiny. Cílem multicentrické studie fáze III PANCREOX bylo zhodnotit efekt podání FU a oxaliplatiny v režimu modifikovaného FOLFOX6 (mFOLFOX6) vs. infuzní podání FU/leukovorin (LV). Hodnoceno bylo celkem 108 pacientů s verifikovaným karcinomem pankreatu, v předchozím období léčených gemcitabinem. Nebyl zaznamenán rozdíl v přežití bez progrese (medián 3,1 vs. 2,9 měsíce; p = 0,99). Celkové přežití pak bylo nižší u pacientů léčených mFOLFOX6 (medián 6,1 vs. 9,9 měsíce; p = 0,02). Naopak toxicita v rameni s oxaliplatinou byla větší, grade 3–4 byl pozorován u 63 % nemocných léčených mFOLFOX6 a u 11 % z těch, kteří dostávali FU/LV. Ze studie muselo být vyřazeno 20 % pacientů léčených mFOLFOX6 pro významné nežádoucí účinky (20 vs. 2 %). Dle závěru autorů nebyl pozorován přínos po přidání oxaliplatiny podávané v kombinaci s mFOLFOX6 proti infuzní terapii FU/LV u pacientů s pokročilým karcinomem pankreatu dříve léčených v 1. linii gemcitabinem.

Cancer Drugs, Survival, and Ethics

Wise PH
BMJ 2016; 355: i57922016. doi: 10.1136/bmj.i5792.

Zajímavý komentář na téma systémové onkologické léčby, nákladů na ni a přežití pacientů uveřejnil časopis BMJ online na svých webových stránkách. Autor se zamýšlí nad efektivitou, finančními náklady a etickými aspekty léčby pacientů novými preparáty

v inkurabilních stadiích onemocnění. Mnohé z těchto nových léků jsou však velmi drahé, s náklady více než 100 000 $ ročně. Autor se domnívá, že by tyto prostředky mohly směřovat spíše k intenzivnější prevenci, časné detekci a rychlejší a radikální léčbě lokalizovaného onemocnění a zahájení časnější a vysoce kvalifikované podpůrné léčby. Pacienti dle něj přeceňují potenciální benefit těchto preparátů. Podle studie publikované v roce 2012 téměř 75 % z 1 200 pacientů s metastatickým kolorektálním karcinomem a karcinomem plic považovalo své onemocnění za vyléčitelné (N Eng J Med 2012; 367(17): 1616–1625). V jiné studii byla hodnocena informovanost pacientů o přínosu terapie, o přežití bylo řádně informováno pouze 30 % nemocných (BMJ 2008; 337: a752). Dle dalších literárních údajů je možnost podpůrné léčby zmíněna pouze v jedné čtvrtině onkologických konzultací (J Clin Oncol 2002; 20(2): 503–513; Eur J Cancer 2004; 40(2): 225–235), pravděpodobně z důvodu očekávání aktivní terapie jak pacientem, tak jeho rodinou. Autor se také zamýšlí i nad možným konfliktem zájmů ošetřujících onkologů. Tento text jistě stojí za přečtení, a to vč. rozsáhlé diskuze, která je pod ním uveřejněna. O tom, že se jedná o problematiku v současnosti velmi diskutovanou, svědčí i analýza uveřejněná v časopis JAMA Internal Medicine, zabývající se kvalitou života, cenou a přínosem pro celkové přežití protinádorových preparátů schválených FDA v letech 2008–2012 (Rupp T, Zuckerman D. Quality of Life, Overall Survival, and Costs of Cancer Drugs Approved Based on Surrogate Endpoints. JAMA Intern Med 2016; Nov 29. doi: 10.1001/jamainternmed.2016.7761).

Safety Profile of Nivolumab Monotherapy: a Pooled Analysis of Patients with Advanced Melanoma

Weber JS, Hodi FS, Wolchok JD et al.
J Clin Oncol 2016. doi: 10.1200/JCO.2015.66.1389.

Autoři retrospektivní analýzy si dali za cíl zhodnotit význam nežádoucích účinků při léčbě nivolumabem u pacientů s pokročilým maligním melanomem a dopad aplikace imunosupresiv podávaných v rámci terapie imunitně podmíněných nežádoucích účinků na celkovou odpověď (objective response rate – ORR). Celkem byly zhodnoceny údaje 576 pacientů ze čtyř studií, z nichž dvě byly fáze III. Nivolumab byl podáván v dávce 3 mg/kg každé dva týdny. Z těchto nemocných celkem 71 % prodělalo nějaký stupeň nežádoucího účinku (nejčastěji únava (25 %), svědění (17 %), průjem (13 %), vyrážka (13 %) a 10 % z nich mělo nežádoucí účinky stupně 3–4). Nebylo zaznamenáno žádné úmrtí ve vztahu k této léčbě. Klinicky signifikantní imunitně podmíněné nežádoucí účinky se vyskytly u 49 % pacientů. Jednalo se převážně o kožní, gastrointestinální, endokrinní nebo hepatální postižení, které se u 4 % pacientů vyvinulo do stupně 3–4. ORR na léčbu byla 48,6 % pro pacienty s imunitně vázanými nežádoucími účinky, 17,8 % pro ty, kteří žádné nežádoucí účinky tohoto typu neměli, 46,7 % pro pacienty s maximálně dvěma nežádoucími účinky a 84,6 % pro ty, kteří prodělali tři a více nežádoucích účinků léčby. ORR na léčbu byla signifikantně vyšší u těch nemocných, kteří prodělali některý z imunitně podmíněných nežádoucích účinků léčby, proti skupině nemocných bez nich, byla ale shodná u pacientů léčených imunosupresivní terapií proti těm, kteří imunosupresiva nedostávali (ORR 29,8 vs. 31,2 %; p = 0,736). Závěrem autoři uvádějí, že s léčbou spojené nežádoucí účinky nivolumabu byly primárně menší závažnosti a podání imunosupresiv nemělo dopad na ORR léčeného nádoru. I když imunitně podmíněné nežádoucí účinky byly spojeny s vyšší celkovou odpovědí, neměly dopad na přežití bez progrese.

Pembrolizumab (pembro) as First-line Therapy for Advanced/Unresectable or Metastatic Urothelial Cancer: Preliminary Results from the Phase 2 KEYNOTE-052 Study

Balar A, Bellmunt J, O'Donnell PH et al.
Abstract for LBA32_PR. ESMO 2016, Kodaň

Téměř polovina pacientů s karcinomem močového měchýře není vhodná k aplikaci cisplatiny v 1. linii. KEYNOTE-052 (NCT02335424), otevřená multicentrická randomizovaná studie fáze II, porovnávala efekt a bezpečnost podání pembrolizumabu u pacientů s pokročilým nebo metastatickým uroteliálním karcinomem nevhodným pro léčbu cisplatinou. Celkem bylo hodnoceno 374 nemocných, kteří byli léčeni pembrolizumabem v dávce 200 mg každé tři týdny. Medián věku byl 75 let (13 % ≥ 85 let), 87 % pacientů mělo viscerální postižení. Medián trvání odpovědi ≥ 6 měsíců byl u 83 % nemocných, 67 % pacientů prodělalo některý z nežádoucích účinků souvisejících s léčbou (nejčastěji únavu – 14 %), závažnost stupně 3–4 se vyskytla u 16 % nemocných, 5 % pacientů bylo ze studie pro nežádoucí účinky léčby vyřazeno. Z prvních 100 pacientů 24 % prokázalo léčebnou odpověď a 6 % z nich dosáhlo kompletní remise, toto číslo bylo vyšší, tj. 13,3 % u pacientů s expresí PD-L1 ≥ 10 %. Pembrolizumab tak prokázal, že je aktivní a bezpečný v 1. linii metastatického či pokročilého karcinomu močového měchýře u pacientů nevhodných k léčbě cisplatinou.

Ipilimumab (IPI) vs. Placebo (PBO) after Complete Resection of Stage III Melanoma: Final Overall Survival Results from the EORTC 18071 Randomized, Double-blind, Phase 3 Trial

Eggermont AM, Chiarion-Sileni V, Grob JJ et al.
Abstract for LBA2_PR. ESMO 2016, Kodaň

Na letošní konferenci ESMO byly publikovány výsledky randomizované, dvojitě zaslepené studie fáze III, která srovnávala adjuvantní podání ipilimumabu u resekovaného maligního melanomu stadia III. Celkem 951 pacientů bylo randomizováno do skupin s ipilimumabem a placebem 1 : 1. Ipilimumab v dávce 10 mg/kg (n = 475) nebo placebo (n = 476) 1krát za tři týdny ve čtyřech dávkách, pak každé tři měsíce po dobu až tři roky do dokončení, recidivy onemocnění nebo nepřijatelné toxicity. V mediánu doby sledování 5,3 roku ipilimumab prokázal statisticky signifikantní zlepšení celkového přežití proti placebu (HR 0,72; 28% snížení rizika úmrtí). Míra přežití po pěti letech byla ve skupině s ipilimumabem 65,4 % a ve skupině s placebem 54,4 %. K nejčastějším nežádoucím účinkům stupně 3–4 patřila gastrointestinální (16,1 %), hepatální (10,8 %) a endokrinní (7,9 %) toxicita. Celkem 251 (53,3 %) pacientů muselo léčbu ipilimumabem z důvodů nežádoucích účinků ukončit; pět (1,1 %) pacientů zemřelo na komplikace provázející terapii. I přes signifikantní průkaz prodloužení celkového přežití je tento režim spojen s nezanedbatelnou toxicitou.

Niraparib Maintenance Therapy in Platinum-sensitive, Recurrent Ovarian Cancer

Mirza MR, Monk BJ, Herrstedt J et al.
N Engl J Med 2016 Oct 8. doi: 10.1056/NEJMoa1611310.

Niraparib je orální PARP 1/2 inhibitor, který prokázal aktivitu u pacientek s ovariálním karcinomem. V randomizované, dvojitě zaslepené studii fáze III byl porovnáván efekt niraparibu v porovnání s placebem jako udržovací léčba pro pacientky s ovariálním karcinomem citlivým k platině. Celkem bylo hodnoceno 553 pacientek, které byly rozděleny do skupiny s mutací *BRCA* (203–138 léčeno niraparibem a 65 placebem) a 350 nemocných bez mutace *BRCA* (234 léčeno niraparibem a 116 placebem). Niraparib/placebo byl podáván v dávce 300 mg 1krát denně. Pacientky ve skupině léčené niraparibem měly signifikantně delší medián přežití bez progrese proti skupině léčené placebem – 21,0 vs. 5,5 měsíce ve skupině s mutací *BRCA* (HR 0,27; 95% CI 0,17–0,4), 9,3 vs. 3,9 měsíce u žen bez mutace *BRCA* (HR 0,45; 95% CI 0,34–0,61; p < 0,00) a 12,9 vs. 3,8 měsíce u žen bez mutace *BRCA*, kde pacientky vykazovaly deficit reparace homologní rekombinace DNA (HR 0,38; 95% CI 0,24–0,59). Nejčastějšími nežádoucími účinky léčby niraparibem byla trombocytopenie (33,8 %), anémie (25,3 %) a neutropenie (19,6 %). Niraparib tak signifikantně prodlužuje přežití bez progrese u pacientek s rekurentním platina-senzitivním ovariálním karcinomem při akceptovatelné toxicitě.

Adjuvant Sunitinib in High-risk Renal-cell Carcinoma after Nephrectomy

Ravaud A, Motzer RJ, Pandha HS et al.
N Engl J Med 2016 Oct 9.

V randomizované, dvojitě zaslepené studii fáze III S-TRAC zaměřené na průkaz efektu a bezpečnost adjuvantního podání sunitinibu, do které bylo zařazeno 615 pacientů s lokálně pokročilým, high-risk světlobuněčným renálním karcinomem, bylo porovnáváno podání sunitinibu (50 mg/den) proti placebu v dávkování čtyři týdny on, dva týdny off, po dobu jednoho roku do ukončení, progrese či významné toxicity. Medián trvání přežití bez progrese byl 6,8 roku (95% CI 5,8–nedosaženo) v rameni se sunitinibem vs. 5,6 roku (95% CI 3,8–6,6) v rameni s placebem (HR 0,76; 95% CI 0,59–0,98; p = 0,03). Data celkového přežití nebyla zatím publikována. Po pěti letech přežívalo 59,3 % pacientů léčených sunitinibem vs. 51,3 % nemocných, kterým bylo podáváno placebo. Toxicita grade 3–4 byla častější v rameni se sunitinibem (48,4 % grade 3 a 12,1 % grade 4) než ve skupině s placebem (15,8 a 3,6 %, resp.). Mezi nejčastější nežádoucí účinky patřil hand-foot sydnrom, průjem a hypertenze, nebylo zaznamenáno žádné úmrtí v souvislosti s léčbou. Medián trvání přežití bez progrese byl v porovnání s placebem delší u pacientů s rizikovým světlobuněčným karcinomem ledviny po nefrektomii, kteří byli léčeni sunitinibem, za cenu vyšší míry toxicity.

Články vybrala a komentovala
MUDr. Jana Halámková, Ph.D.
Klinika komplexní onkologické péče, Masarykův onkologický ústav, Brno

Somatuline® Autogel® 120 mg

DRŽTE PROGRESI NA UZDĚ

PRVNÍ A JEDINÝ SSA*
SCHVÁLENÝ K LÉČBĚ NET**
PANKREATU A STŘEDNÍHO STŘEVA

Somatuline® Autogel® 120 mg je **nově indikován** k léčbě gastroenteropankreatických neuroendokrinních nádorů (GEP-NETs) stupně 1 a podskupiny stupně 2 (index Ki67 do 10 %) **středního střeva**, **pankreatu** nebo **s neznámou lokalizací**, u kterých byl vyloučen původ v zadním střevě, u dospělých pacientů s inoperabilním lokálně pokročilým nebo metastatickým onemocněním.[1]

* Somatostatinový analog; ** neuroendokrinních tumorů

1. Somatuline® Autogel® SPC. Datum poslední revize textu: 27. 2. 2015

Zkrácená informace o přípravku:

Název přípravku: Somatuline Autogel 60 mg, 90 mg, 120 mg. **Kvalitativní a kvantitativní složení:** Lanreotidum 60 mg, 90 mg, 120 mg (jako lanreotidi acetas). Každá předplněná stříkačka obsahuje supernasycený roztok lanreotid acetátu, odpovídající 0,246 mg baze lanreotidu/mg roztoku, který zajišťuje podání dávky 60 mg, 90 mg nebo 120 mg lanreotidu. **Terapeutické indikace:** Dlouhodobá léčba pacientů s akromegalií,kde hladiny GH a/nebo IGF-1 zůstávají abnormální po chirurgické léčbě a/nebo radioterapii a u pacientů, pro které není chirurgická léčba a/nebo radioterapie možností volby. Úleva od příznaků spojených s akromegalií. Léčba symptomů spojených s neuroendokrinními tumory. ***Léčba gastroenteropankreatických neuroendokrinních nádorů (GEP-NETs) stupně 1 a podskupiny stupně 2 (index Ki67 až do 10%) středního střeva, pankreatu nebo s neznámou lokalizací, u kterých byl vyloučen původ v zadním střevě, u dospělých pacientů s inoperabilním lokálně pokročilým nebo metastatickým onemocněním. Dávkování a způsob podání:** 60 mg, 90 mg nebo 120 mg každých 28 dnů formou hluboké subkutánní injekce do hýždí. U pacientů léčených pro akromegalii nebo symptomy související s neuroendokrinními tumory, může být podán buď pacientem, nebo poučenou osobou. V případě samoinjekce by měla být injekce podána do horní zevní části stehna. **Kontraindikace:** Přecitlivělost na somatostatin nebo příbuzné peptidy nebo na kteroukoli pomocnou látku. **Zvláštní upozornění:** Lanreotid může snižovat motilitu žlučníku a vést ke vzniku žlučových kamenů. Pacienti by měli být pravidelně sledováni. Podle farmakologické studie u zvířat a u lidí může způsobit přechodnou inhibici sekrece inzulínu a glukagonu. Proto se může u diabetiků, léčených přípravkem Somatuline Autogel, objevit hypoglykémie nebo hyperglykémie. Je třeba kontrolovat hladinu glukózy v krvi. U akromegalických pacientů bylo pozorováno mírné snížení funkcí štítné žlázy. U pacientů bez kardiálních problémů může vést lanreotid ke snížení pulsové frekvence. U pacientů trpících na srdeční poruchy před léčbou lanreotidem se může objevit sinusová bradykardie. Pozornosti je třeba, pokud se zahajuje léčba lanreotidem u pacientů s bradykardií. **Interakce:** Souběžné podání injekce lanreotidu s cyclosporinem může snížit hladinu cyclosporinu v krvi, z toho důvodu je třeba hladinu cyclosporinu v krvi monitorovat. **Farmakodynamické vlastnosti:** **Randomizovaná, dvojitě zaslepená, multicentrická, placebem kontrolovaná studie fáze III s fixní dobou trvání 96 týdnů s přípravkem Somatuline Autogel byla provedena u pacientů s gastroenteropankreatickými neuroendokrinními tumory za účelem hodnocení antiproliferativního účinku lanreotidu. Pacienti měli metastatické a/nebo lokálně pokročilé inoperabilní onemocnění s histologicky potvrzeným dobře nebo středně dobře diferencovaným tumorem primárně lokalizovaným v pankreatu (44,6 % pacientů), středním střevě (35,8 %), zadním střevě (6,9 %) nebo jiné/neznámé primární lokalizace (12,7 %). Primárním cílem bylo přežití bez progrese (PFS) měřeno buď jako doba do progrese dle RECIST 1.0 nebo doba do úmrtí během 96 týdnů od prvního podání léčby. Analýza PFS využila nezávislého centrálně hodnoceného radiologického hodnocení progrese.* ***Lanreotid, ve srovnání s placebem, významně prodloužil přežití bez progrese*** *(medián nebyl dosažen vs. medián 18,0 měsíců; p < 0,001 podle stratifikovaného log-rank testu;* ***poměrem rizik progrese nebo úmrtí 0,47*** *s 95% intervalem spolehlivosti [confidence interval, CI] 0,30–0,73. Příznivý účinek lanreotidu na snížení rizika progrese nebo úmrtí byl konzistentní bez ohledu na lokalizaci primárního nádoru, nálož tumoru v játrech, předchozí chemoterapii, počáteční Ki67, stupeň tumoru nebo dalších předem specifikovaných vlastnostech. V otevřené studii byl Somatuline Autogel 120 mg podáván každých 28 dní po dobu 48 týdnů 90-ti dosud neléčeným akromegalickým pacientům s diagnostikovaným hypofyzárním makroadenomem. Pacienti, u kterých se v průběhu trvání studie očekávala potřeba operace hypofýzy nebo radioterapie, byli vyloučeni. Zatímco počet pacientů, kteří dosáhli požadovaných hodnot, nedosáhl statistické významnosti, u 56/89 pacientů (63%–95% CI:52%–73%) bylo v týdnu 48 pozorováno klinicky významné zmenšení objemu tumoru o ≥ 20%. Zmenšení o méně než 20% bylo získáno u 24/89 pacientů (27%) a zvětšení objemu tumoru bylo pozorováno u 9/89 pacientů (10%). V týdnu 48 bylo průměrné procentuální zmenšení objemu tumoru 26,8 %. Při počátečním vyšetření byly hladiny růstového hormonu ≤ 2,5 µg/l u 13 (14,4%) pacientů a hladiny IGF-1 byly v normálním rozsahu u 1 (1,1%) pacienta. V týdnu 48 byly hladiny růstového hormonu pod 2,5 µg/l u 77,8% pacientů a hladiny IGF-1 byly normalizovány u 50%. Normalizované hladiny IGF-1 se současnou hladinou růstového hormonu pod 2,5 µg/l byly pozorovány u 43,5 % pacientů. Většina pacientů hlásila zřetelnou úlevu od symptomů akromegalie jako je bolest hlavy (38,7%), únava (56,5%), nadměrné pocení (66,1%), artralgie (59,7%) a otoky měkkých tkání (66,1%). Snížení objemu tumoru stejně jako hladin růstového hormonu a IGF-1 bylo pozorováno od 12. až do 48. týdne.* ***Nežádoucí účinky:** *Velmi časté nežádoucí účinky:* průjem, řídká stolice, bolest břicha, cholelitiáza. **Zvláštní opatření pro uchovávání:** Uchovávejte při teplotě 2°C–8°C (v chladničce) v původním obalu, aby byl přípravek chráněn před světlem. Nemrazit. **Držitel rozhodnutí o registraci:** Ipsen Pharma, Boulogne Billancourt, Francie. **Registrační číslo:** 56/002/03-C, 56/003/03-C, 56/004/03-C. **Datum registrace/prodloužení registrace:** 8. 1. 2003/23. 9. 2009. **Datum poslední revize textu:** 27. 2. 2015.

****Prosím, všimněte si změny textu SPC.***

Ke dni tisku je síla 120 mg částečně hrazena zdravotní pojišťovnou s výjimkou indikace: Léčba gastroenteropankreatických neuroendokrinních nádorů (GEP-NETs), síla 60 mg plně hrazena zdravotní pojišťovnou dle podmínek režimu A.

IPSEN Innovation for patient care

aifp Asociace inovativního farmaceutického průmyslu

Somatuline® autogel® lanreotid

Ipsen Pharma o.s., Olbrachtova 2006/9, 140 00 Praha 4, tel.: 242 481 821, fax: 242 481 828, e-mail: info@ipsen.cz, **www.ipsen.cz**

SOM/212/2015

Blahopřání k narozeninám prof. MUDr. Vlastimilu Ščudlovi, CSc.

Hájek R.

Vážený pane profesore, milý Vlastíku,
ani se mi nechce věřit, že slavíš tak významné životní jubileum. Známe se už dlouho a je mi velkou ctí Ti za nás všechny poblahopřát.

Prof. Ščudla se narodil 13. února 1946 ve Šternberku. Vystudoval Lékařskou fakultu Univerzity Palackého v Olomouci a Olomouc se stala jeho druhým domovem, místem, kterému zůstává věrný a které se stalo stěžejním pro jeho další profesní kariéru a pedagogickou činnost. V roce 1969 nastoupil na I. interní kliniku FN Olomouc, kde pracoval pod vedením význačného českého hematologa a morfologa prof. Boleslava Wiedermanna. Prof. Ščudla složil 1. a 2. atestaci z vnitřního lékařství a atestaci z hematologie a transfuzní služby. V roce 1983 úspěšně obhájil svou dizertační práci. Po habilitaci se v roce 1995 stal řádným profesorem interní medicíny a v letech 1998–2012 působil jako přednosta III. interní kliniky ve FN Olomouc.

Vědecká činnost prof. Ščudly je úctyhodná, zahrnuje široké spektrum hematoonkologie – je autorem více než 200 vědeckých článků, přednesl více než 5 000 přednášek a je úspěšným řešitelem celé řady výzkumných grantů věnovaných akutním leukemiím, Hodgkinovým i non-Hodgkinovým lymfomům a mnohočetnému myelomu.

Prof. Ščudla se také výrazně zasloužil o odbornou výchovu několika generací studentů i lékařů, kteří tak díky jeho neutuchající touze po poznání a jeho průkopnickým počinům v oblasti české hematologie mají možnost podrobněji rozvíjet a studovat problematiku hematologických onemocnění.

V tomto výpočtu rozhodně a především nesmí chybět jeho neutuchající starost o všechny jeho pacienty s mnohočetným myelomem, nemocí, která s příchodem nových léků zažívá v posledním desetiletí obrovský posun v léčbě a přežívání pacientů. Prof. Ščudla byl také jedním ze zakládajících členů České myelomové skupiny, profesního sdružení lékařů, výzkumníků, data manažerů, kteří se aktivně zapojují do práce v této oblasti a jejichž hlavním cílem je organizace a koordinace výzkumu a klinických aktivit v ČR v oblasti mnohočetného myelomu. Jako člen předsednictva České myelomové skupiny se podílel na strategii léčby mnohočetného myelomu a diagnostických kritériích pro léčbu této choroby.

Prof. Ščudla je také dlouholetým členem redakční rady několika časopisů. Je členem řady odborných společností, jak českých, tak zahraničních, jako např. Česká lékařská společnost, Česká hematologická společnost, Evropská hematologická asociace a řada jiných.

Z více než desítky významných ocenění, která za svou dlouholetou práci prof. Ščudla získal, lze zdůraznit Zlatou medaili Palackého univerzity v Olomouci, čestné členství v České i Slovenské hematologické společnosti a Čestné uznání prof. Otty Kahlera za dlouhodobý přínos k rozvoji diagnostiky, léčby a výzkumu mnohočetného myelomu a monoklonální gamapatie nejistého významu v ČR, které uděluje Česká myelomová skupina.

Je řada věcí, které na panu profesorovi upřímně obdivuji. Je to především komplex vlastností reprezentující akademickou solidnost vysoké úrovně s nepřekročitelnými mantinely a pravidly, o kterých není nikdy pochyb a která nejsou v čase vystavena žádnému životnímu pragmatizmu. Někdo by mohl říct „stará škola". Já říkám „dobrá škola". Více a více si uvědomuji, jak moc je podstatné, když jsou důležité hodnoty prezentované ne slovy, ale vlastním životním příkladem. Děkuji, Vlastíku!

Za celou Českou myelomovou skupinu a Myelomovou sekci České hematologické společnosti Ti přeji hodně zdraví, štěstí a hodně sil do další práce, protože Tvoje moudrost a nadhled je pro nás i pro mě osobně neustále potřeba.

S blahopřáním
Roman

prof. MUDr. Roman Hájek, CSc.
předseda České myelomové skupiny

Onkologie v obrazech

Méně obvyklý způsob diagnostiky karcinomu prsu

Koukalová R.[1], Nenutil R.[2], Řehák Z.[1,3]

[1] Oddělení nukleární medicíny, Masarykův onkologický ústav, Brno
[2] Oddělení onkologické patologie, Masarykův onkologický ústav, Brno
[3] Regionální centrum aplikované molekulární onkologie, Masarykův onkologický ústav, Brno

Práce byla podpořena MZ ČR – RVO (MOÚ, 00209805) a projekt LO1413.

This work was supported by tze Czech Ministry of Health – RVO (MMCI, 00209805) and project LO1413.

MUDr. Renata Koukalová
Oddělení nukleární medicíny
Masarykův onkologický ústav
Žlutý kopec 7
656 53 Brno
e-mail: rkoukalova@mou.cz

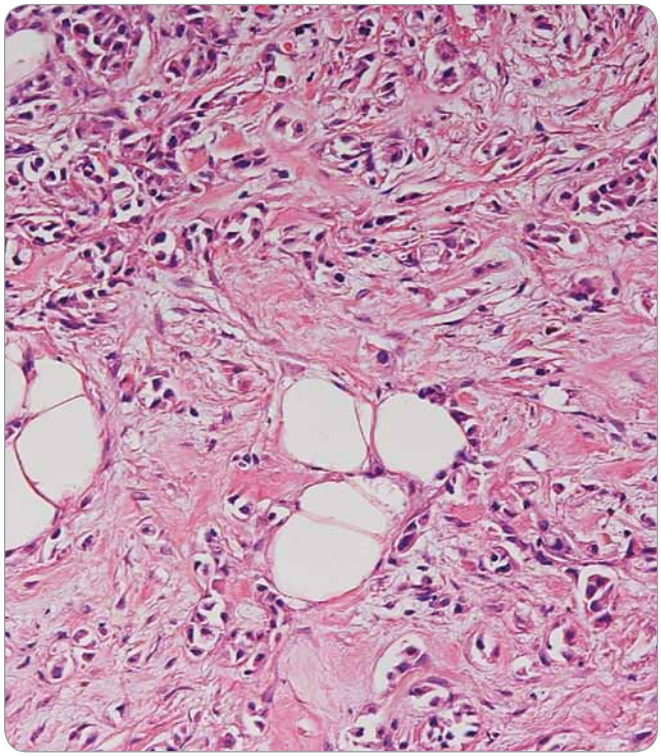
Obdrženo/Submitted: 15. 11. 2016

Pacientka ve věku 37 let trpěla přibližně od prosince 2013 bolestmi zad, které se postupně zhoršovaly. Současně byla zjištěna gravidita. Pacientka se tedy domnívala, že bolesti souvisí s těhotenstvím. V lednu 2014 došlo k potratu.

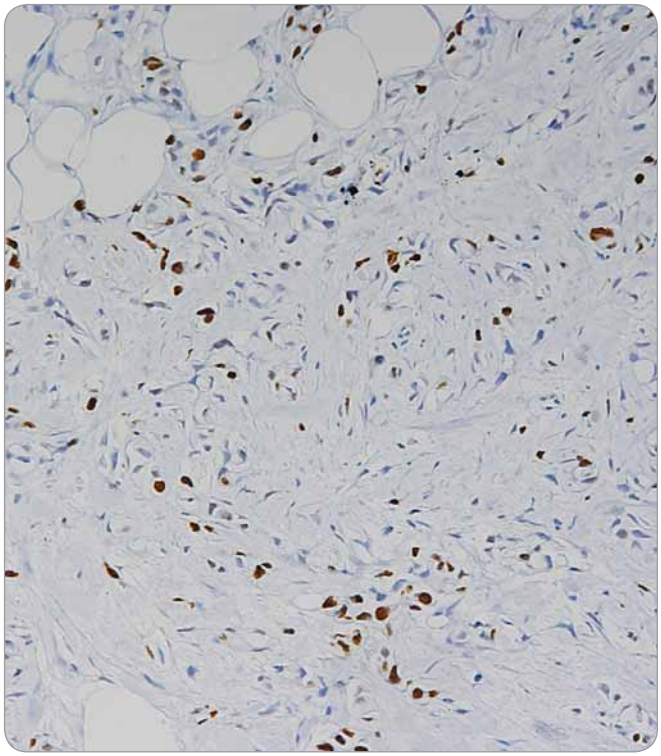
V rámci vyšetřování příčiny narůstajících bolestí zad byly v lednu 2014 na CT zjištěny osteolytické metastázy ve skeletu Th a L páteře. Výsledky dalších diagnostických metod (CT vyšetření hrudníku, břicha a pánve, gastrofibroskopie, mammografie) byly negativní. Primární tumor nebyl nalezen.

V únoru 2014 byla ortopedem provedena otevřená biopsie skeletální metastázy v těle L3. Histologicky byl zjištěn metastatický adenokarcinom grade 2, Ki-67 20–50%, HER2/neu+, ER 80% PR 20% (obr. 1–3). Podle patologa se mohlo jednat o metastázu tumoru prsu, plic, slinivky břišní, vaječníků či dělohy.

Koncem února 2014 byla pacienta s diagnózou kostní diseminace karcinomu neznámé primární lokalizace převzata do péče Masarykova onkologického ústavu. Zde bylo provedeno PET/CT vyšetření, které potvrdilo metastatické postižení skeletu (obr. 4). Kromě již diagnostikovaných metastáz Th a L páteře byla nalezena ložiska patologické akumulace ^{18}F-fluordeoxyglukózy také ve skeletu C páteře a pánve (obr. 5).



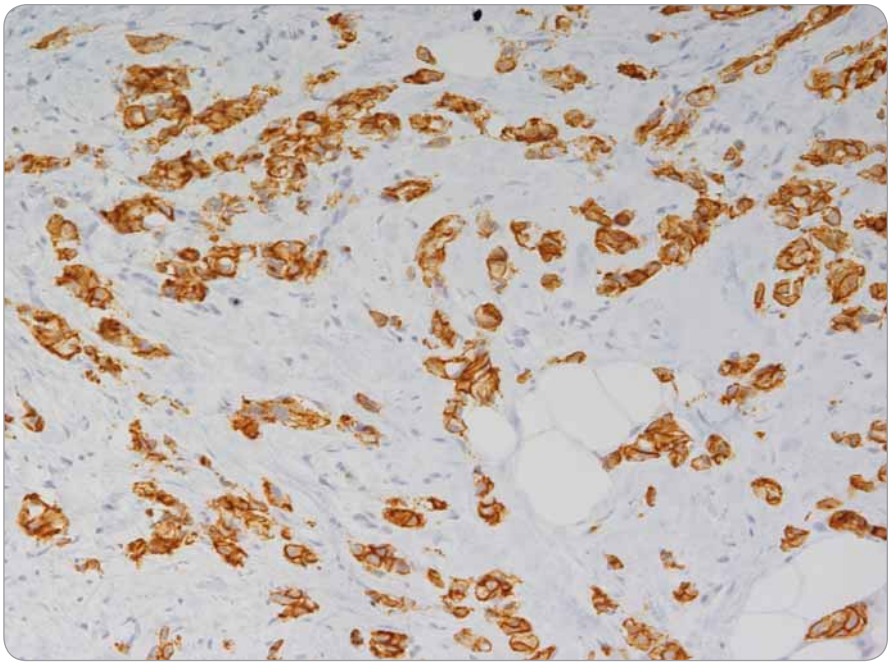
Obr. 1. HE – karcinom blíže neurčeného typu G2–3 v punkční biopsii mammárního ložiska.



Obr. 2. Ki-67 – nádor má střední až vyšší proliferační aktivitu kolem 50 %.

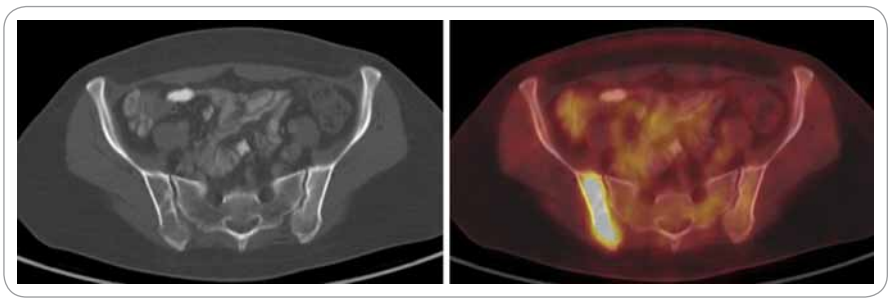
Kromě četných, na první pohled zřetelných patologických lézí ve skeletu, bylo na podkladě histologického suspicia nalezeno za mediálním okrajem dvorce levé mammy (přibližně na rozhraní mediálních kvadrantů) neostře ohraničené, postkontrastně se sytící ložisko s jádrem cca 9 mm. Jeho metabolická aktivita byla nízká – SUV_{max} 1,31 (hodnota nesignifikantní pro malignitu), byla však vyšší než metabolická aktivita žlázového tělesa levého prsu (obr. 6). Biopsií ložiska pod ultrazvukovou kontrolou byl verifikován karcinom prsu (invazivní karcinom blíže nespecifikovaný, grade 2–3).

Na tomto případu je patrné, že v možnostech PET/CT je i diagnostika drobných maligních nádorů prsu, které nebyly diagnostikovány cílenými vyšetřeními. Tato kazuistika také potvrzuje, že i velmi drobný maligní tumor může být příčinou výrazné metastatické diseminace.

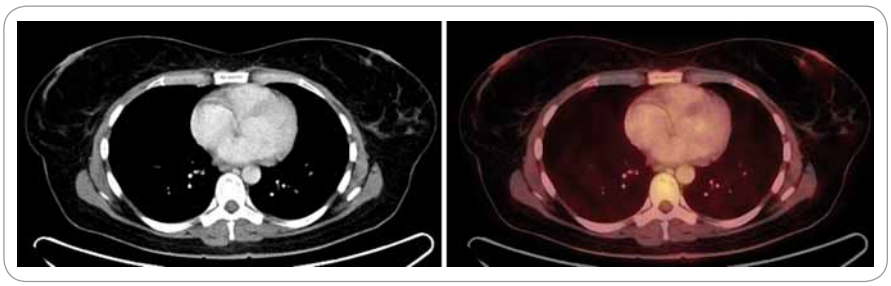


Obr. 3. V imunohistochemickém průkazu je zřejmá vysoká oeverxprese HER2 (3+).

Obr. 4. MIP (maximum intensity projection) – četná ložiska hypermetabolizmu FDG projikující se do skeletu – metastázy.



Obr. 5. V CT obrazu jen naznačeno nevýrazné prořídnutí pravé lopaty kyčelní, ložisko ve skeletu vykazuje jednoznačně patologickou akumulaci FDG – osteolytická metastáza při diseminaci karcinomu levého prsu.



Obr. 6. Drobné patologické ložisko pod mediálním okrajem dvorce levého prsu nevykazuje jednoznačně patologickou akumulaci FDG, jeho metabolická aktivita je však vyšší než metabolická aktivita zbytku žlázového tělesa.

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.

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

MUDr. Petr Čoupek
doc. MUDr. Lenka Foretová, Ph.D.
prof. MUDr. Martin Klabusay, Ph.D.
MUDr. Ivo Kocák, Ph.D.
MUDr. Rudolf Nenutil, CSc.
MUDr. Jiří Novák
doc. RNDr. Ondřej Slabý, Ph.D.
doc. RNDr. Sabina Ševčíková, Ph.D.
prof. MUDr. Jan Žaloudík, CSc.

Širší redakční rada

prof. MUDr. Zdeněk Adam, CSc., Brno
doc. MUDr. Igor Andrašina, CSc., Košice
doc. MUDr. Soňa Balogová, PhD., Bratislava
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. Ľuboš Drgoňa, CSc., Bratislava
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. Roman Hájek, CSc., Ostrava
MUDr. Jana Halámková, Ph.D., Brno
prof. MUDr. Pavel Klener, DrSc., Praha
doc. MUDr. Alexandra Kolenová, PhD., Bratislava
assoc. prof. Jeong Eon Lee, M.D., Ph.D., Seoul
prof. MUDr. Jiří Mayer, CSc., Brno
doc. MUDr. Michal Mego, Ph.D., Bratislava
prof. MUDr. Bohuslav Melichar, Ph.D., Olomouc
prof. MUDr. Beata Mladosievičová, CSc., Bratislava
doc. MUDr. Jan Novotný, Ph.D., Praha
prof. MUDr. Dalibor Ondruš, DrSc., Bratislava
doc. RNDr. Martina Ondrušová, PhD., MPH, Bratislava
prof. Yeon Hee Park, M.D., Ph.D., Seoul
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 Skřičková, 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. Jiří Vorlíček, CSc., dr. h. c., Brno
prof. MUDr. Rostislav Vyzula, CSc., Brno
doc. MUDr. Mária Wagnerová, CSc., Košice

Čestní členové redakční rady

prof. MUDr. Josef Bilder, CSc., Brno
prof. Sándor Eckhardt, Budapešť
prof. MUDr. Ľudovít Jurga, DrSc., Trnava
doc. MUDr. Juraj Kaušitz, CSc., Bratislava
prof. Jan Klasterský, Brusel
prof. MUDr. Josef Koutecký, DrSc., Praha
prof. RNDr. Jan Kovařík, DrSc., Brno
prof. MUDr. Ivan Koza, DrSc., Bratislava
doc. MUDr. Jozef Mardiak, CSc., Bratislava
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 2016

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 2016 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, MBA, 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 e-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. 12. 2016.

Tafinlar® (dabrafenib) + Mekinist® (trametinib)

V 1. linii léčby pacientů s pokročilým BRAF pozitivním melanomem nabízí:

- až 51% celkové přežití (OS) ve druhém roce léčby [1,2]
- až 76% podíl úplných nebo částečných léčebných odpovědí [1]

Reference:

1. Flaherty KT, Infante JR, Daud A, et al. Combined BRAF and MEK inhibition in melanoma with BRAF V600 mutations. N Engl J Med. 2012;367(18): 1694-1703.

2. Long G. V., Weber J. S., Infante J. R., et al. Overall Survival and Durable Responses in Patients with BRAF V600-Mutant Metastatic Melanoma Receiving Dabrafenib Combined With Trametinib. DOI: 10.1200/JCO.2015.62.9345.

ZKRÁCENÁ INFORMACE TAFINLAR 50 mg tvrdé tobolky TAFINLAR 75 mg tvrdé tobolky

Složení: Dabrafenibi mesilas v množství odpovídajícím 50 mg, resp. 75 mg dabrafenibu. **Indikace:** Dabrafenib je indikován v monoterapii nebo v kombinaci s trametinibem k léčbě dospělých pacientů s neresekovatelným nebo metastatickým melanomem s mutací V600 genu BRAF. **Dávkování:** Doporučená dávka dabrafenibu užívaného buď v monoterapii, nebo v kombinaci s trametinibem je 150 mg (dvě 75 mg tobolky) dvakrát denně (celková denní dávka 300 mg). Dabrafenib je třeba užít nejméně 1 hodinu před jídlem nebo alespoň 2 hodiny po jídle a mezi jednotlivými dávkami je třeba ponechat interval přibližně 12 hodin. Ke zlepšení compliance pacienta je třeba dabrafenib užívat v podobnou dobu každý den. Pokud se užívá dabrafenib a trametinib v kombinaci, trametinib se má podávat jednou denně ve stejnou dobu každý den buď s ranní dávkou, nebo s večerní dávkou dabrafenibu. V případě toxicity spojené s užíváním dabrafenibu v kombinaci s trametinibem se musí dávka obou látek snížit, přerušit nebo ukončit současně. Výjimky, kde jsou úpravy dávkování nezbytné jenom pro jednu ze dvou látek, jsou v případě výskytu horečky, uveitidy, malignit s RAS pozitivní mutací vyskytujících se v jiné lokalitě než kožní, snížení ejekční frakce levé komory, okluze retinální žíly, ablace retinálního pigmentového epitelu a intersticiálního plicního onemocnění/pneumonitidy. U pacientů > 65 let není nutná počáteční úprava dávkování. U pacientů se závažnou poruchou funkce ledvin a u pacientů se středně závažnou až závažnou poruchou funkce jater je třeba dabrafenib používat s opatrností a to jak při užívání v monoterapii, tak v kombinaci s trametinibem. Klinické údaje u pediatrické populace nejsou k dispozici. *Další informace o dávkování – viz úplná informace o přípravku.* **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na léčivou látku nebo na kteroukoli pomocnou látku. **Zvláštní upozornění/opatření:** Bezpečnost a účinnost dabrafenibu nebyla stanovena u pacientů s melanomem s divokým typem genu BRAF, proto se dabrafenib u těchto pacientů nemá používat. Při podávání dabrafenibu jak v monoterapii, tak v kombinaci s trametinibem, se mohou vyskytovat nové malignity, a to jak kožní, tak mimo kožní lokalizaci. U 1 % pacientů léčených dabrafenibem v monterapii nebo v kombinaci s trametinibem v klinických studiích byly zaznamenány závažné neinfekční febrilie, které byly doprovázené těžkou ztuhlostí, dehydratací, hypotenzí a/nebo akutním renálním selháním prerenálního původu u subjektů s původně normálními renálními funkcemi. U pacientů léčených dabrafenibem samotným nebo v kombinaci s trametinibem byly zaznamenány případy kožního spinocelulárního karcinomu (cuSCC), které zahrnují léze klasifikované jako podtyp keratoakantomu. Před zahájením léčby dabrafenibem a poté každý měsíc v průběhu léčby a po dobu až 6 měsíců od ukončení léčby se doporučuje provádět kožní vyšetření. Ve sledování se má pokračovat po dobu 6 měsíců po ukončení léčby dabrafenibem nebo do zahájení další protinádorové léčby. Pacienti užívající dabrafenib jak v monoterapii, tak v kombinaci s trametinibem by měli být v průběhu léčby sledováni s ohledem na subjektivní a objektivní oční příznaky (z důvodu možného vzniku iriditidy) a na sérový kreatinin. Před zahájením léčby, jeden měsíc po zahájení léčby a po změně dávkování je nutné u všech pacientů zkontrolovat elektrokardiogram (EKG) a hladinu iontů (včetně magnezia). U pacientů užívajících trametinib v monoterapii a v kombinaci s dabrafenibem se vyskytly hemoragické příhody, včetně závažných hemoragických příhod a fatální hemoragie. V souvislosti s trametinibem užívaným v monoterapii nebo v kombinaci s dabrafenibem bylo hlášeno zvýšení krevního tlaku, výskyt intersticiálního plicního onemocnění nebo pneumonitidy, vyrážky a rhabdomyolýzy. Pokud se u pacientů v průběhu užívání dabrafenibu s trametinibem objeví symptomy plicní embolie nebo hluboké žilní trombózy, jako jsou dušnost, bolest na hrudi nebo otok rukou či nohou, musí ihned vyhledat lékařskou pomoc. V případě život ohrožující plicní embolie léčbu trametinibem a dabrafenibem trvale ukončete. Ženy ve fertilním věku musí v průběhu léčby a po dobu 4 týdnů po ukončení léčby používat účinnou antikoncepci a 4 měsíce po poslední dávce trametinibu, je-li podáván v kombinaci s dabrafenibem. **Interakce:** Při společném podávání dabrafenibu se silnými inhibitory (např. ketokonazol, gemfibrozil, nefazodon, klarithromycin, ritonavir, sachinavir, telithromycin, itrakonazol, vorikonazol, posakonazol, atazanavir), je třeba postupovat s opatrností. Je nutné se vyvarovat současného podávání dabrafenibu se silnými induktory CYP2C8 a CYP3A4 [např. rifampicin, fenytoin, karbamazepin, fenobarbital nebo třezalka tečkovaná (Hypericum perforatum)]. Látky, které zvyšují pH, mohou snižovat biologickou dostupnost dabrafenibu po perorálním podání, je třeba se vyvarovat současného podávání léčivých přípravků, které zvyšují žaludeční pH. Současné podávání dabrafenibu s warfarinem nebo s digoxinem může vést ke snížení expozice warfarinu respektive digoxinu. Opakované podávání dávky trametinibu 2 mg jednou denně společně s dabrafenibem 150 mg dvakrát denně nevedlo ke klinicky významným změnám C_{max} a AUC trametinibu nebo dabrafenibu. **Nežádoucí účinky:** *Velmi časté:* snížení chuti k jídlu, kašel, průjem, syndrom palmo-plantární erythrodyzestezie, hyperkeratóza, bolest hlavy, pyrexie, artralgie, myalgie, bolest končetin, pyrexie, zimnice, astenie, únava, nauzea, papilom, alopecie, vyrážka a zvracení. *Časté:* kožní spinocelulární karcinom, seborhoická keratóza, akrochordon (kožní přívěsky), bazocelulární karcinom, hypofosfatémie, hyperglykémie, zácpa, suchá kůže, pruritus, aktinická keratóza, kožní léze, erytém, příznaky podobné chřipce, pokles LVEF. ***Navíc pro kombinaci trametinibu s dabrafenibem:*** *Velmi časté:* Velmi časté: infekce močových cest, nazofaryngitida, neutropenie, snížená chuť k jídlu, závratě, hypertenze, hemoragie, kašel, zácpa, průjem, suchá kůže. *Časté:* celulitida, folikulitida, paronichium, pustulární vyrážka, anemia, trombocytopenie, leukopenie, hyponatremie, hypotenze, poruchy vidění, snížení ejekční frakce, dušnost, sucho v ústech, stomatitida, zvýšení gama-glutamyltransferázy a alkalické fosfatázy v krvi, aktinická keratóza, noční pocení, hyperkeratóza, alopecie, kožní léze, hyperhidróza, panikulitida, svalové spazmy, *bradykardie. *Další nežádoucí účinky – viz úplná informace o přípravku.* **Podmínky uchovávání:** Tento léčivý přípravek nevyžaduje žádné zvláštní podmínky uchovávání. **Dostupné lékové formy/velikosti balení:** 28 nebo 120 tvrdých tobolek **Poznámka:** Před předepsáním léku si pečlivě přečtěte úplnou informaci o přípravku. **Reg. číslo:** EU/1/13/865/001-4. **Datum registrace:** 26.8.2013 . **Datum poslední revize textu SPC:** 12.5.2016. **Držitel rozhodnutí o registraci:** Novartis Europharm Limited, Frimley Business Park, Camberley GU16 7SR, Velká Británie. *Výdej přípravku je vázán na lékařský předpis, přípravek je hrazen v monoterapii z prostředků veřejného zdravotního pojištění.* **Všimněte si prosím změny (změn) v informacích o léčivém přípravku.*

ZKRÁCENÁ INFORMACE MEKINIST 0,5 mg potahované tablety MEKINIST 2 mg potahované tablety

▼ Tento léčivý přípravek podléhá dalšímu sledování. To umožní rychlé získání nových informací o bezpečnosti. Žádáme zdravotnické pracovníky, aby hlásili jakákoli podezření na nežádoucí účinky. Podrobnosti o hlášení nežádoucích účinků viz Souhrn údajů o přípravku, bod 4.8. **Složení:** *Léčivá látka:* Mekinist 0,5 mg: Jedna potahovaná tableta obsahuje trametinibum 0,5 mg. Mekinist 2 mg: Jedna potahovaná tableta obsahuje trametinibum 2,0 mg. **Indikace:** Monoterapie nebo v kombinaci s dabrafenibem k léčbě dospělých pacientů s neresekovatelným nebo metastatickým melanomem s mutací V600 genu BRAF. **Dávkování:** Léčba musí být vedena pouze lékařem se zkušenostmi s protinádorovou léčbou. Pacient musí mít potvrzenou mutaci V600 genu BRAF pomocí validovaného testu. Doporučená zahajovací dávka trametinibu je 2 mg jednou denně. Doporučená zahajovací dávka dabrafenibu užívaného v kombinaci s trametinibem je 150 mg dvakrát denně. V případě toxicity spojené s užíváním trametinibu v kombinaci s dabrafenibem se musí dávka obou látek snížit, přerušit nebo ukončit. Vyskytne-li se u pacienta spinocelulární karcinom (cuSCC) nebo nový primární melanom, úprava dávky se nedoporučuje. Výjimky, kde jsou úpravy dávkování nezbytné jenom pro jednu ze dvou látek, jsou blíže popsány v textu SPC - jedná se o horečku, uveitidu, malignity s RAS pozitivní mutací vyskytující se v jiné lokalitě než kožní a prodloužení QT intervalu (primárně spojené s dabrafenibem), snížení ejekční frakce levé komory (LVEF), okluze retinální žíly (RVO), odchlípení pigmentového epitelu sítnice (RPED) a intersticiální plicní onemocnění (ILD)/pneumonitida (primárně spojené s trametinibem). U pacientů s mírnou nebo středně závažnou poruchou funkce ledvin a u pacientů s mírnou poruchou jater není nutná úprava dávkování. Trametinib je třeba u pacientů se závažnou poruchou funkce ledvin a u pacientů se středně závažnou až závažnou poruchou funkce jater používat s opatrností, a to jak při užívání v monoterapii nebo v kombinaci s dabrafenibem. Trametinib se užívá perorálně, tablety se nesmí žvýkat ani drtit a užívá se bez jídla. Jakmile se užívá trametinib a dabrafenib v kombinaci, trametinib se podává jednou denně ve stejnou dobu každý den buď s ranní dávkou, nebo s večerní dávkou dabrafenibu. *Další informace o dávkování – viz úplná informace o přípravku.* **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na léčivou látku nebo kteroukoli pomocnou látku přípravku. **Zvláštní upozornění/opatření:** Léčba kombinací trametinib-dabrafenib by měla být zvážena u pacientů po předchozí léčbě BRAF inhibitory. Existují informace o výskytu nových malignit, jeli trametinib podáván v kombinaci s dabrafenibem. Byly hlášeny případy nově diagnostikovaného primárního melanomu a cuSCC (včetně keratoakantomu) u pacientů léčených trametinibem v kombinaci s dabrafenibem. U pacientů s mutacemi v RAS může dabrafenib na základě mechanismu účinku zvyšovat riziko vzniku malignit mimo kožní lokalizaci. U pacientů užívajících trametinib v monoterapii a v kombinaci s dabrafenibem se vyskytly hemoragické příhody, včetně závažných hemoragických příhod a fatální hemoragie. Trametinib má být u pacientů s poruchou funkce levé komory užíván s opatrností. V souvislosti s trametinibem užívaným v monoterapii nebo v kombinaci s dabrafenibem bylo hlášeno zvýšení krevního tlaku a dále horečka, u které její výskyt a závažnost jsou zvýšeny v případě kombinační terapie. V klinické studii fáze III se u 2,4 % (5/211) pacientů léčených trametinibem v monoterapii rozvinulo intersticiální plicní onemocnění nebo pneumonitida. Léčbu trametinibem je třeba přerušit u pacientů se suspektním intersticiálním plicním onemocněním nebo pneumonitidou, včetně pacientů s novými nebo progresivními plicními symptomy a nálezy zahrnujícími kašel, dušnost, hypoxii, pleurální výpotek nebo infiltráty. Léčbu trametinibem je třeba trvale ukončit u pacientů s diagnostikovaným intersticiálním plicním onemocněním nebo pneumonitidou související s léčbou. Trametinib se nedoporučuje podávat pacientům s okluzí retinální žíly v anamnéze. Pokud se u pacientů objeví symptomy plicní embolie nebo hluboké žilní trombózy, jako jsou dušnost, bolest na hrudi nebo otok rukou či nohou, musí ihned vyhledat lékařskou pomoc. V případě život ohrožující plicní embolie léčbu trametinibem a dabrafenibem trvale ukončete. *Při léčbě trametinibem v monoterapii nebo v kombinaci s dabrafenibem byly hlášeny kolitidy a perforace gastrointestinálního traktu, a to včetně případů s fatálními následky. Je zapotřebí zvýšené opatrnosti u pacientů s rizikovými faktory pro perforaci gastrointestinálního traktu, včetně divertikulitidy v anamnéze, metastáz v gastrointestinálním traktu a současného užívání léků se známým rizikem perforace gastrointestinálního traktu.* **Interakce:** Trametinib může způsobit přechodnou inhibici BCRP substrátů (např. pitavastatinu) ve střevě, která může být minimalizována odděleným podáním (s minimálně 2hodinovým odstupem) těchto léků a trametinibu. Trametinib je in-vitro substrátem efluxního transportéru P-gp, doporučuje se obezřetnost při současném podávání s léčivými přípravky, které jsou silnými inhibitory P-gp (např. verapamil, cyklosporin, ritonavir, chinidin, itrakonazol). Při užívání v kombinaci s dabrafenibem, je třeba postupovat s opatrností u silných inhibitorů (např. ketokonazol, gemfibrozil, nefazodon, klarithromycin, ritonavir, sachinavir, telithromycin, itrakonazol, vorikonazol, posakonazol, atazanavir). Je nutné se vyvarovat současného podávání dabrafenibu se silnými induktory CYP2C8 a CYP3A4 [např. rifampicin, fenytoin, karbamazepin, fenobarbital nebo třezalka tečkovaná *(Hypericum perforatum)*]. Pacienti by měli užívat trametinib v monoterapii nebo v kombinaci s dabrafenibem alespoň jednu hodinu před jídlem nebo dvě hodiny po jídle. **Těhotenství a kojení:** Přípravek se nedoporučuje podávat v průběhu těhotenství, pokud to není nezbytně nutné. V průběhu podávání přípravku se nedoporučuje kojení. Přípravek může snížit účinnost hormonální antikoncepce. **Nežádoucí účinky:** *Velmi časté:* Hypertenze, hemoragie, kašel, dušnost, průjem, nauzea, zvracení, zácpa, bolest břicha, sucho v ústech, vyrážka, akneiformní dermatitida, suchá kůže, pruritus, alopecie, únava, periferní edém, pyrexie, zvýšení AST. *Časté:* Anémie, hypersenzitivita, dehydratace, rozmazané vidění, periorbitální edém, poruchy vidění, dysfunkce levé komory, snížení ejekční frakce, lymfedém, pneumonitida, stomatitida, erytém, syndrom palmo-plantární erythrodysestezie, kožní fisury, popraskaná kůže, edém obličeje, zánět sliznic, astenie, folikulitida, paronychium, celulitida, pustulózní vyrážka, zvýšení ALT, zvýšení alkalické fosfatázy v krvi, zvýšení kreatinkinázy v krvi, *bradykardie*. ***Navíc pro kombinaci trametinibu s dabrafenibem:*** *Velmi časté:* Infekce močových cest, nazofaryngitida, neutropenie, snížená chuť k jídlu, bolest hlavy, závratě, artralgie, myalgie, bolest končetin, zimnice, onemocnění podobné chřipce. *Časté:* Spinocelulární karcinom, papilom, seboroická keratóza, akrochordon (kožní přívěsky), trombocytopenie, leukopenie, hyponatremie, hypofosfatemie, hyperglykémie, hypotenze, zvýšení gama-glutamyltransferázy v krvi, aktinická keratóza, noční pocení, hyperkeratóza, alopecie, kožní léze, hyperhidróza, panikulitida, svalové spazmy, *bradykardie*. *Další nežádoucí účinky – viz úplná informace o přípravku.* **Podmínky uchovávání:** Uchovávejte v chladničce (2°C až 8°C). Uchovávejte v původním obalu, aby byl přípravek chráněn před světlem a vlhkostí. **Dostupné lékové formy/velikosti balení:** Lahvička o obsahu 7 nebo 30 tablet. **Poznámka:** Dříve než lék předepíšete, přečtěte si pečlivě úplnou informaci o přípravku. **Reg. číslo:** Mekinist 0,5 mg – EU/1/14/931/01, EU/1/14/931/02, Mekinist 2 mg – EU/1/14/931/05, EU/1/14/931/06. **Datum registrace:** 30.06.2014. **Datum poslední revize textu SPC:** 16.8. 2016. **Držitel rozhodnutí o registraci:** Novartis Europharm Limited, Frimley Business Park, Camberley GU16 7SR, Velká Británie.

Výdej přípravku je vázán na lékařský předpis, úhrada přípravku z prostředků veřejného zdravotního pojištění dosud nebyla stanovena. **Všimněte si prosím změny (změn) v informacích o léčivém přípravku..*

NOVARTIS ONCOLOGY

Novartis s.r.o.
Gemini, budova B, Na Pankráci 1724/129, 140 00 Praha 4
tel.: 225 775 111, fax: 225 775 222, www.novartis.cz

CZ1609524859/09/2016

KEYTRUDA®
(pembrolizumab)

KEYTRUDA

je indikována u dospělých pacientů v monoterapii k léčbě pokročilého (neresekovatelného nebo metastazujícího) melanomu a pokročilého nebo metastazujícího NSCLC* s pozitivní expresí PD-L1 po předchozí léčbě.[1]

Zkrácená informace o léčivém přípravku. KEYTRUDA 50 mg prášek pro koncentrát pro infuzní roztok.
Léková forma: Prášek pro koncentrát pro infuzní roztok. **Složení:** *Léčivá látka:* Pembrolizumabum. *Pomocné látky:* Sacharóza, histidin, polysorbát 80, monohydrát hydrochloridu histidinu. **Indikace:** Přípravek KEYTRUDA je v monoterapii indikován k léčbě pokročilého (neresekovatelného nebo metastazujícího) melanomu u dospělých. Přípravek KEYTRUDA je indikován k léčbě lokálně pokročilého nebo metastazujícího nemalobuněčného karcinomu plic (NSCLC) u dospělých, jejichž nádory exprimují PD-L1 a kteří již byli léčeni nejméně jedním chemoterapeutickým režimem. Pacienti s pozitivními nádorovými mutacemi EGFR nebo ALK musí předtím, než dostanou přípravek KEYTRUDA, být rovněž léčeni terapií schválenou při těchto mutacích.* **Dávkování a způsob podání:** Doporučená dávka přípravku KEYTRUDA je 2 mg/kg podávaná intravenózně po dobu 30 minut každé 3 týdny. Přípravek nesmí být podán jako nitrožilní bolus nebo bolusová injekce. Léčba probíhá do progrese nemoci nebo do vzniku nepřijatelné toxicity. Byly pozorovány atypické odpovědi (tj. počáteční přechodné zvětšení nádoru nebo vznik nových malých lézí během prvních několika měsíců, následované zmenšením nádoru). Klinicky stabilní pacienty s počátečními známkami progrese nemoci se doporučuje léčit dál, dokud se progrese nepotvrdí. **Zvláštní upozornění:** Pacienti s NSCLC musí být při léčbě vybráni na základě exprese PD-L1 nádorovými buňkami potvrzené validovaným testem. ***Imunitně zprostředkované nežádoucí účinky:*** Přípravek KEYTRUDA je nutno trvale vysadit: při toxicitě stupně 4 kromě endokrinopatií, které jsou zvládnuty substitučními hormony; pokud během 12 týdnů nelze snížit dávku kortikosteroidů na ≤ 10 mg prednisonu nebo jeho ekvivalentu za den; pokud se toxicita související s léčbou během 12 týdnů po poslední dávce přípravku KEYTRUDA nesníží na stupeň 0 – 1; pokud se podruhé objeví jakákoli příhoda závažnosti stupně ≥ 3; při pneumonitidě stupně 3 nebo 4, nebo recidivující stupně 2; kolitidě stupně 4; nefritidě stupně ≥ 3 s kreatininem ≥ 3násobku ULN; hepatitidě stupně ≥ 3 s AST nebo ALT > 5násobek ULN nebo celkovým bilirubinem > 3 násobek ULN; v případě jaterních metastáz se zvýšením AST nebo ALT stupně 2 při zahájení léčby pak v případě, že AST nebo ALT stoupne o ≥ 50 % a trvá ≥ 1 týden; reakcí spojené s infuzí stupně 3 nebo 4. Přípravek KEYTRUDA je nutno dočasně vysadit (než se nežádoucí účinky zlepší na stupeň 0 – 1) při: pneumonitidě stupně 2; kolitidě stupně 2 nebo 3; nefritidě stupně 2 s kreatininem > 1,5 až ≤ 3násobek ULN; symptomatické hypofyzitidě; diabetutypu 1 s hyperglykémií stupně > 3 nebo spojeného s ketoacidózou; hypertyreóze stupně ≥ 3; hepatitidě stupně 2 s AST nebo ALT > 3 až 5násobek ULN nebo celkový bilirubin > 1,5 až 3násobek ULN. Přípravek má být znovu nasazen po 12 týdnech po poslední dávce, pokud nežádoucí účinek zůstává na stupni ≤ 1 a dávka kortikosteroidů byla redukována na ≤ 10 mg prednisonu nebo jeho ekvivalentu za den. **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na léčivou látku nebo na kteroukoli pomocnou látku. **Interakce:** Nebyly provedeny žádné formální farmakokinetické studie lékových interakcí. Pembrolizumab se odstraňuje z oběhu katabolizací, žádné metabolické lékové interakce se nepředpokládají. Před nasazením pembrolizumabu je nutno se vyhnout podávání systémových kortikosteroidů nebo imunosupresiv, a to kvůli jejich potenciálnímu vlivu na farmakodynamickou aktivitu a účinnost pembrolizumabu. Systémové kortikosteroidy nebo jiná imunosupresiva však lze používat po nasazení pembrolizumabu k léčbě imunitně zprostředkovaných nežádoucích účinků. **Těhotenství, kojení:** Údaje o podávání pembrolizumabu těhotným ženám nejsou k dispozici. Ženy ve fertilním věku mají během léčby a nejméně 4 měsíce po poslední dávce pembrolizumabu používat účinnou antikoncepci. Není známo, zda se pembrolizumab vylučuje do lidského mateřského mléka. Je nutno se rozhodnout, zda přerušit kojení nebo vysadit pembrolizumab. **Nežádoucí účinky*:** Velmi časté (≥ 1/10): průjem, nauzea, vyrážka, pruritus, artralgie, únava. Časté (≥ 1/100 až < 1/10): anemie, hypertyreóza, hypotyreóza, snížená chuť k jídlu, bolest hlavy, závrať, dysgeuzie, suché oko, pneumonitida, dyspnoe, kašel, kolitida, zvracení, břišní bolest, zácpa, suchá ústa, těžké kožní reakce, vitiligo, akneiformní dermatitida, suchá kůže, erytém, ekzém, myozitida, muskuloskeletální bolest, bolest v končetině, artritida, edém, astenie, pyrexie, onemocnění podobající se chřipce, třesavka, zvýšená AST, ALT, ALP zvýšený kreatinin, reakce spojené s infuzí. Pro podrobnější informace viz SPC přípravku. **Upozornění:** Pembrolizumab může mít mírný vliv na schopnost řídit a obsluhovat stroje. Po podání pembrolizumabu byla hlášena únava. **Uchovávání:** V chladničce (2 °C – 8 °C). Rekonstituovaný roztok má být použit okamžitě, maximálně však do 24 hodin od naředění. Až 6 hodin z tohoto 24 hodinového limitu je možné přípravek uchovávat při pokojové teplotě (≤ 25°C) **Balení:** 15ml injekční lahvička á 50 mg pembrolizumabum. **Držitel rozhodnutí o registraci:** Merck Sharp & Dohme Limited, Hertford Road, Hoddesdon, Hertfordshire EN11 9BU, Velká Británie. **Registrační číslo:** EU/1/15/1024/001. **Datum poslední revize textu:** 18.8.2016. **Způsob výdeje:** Vázán na lékařský předpis. **Způsob úhrady:** Úhrada zatím nebyla stanovena.

Dříve než přípravek předepíšete, seznamte se prosím s úplným souhrnem údajů o přípravku.

Reference: 1. SPC přípravku Keytruda, 2016.
* NSCLC = nemalobuněčný karcinom plic

▽ Tento léčivý přípravek podléhá dalšímu sledování. To umožní rychlé získání nových informací o bezpečnosti. Žádáme zdravotnické pracovníky, aby hlásili jakákoli podezření na nežádoucí účinky.

*Všimněte si, prosím, změn v informacích o léčivém přípravku.

Merck Sharp & Dohme s.r.o., Evropská 2588/33a, 160 00 Praha 6, Česká republika
Tel.: +420 233 010 111, E-mail: dpoc_czechslovak@merck.com, www.msd.cz

ONCO-1196791-0000

MSD Oncology