

KLINICKÁ ONKOLOGIE

Z obsahu:

Anogenitální HPV infekce jako potenciální rizikový faktor orofaryngeálního karcinomu

Kvalita života pacientů s častými nádory dutiny ústní léčených pooperační brachyterapií s vysokým dávkovým příkonem pro těsné nebo pozitivní okraje

Recent Trends in Survival of Testicular Cancer Patients – Nation-wide Population Based Study



- 1 Účinnost u celé řady méně častých mutací¹
- 2 Možnost snížení dávky při zachování účinnosti²⁻⁷
- 3 Účinnost u mozkových metastáz⁸
- 4 Pozitivní vliv na příznaky nádorového onemocnění a kvalitu života^{9,10}
- 5 Vyšší účinnost oproti erlotinibu u skvamózního karcinomu^{7*}
- 6 Bez omezení následných možností léčby¹¹⁻¹³
- 7 Delší PFS oproti chemoterapii v 1. linii léčby^{4,14}
- 8 Delší OS u del19 oproti chemoterapii^{4,12,14-16}
- 9 Ireverzibilní blokáda receptorů rodiny ErbB prokázána ve 2 globálních srovnávacích studiích^{4,6,11,12,14,17-20}
- 10 Vyšší účinnost oproti gefitinibu^{6**}



GIOTRIF® má

zvladatelný profil NÚ a **snížení dávky prokazatelně snižuje NÚ** bez omezení účinnosti²⁻⁷

* = vyšší účinnost v parametru OS, PFS; ** = vyšší účinnost v parametru PFS, TTF a ORR; CI = interval spolehlivosti; EGFR = receptor pro epidermální růstový faktor; HR = poměr rizik; OS = celkové přežití; PFS = přežití bez progresse onemocnění; TTF = doba do selhání léčby; TKI = inhibitor tyrosinkinázy; ORR = četnost objektivní odpovědi; Del 19 = delece v exonu 19; NÚ = nežádoucí účinek.

Reference:

1. Yang JC et al. *Lancet Oncol.* 2015;16:830-838. 2. Yang JCH et al. *Ann Oncol.* 2016;27(11):2103-2110. 3. Hirsch V et al. Poster č. 369 prezentovaný na výroční konferenci American Society of Clinical Oncology (ASCO); Chicago, IL, USA; 3. - 7.6.2016. 4. Sequist LV et al. *J Clin Oncol.* 2013;31(27):3327-3334. 5. Wu YL et al. *Lancet Oncol.* 2014;15(2):213-222. 6. Park K et al. *Lancet Oncol.* 2016;17(5):577-589. 7. Soria JC et al. *Lancet Oncol.* 2015;16(8):897-907. 8. Schuler M et al. *J Thorac Oncol.* 2016;11(3):380-390. 9. Yang JC et al. *Clin Oncol.* 2013;31(27):3342-3350. 10. Wu et al. Poster prezentovaný na kongresu ESMO; Madrid, Španělsko; 26. - 30.9.2014. 11. Paz-Ares L et al. *Annals of Oncology.* 2017; doi:10.1093/annonc/mdw611. 12. Yang JC et al. *Lancet Oncol.* 2015;16(2):141-151. 13. Wu SG et al. *Oncotarget.* 2016; 7(11):12404-12413. 14. Wu YL et al. *Lancet Oncol.* 2014;15(2):213-222. 15. Fukooka M et al. *J Clin Oncol.* 2011;29:2866-2874. 16. Khozin S et al. *Oncologist.* 2014;19(7):774-779. 17. Solca F et al. *J Pharmacol Exp Ther.* 2012;343(2):342-350. 18. Souhrn údajů o přípravku GIOTRIF® (afatinib), 2017. 19. Souhrn údajů o přípravku IRESSA® (gefitinib), 2014. 20. Souhrn údajů o přípravku TARCEVA® (erlotinib), 2014.

Zkrácená informace o přípravku Giotrif:

Složení: Jedna potahovaná tableta obsahuje afatinibu 20/30/40/50 mg (ve formě afatinibu dimaleas). **Indikace:** Giotrif je indikován jako monoterapie k léčbě dospělých pacientů s lokálně pokročilým nebo metastatickým nemalobuněčným karcinomem plic (NSCLC) s aktivačními mutacemi receptoru pro epidermální růstový faktor (EGFR) dosud neléčených EGFR TKI; s lokálně pokročilým nebo metastatickým NSCLC se skvamózní histologií progresujícím při léčbě chemoterapií na bázi platiny nebo po této terapii. **Dávkování a způsob podání:** Léčba musí být zahájena a dozorována lékařem se zkušenostmi s protinádorovou léčbou. Před zahájením léčby je třeba určit mutační stav EGFR. Doporučená dávka je 40 mg jednou denně. Přípravek je nutno užívat bez potravy. Potrava nesmí být konzumována nejméně 3 hodiny před užitím přípravku a nejméně 1 hodinu po něm. V léčbě je nutno pokračovat až do případné progresse onemocnění nebo do vzniku nesnášenlivosti pacientem. Maximální denní dávka je 50 mg. U pacientů se středně těžkou nebo těžkou poruchou funkce ledvin je expozice afatinibu zvýšena. Sledujte pacienty s těžkou poruchou funkce ledvin a v případě netolerance upravte dávku. **Kontraindikace:** Hypersensitivita na afatinib nebo na kteroukoli pomocnou látku. **Zvláštní upozornění:** Během léčby přípravkem Giotrif by hlášen průjem, včetně závažného průjmu. Při průjmu jsou důležitá proaktivní opatření, která zahrnují adekvátní hydrataci s podáváním antidiarika, zejména v prvních 6 týdnech léčby a je nutno je zahájit již při prvních známkách průjmu. Antidiarika (například loperamid) je nutno podávat, a pokud je to nezbytné, jejich dávku je třeba zvyšovat až k nejvyšší schválené doporučené dávce. Antidiarika musí mít pacient pohotově k dispozici tak, aby bylo možno léčbu zahájit při prvních známkách průjmu a pokračovat v ní, dokud průjemitě stolice neustanou po dobu 12 hodin. U pacientů léčených Giotrifem byla hlášena kožní vyrážka/akné. Léčba přípravkem musí být přerušena nebo vysazena, pokud se u pacienta vyvíjí závažné bulózní, puchýřnaté nebo exfoliativní postižení. U pacientů, kteří jsou vystaveni slunečnímu záření, je vhodný ochranný oděv a použití krémů s ochranným faktorem proti slunečnímu záření. Vyšší expozice vůči Giotrifu byla pozorována u žen, u pacientů s nižší tělesnou hmotností a u pacientů s existující poruchou funkce ledvin. U pacientů užívajících Giotrif k léčbě NSCLC se objevily zprávy o intersticiální plicní nemoci (ILD), poruše funkce jater, keratitidě. K vyloučení ILD je třeba pečlivě zhodnotit všechny pacienty s akutním rozvojem a/nebo nevysvětlitelným zhoršením plicních příznaků (dušnost, kašel horečka). U pacientů s kardiálními rizikovými faktory a u pacientů se stavy, které mohou ejection frakci levé komory ovlivnit, je nutno zvážit monitoraci stavu srdce, a to včetně zhodnocení LVEF při počátečním vyšetření a během léčby. Současná léčba silnými indukory P-gp může snížit expozici vůči afatinibu. Přípravek obsahuje laktosu. **Interakce:** In vitro studie ukázaly, že afatinib je substrátem P-gp a BCRP. Proto se doporučuje podávat dávku silných inhibitorů P-gp (včetně rifampicinu, karbamazepinu, ketokonazolu, erythromycinu, verapamilu, chinidinu, takrolimu, nelfinaviru, sachinaviru, amiodaronu a dalších) střídavě, nejlépe 6 hodin nebo 12 hodin od podání přípravku Giotrif. Silné indukory P-gp (včetně rifampicinu, karbamazepinu, fenytoinu, fenobarbitalu nebo třezalky tečkované a dalších) mohou snížit expozici vůči Giotrifu. **Nežádoucí účinky:** Nežádoucí reakce jsou obecně spojeny s inhibičním mechanismem účinku afatinibu na receptor pro epidermální růstový faktor (EGFR). Nejčastějšími nežádoucími reakcemi byly průjem a nežádoucí příhody se vztahem ke kůži (vyrážka, akneiformní dermatitida, pruritus, suchá kůže), dále stomatitida, paronchie, pokles chuti k jídlu a epistaxe. Mezi časté nežádoucí reakce patřily cystitida, dehydratace, hypokalemie, dysgezie, konjunktivitida, suché oči, rinorea, dyspseie, cheilitida, zvýšení alanin- a aspartátaminotransferázy, porucha renální funkce/renální selhání, syndrom palmoplantární erythrodermie, svalové spazmy, pyrexie a pokles tělesné hmotnosti. Nežádoucí účinky typu intersticiálního plicního onemocnění (ILD) byla hlášena u 0,7% pacientů léčených afatinibem. U pacientů užívajících Giotrif 40 mg byly pozorovány převážně přechodné abnormality jaterních testů (včetně zvýšení ALT a AST), která nevedla k vysazení léčby. **Zvláštní opatření pro uchovávání:** Uchovávat v původním obalu, chránit před vlhkostí a světlem. Datum poslední revize textu: 07/2017. Držitel rozhodnutí o registraci: Boehringer Ingelheim International GmbH, Ingelheim am Rhein, Německo. Registrační č.: Giotrif 20 mg EU/1/13/879/003; Giotrif 30 mg EU/1/13/879/006; Giotrif 40 mg EU/1/13/879/009; Giotrif 50 mg EU/1/13/879/012. Výdej pouze na lékařský předpis. Přípravek je hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění. Materiál je určen pro odbornou veřejnost.

▼ Tento léčivý přípravek podléhá dalšímu sledování. Před podáním se seznamte s úplnou informací o přípravku.

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

Editorial

Klinická onkologie vždy reagovala svými publikacemi na aktuální dění v onkologii. V centru tohoto dění se po dlouhé době znovu ocitly nádory hlavy a krku, a to jak v oblasti prevence, tak i v oblasti léčby, hlavně u nádorů lokálně pokročilých a metastatických.

Nádory ORL oblasti byly tradičně spojovány s kouřením a alkoholem, nicméně od začátku tohoto století se postupně začaly objevovat práce o nové, odlišně biologicky se chovající skupině nemocných, kde je hlavním etiologickým činitelem papilomavirus (human papillomavirus – HPV). Nádory hlavy a krku HPV+ představují novou, chováním rozdílnou podskupinu nádorů ORL oblasti a probíhají diskuze o odlišném způsobu jejich léčby s ohledem na zajištění příznivější prognózy. U nás se této problematice již delší dobu věnoval prof. Klozar a jeho tým. Nádory hlavy a krku HPV+ lépe reagují na léčbu cisplatinou i na radioterapii, a je rozdíl v délce přežití mezi pacienty postiženými HPV+ a HPV– nádory. Zvažuje se možnost snížit intenzitu léčby, pro kterou zatím není dostatek dat. Stanovení HPV je postupně zaváděno do denní praxe zatím jako independentní prediktor přežití a brzy má být i stratifikačním faktorem u pacientů s recidivujícím a metastatickým onemocněním. Posner hodnotí HPV tak, že je prokazatelně významným biomarkerem pro léčebnou odpověď, prognózu a stanovení neúčinnější léčby. Bližšímu rozboru jsou věnovány následující práce.

HPV je DNA virus onkogenní transformace hostitelské buňky. Přenáší se z kůže na kůži partnera, pohlavní styk není pro přenos HPV nutný a infekce je příčinou řady malignit, jako karcinomu cervixu, hlavy a krku (nejčastěji patrové tonsily), těla děložního, vaginy, penisu nebo i nádorů anu. Typ HPV 16 je spojen s rakovinou hlavy a krku, 30 % orálních karcinomů je příbuzných s HPV infektem a výskyt dnes dosahuje epidemických hodnot.

První velkou mezinárodní prezentací byla konference o HPV v listopadu 2010 v Amsterdamu. Jednání se účastnila většina předních odborníků z celého světa, např. Vermorken, Gillisonová, Lassenová, Bonner, Psyrriová a řada dalších, zabývajících se problematikou lidského papilomaviru. Následovala celá řada konferencí, symposií a publikací, s novými informacemi o vztahu papilomaviru a některých lidských nádorů. Fakhry v roce 2014 uvádí, že 80 % žen a mužů se za život infikuje alespoň jedním typem genitálního papilomaviru. Velká studie Naghaviho analyzovala údaje do roku 2016, kdy bylo ve Spojených státech zjištěno 48 330 nových případů nádorů hlavy a krku. To znamená, že přes pokles kouření se výskyt nádorů ORL, zvláště orofaryngu, zvyšuje a 72 % nádorů orofaryngu nemá tradiční příčinné faktory. Jako viník byl označen infekce kmeny HPV.

V roce 2007 byla uvedena na trh HPV vakcinace pro ochranu proti karcinomu čípku. V Mayo Clinic (Minnesota) demonstrovali, že většina vakcinovaných byla kompletně chráněna proti kmenům způsobujícím karcinom (Jacobson). V roce 2011 bylo doporučeno podání u mladých mužů z důvodu ochrany jejich ženských protějšků. Food and drug association (FDA) původně schválila 3 HPV vakcíny – Gardasil®, Cervarix, Gardasil®9. V roce 2014 FDA akceptovala pouze Gardasil®9, který chrání proti 9 vysoce rizikovým typům HPV. V roce 2015 studie ukázala, že HPV vakcinace Gardasil®9 může ve Spojených státech vést k prevenci u více než 25 000 karcinomů spojených s HPV, což představuje většinu invazivních karcinomů cervixu, konečníku, orofaryngu, vaginy a dalších genitálních karcinomů. Není ještě známo, jak dlouho bude trvat účinek prvních sérií HPV vakcinace, jen delší sledování vakcinovaných v klinických studiích přinese důležité informace o účinku vakcinace na celkovou

incidenci u karcinomů spojených s HPV a hodnocení přežití.

V 50. letech nebylo možné pacientům s pokročilými nádory hlavy a krku, většinou pokročilého věku a stadia, nabídnout nic jiného než nízkovoltážní radioterapii, event. paliativní chirurgii a pokrok byl minimální. Z důvodu nedostatečných léčebných výsledků standardní léčby se již tehdy objevovaly první práce o možné prevenci příčin těchto nádorů. Byl to například prof. Fingerland, který všemi prostředky bojoval proti kouření, ale ke snížení výskytu nádorů a zlepšení léčebných výsledků nedošlo. V dalších letech se zlepšovaly chirurgické postupy, modernější radioterapie dosahovala výrazně lepších výsledků, léčba byla rozšířena o chemoterapii. První pokusy o kombinovanou terapii (RTG + metotrexát) byly uveřejněny v Klinické onkologii v roce 1966. Výrazný pokrok v systémové léčbě nádorů ORL oblasti představovalo zavedení cisplatin (publikováno v Klinické onkologii 1981 a 1982), ale zlom nastal až s rozvojem poznatků o vlivu lidského papilomaviru a s rozvojem použití biologických látek (cetuximabu) a nyní i imunoterapie, a samozřejmě nedílnou součástí léčebných úspěchů je i pokrok v radioterapii, ať již radiačními technikami, nebo plánováním, který umožňuje dodání vysokých dávek záření do přesně definovaného objemu s maximálním šetřením kritických okolních tkání. S nárůstem našich léčebných možností a s prodlužující se délkou přežití nabývají významu biologické markery jako HPV infekce, pozitivita p16, PDL1 pozitivita, a to nejen ve smyslu prognostických faktorů, ale i jako prediktory léčebného účinku usnadňující i tailoring léčby ve smyslu hesla „Správná léčba správnému pacientovi“.

MUDr. Zdeněk Mechl, CSc.

MUDr. Dagmar Brančíková, Ph.D.

Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

XLII. BRNĚNSKÉ ONKOLOGICKÉ DNY

XXXII. KONFERENCE PRO NELÉKAŘSKÉ ZDRAVOTNICKÉ PRACOVNÍKY

16.–18. května 2018 | Veletrhy Brno

se v roce 2018 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
Ošetrovatelská 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

Vzácné nádory

Hlavní téma všech programových bloků BOD 2018.

Podrobnější informace naleznete na www.onkologickedny.cz.

Poznamenejte si!

Místo a datum konání: Veletrhy Brno, 16.–18. května 2018.

Zahájení on-line registrace: 1. ledna 2018.

Poslední termín k registraci aktivní účasti a zaslání abstrakt příspěvků je 19. března 2018.

Poslední termín k on-line registraci pasivní účasti je 1. května 2018.

Dotazy: bod@mou.cz

Obsah | Contents

Editorial	83
PŘEHLEDY REVIEWS	
Lidský papilomavirus – role v karcinogenezi cervixu a možnosti jeho detekce Human Papillomavirus – Role in Cervical Carcinogenesis and Methods of Detection Bartošík M., Hrstka R., Jiráková L.	89
Long Non-coding RNAs as Regulators of the Mitogen-activated Protein Kinase (MAPK) Pathway in Cancer Dlouhé nekódující molekuly RNA jako regulátory mitogenem aktivované proteinkinázové dráhy (MAPK) v nádorech Tasharofi B., Ghafouri-Fard S.	95
Anogenitální HPV infekce jako potenciální rizikový faktor orofaryngeálního karcinomu Anogenital HPV Infection as the Potential Risk Factor for Oropharyngeal Carcinoma Sehnal B., Podlešák T., Kmoníčková E., Nipčová M., Driák D., Sláma J., Zikán M	103
Úvod do problematiky léčby zhoubných nádorů ledvin Treatment of Metastatic Renal Cell Carcinoma Richter I, Dvořák J.	110
Nové možnosti testování chemosenzitivity u nádorových onemocnění New Approaches for Chemosensitivity Testing in Malignant Diseases Sommerová L., Michalová E., Hrstka R.	117
PŮVODNÍ PRÁCE ORIGINAL ARTICLES	
Kvalita života pacientů s častými nádory dutiny ústní léčených pooperační brachyterapií s vysokým dávkovým příkonem pro těsné nebo pozitivní okraje Quality of Life After High-dose Brachytherapy in Patients with Early Oral Carcinoma Doležalová H., Blechová N., Petera J.	125
MAPK/ERK signal pathway alterations in patients with Langerhans Cell Histiocytosis Změny v signální dráze MAPK/ERK u pacientů s histiocytózou Langerhansových buněk Novosad O., Skrypets T., Pastushenko Y., Titorenko I., Martynchuk A., Skachkova O., Inomistova M., Gorbach A., Khranovska N., Kryachok I.	130
Recent Trends in Survival of Testicular Cancer Patients – Nation-wide Population Based Study Súčasný trendy prežívania pacientov s nádorom testis – Národná populačná štúdia Ondrus D., Ondrusova M., Suchansky M.	137

KAZUISTIKY | CASE REPORTS

Cutaneous and Subcutaneous Metastases of Adenocarcinoma as a Dominant Clinical Manifestation of Malignancy of Unknown Origin – a Case Report 143

Kožné a podkožné metastázy adenokarcinómu ako dominujúca klinická manifestácia malignity neznámeho pôvodu – opis prípadu
Bartoš V., Hamarová K.

AKTUALITY Z ODBORNÉHO TISKU | REPORTS FROM THE LITERATURE 149

AKTUALITY V ONKOLOGII | ONCOLOGY HIGHLIGHTS

Diagnostic, Prognostic and Predictive Immunohistochemistry in Malignant Melanoma of the Skin 152

Diagnostická, prognostická a prediktívna imunohistochemie pri maligním melanomu kůže
Roncati L.

PERSONALIA | PERSONAL NEWS

O ďalších 5 let později 157

prof. MUDr. Jitka Abrahámová, DrSc., se dožívá významného životního jubilea

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



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 2018.
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* 1/2019.

Nejlepší práce v každé kategorii 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 habilitační a profesorské řízení.

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

Partner



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

www.linkos.cz

Česká
onkologická
společnost ČLS JEP

Lidský papilomavirus – role v karcinogenezi cervixu a možnosti jeho detekce

Human Papillomavirus – Role in Cervical Carcinogenesis and Methods of Detection

Bartošík M., Hrstka R., Jiráková L.

RECAMO, Masarykův onkologický ústav, Brno

Souhrn

Východiska: Perzistentní infekce onkogenním typem lidského papilomaviru (human papillomavirus – HPV), nejčastěji HPV 16 a HPV 18, může vést k rozvoji řady maligních onemocnění, zejména pak ke karcinomu děložního hrdla u žen. Testování na přítomnost HPV DNA se tudíž zavádí jako komplementární metoda ke stávajícímu cytologickému vyšetření, mimo jiné i díky vyšší citlivosti. **Cíl:** Tento přehledový článek pojednává o roli HPV v karcinogenezi děložního hrdla, zejména popisuje vznik cervikálních intraepiteliálních lézí (CIN1-3) a molekulární mechanismus transformace buněk. Představuje existující biomarkery pro diagnostiku prekancerózních lézí, mezi které patří např. mRNA transkripty genů *E6* a *E7*, protein p16 (inhibitor cyklin-dependentní kinázy regulující přechod z G1 do S fáze buněčného cyklu), změněné metylační vzorce DNA nebo působení specifických miRNA, tj. krátkých nekódujících jednořetězcových RNA o délce 18–22 nukleotidů, které posttranskripčně regulují genovou expresi. Dále rozebírá výhody a nevýhody komerčně dostupných HPV testů, a v neposlední řadě představuje nově vyvíjené metody umožňující levnou a rychlou diagnostiku HPV na bázi optické i elektrochemické detekce. **Závěr:** Nádory děložního hrdla i navzdory velkému pokroku v posledních letech stále patří mezi nejrozšířenější ženské malignity s vysokou mortalitou, zejména v rozvojových zemích. Ke snížení mortality by mohla pomoci implementace HPV testování do rutinního screeningového vyšetření. To však bude třeba finančně zefektivnit tak, aby bylo cenově konkurenceschopné se stávajícími cytologickými vyšetřeními.

Klíčová slova

HPV – karcinom cervixu – HPV testování – hybridizace nukleových kyselin – mRNA – metylace DNA – miRNA

Summary

Background: Persistent infection with high-risk human papillomavirus (HPV) strains, especially HPV 16 and HPV 18, is associated with the onset of various malignant diseases, including cervical carcinoma in women. HPV DNA testing is thus being implemented as a complementary method to standard cytological examination, mainly due to its increased sensitivity. **Aim:** This review outlines the role of HPV in cervical carcinogenesis, with a focus on the formation of cervical intraepithelial neoplasias (CIN1–3) and the molecular mechanism underlying cellular transformation. Current biomarkers used to screen premalignant lesions are described, including mRNA transcripts of the *E6* and *E7* genes, protein p16 (a cyclin-dependent kinase inhibitor that regulates cell cycle progression from G1 to S phase), altered DNA methylation patterns, and actions of specific microRNAs (short (18–22 bp), non-coding, single-stranded RNA molecules that regulate gene expression at the post-transcriptional level). This review also describes the advantages and drawbacks of commercial HPV tests, and depicts novel methods for more cost-effective and faster HPV diagnostics based on optical or electrochemical detection. **Conclusion:** Although great progress has been made, the incidence and mortality rates of cervical malignancies remain relatively high, especially in developing countries. Incorporation of HPV testing into routine screening programs could help to decrease mortality rates; however, the cost of such testing must be reduced if it is to compete with current cytology-based examinations.

Key words

HPV – cervical carcinoma – HPV testing – nucleic acid hybridization – mRNA – DNA methylation – microRNA

Práce byla podpořena grantem MŠMT-NPU I-LO1413 a GAČR 17-08971S.

This work was supported by MEYS-NPS I-LO1413 and GAČR 17-08971S.

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. Martin Bartošík, Ph.D.

RECAMO

Masarykův onkologický ústav

Žlutý kopec 7

656 53 Brno

e-mail: martin.bartosik@mou.cz

Obdrženo/Submitted: 25. 9. 2017

Přijato/Accepted: 26. 1. 2018

doi: 10.14735/amko201889

Úvod

Infekce lidským papilomavirem (human papillomavirus – HPV) patří mezi nejběžnější pohlavně přenosné choroby. Předpokládá se, že až 80 % populace se během života setká s infekcí HPV. Celkově je známo > 200 genotypově odlišných kmenů lidských papilomavirů [1], ovšem ne všechny jsou pro člověka nebezpečné, většina z nich způsobuje pouze kožní nebo genitální bradavice (jde o tzv. low-risk HPV, LR-HPV). Některé kmeny však vykazují onkogenní charakter (HPV 16, 18, 36, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82, souhrnně high-risk HPV, HR-HPV), což znamená, že jejich dlouhodobá neléčená přítomnost může vést k maligní transformaci epitelální tkáně a ke vzniku nádorů cervixu (děložního hrdla), vagíny, anální oblasti, nebo dokonce hlavy a krku. Nejrozšířenějšími onkogenními kmeny jsou HPV 16 a HPV 18, u kterých se uvádí, že způsobují až 70 % všech karcinomů děložního hrdla [2]. Genom HPV je tvořen dvoušroubovicovou kruhovou DNA o délce ~ 8 kb (obr. 1), rozdělenou do tří oblastí:

1. časná oblast (early region) obsahující vždy geny *E1*, *E2*, *E4*, *E5*, *E6* a *E7*, u některých kmenů pak ještě *E3* a *E8*;
2. oblast obsahující kódující sekvence genů pozdní fáze (late region) *L1* a *L2*;
3. kontrolní oblast (long control region – *LCR*)

Proteiny kódované geny časné oblasti mají spíše regulační funkci, podílejí se

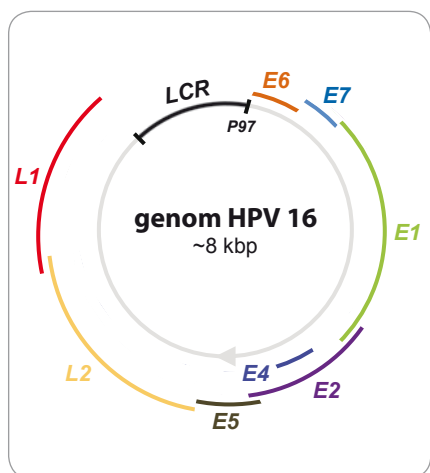
např. na replikaci a transkripci genomu, buněčné signalizaci nebo apoptóze a jsou častěji exprimované v raných fázích infekce (od toho pojmenování early). Proteiny pozdní fáze, *L1* a *L2*, tvoří virový kapsid. Oblast *LCR* zahrnuje zejména místa transkripčních faktorů a promotor *P97* zodpovědný za transkripci téměř všech genů z časné oblasti. Za normálních okolností je transkripce z promotoru *P97* inhibována vazbou proteinu *E2*, čímž je hladina proteinů *E6* a *E7* udržována nízká. Genová exprese je polycistronní, více genů má společný promotor a výsledné mRNA transkripty tak závisí na zvoleném čtecím rámci [3]. Navíc díky alternativnímu sestřihu může jeden mRNA transkript dát vzniknout více proteinům [4].

Role HPV v karcinogenezi cervixu

Zjednodušeně lze vznik cervikálního karcinomu rozdělit do čtyř fází – HPV infekce, virová perzistence, vznik prekanceróz a invazivní karcinom [2] (obr. 2). Naštěstí dokáže imunitní systém člověka HPV infekci ve většině případů odstranit. V opačném případě se infekce stává perzistentní. Vznikají premaligní léze, u kterých je virová DNA v buňce lokalizována nejdříve epizomálně, tj. není začleněná do chromozomální DNA. Postupně však dochází k molekulárním změnám, chromozomální nestabilitě a integraci virové DNA do genomu hostitele, která vede ke ztrátě regionu *E2*. Sníží se tak

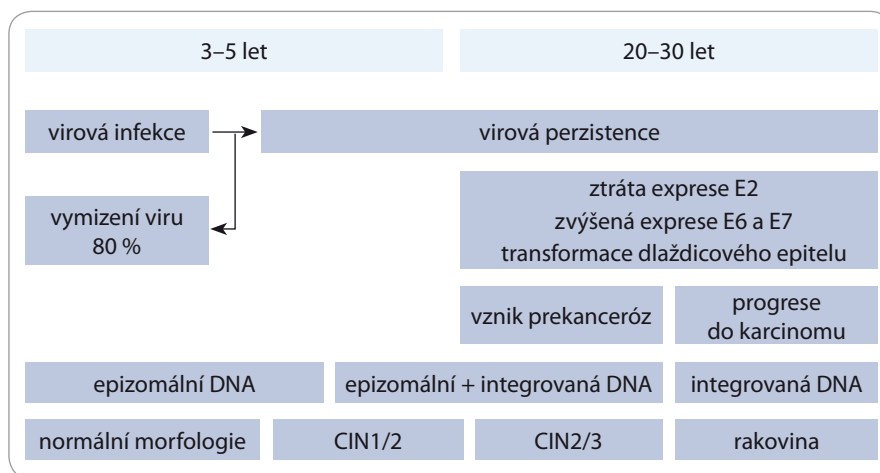
hladina proteinu *E2*, čímž dochází ke zvýšené expresi onkoproteinů *E6* a *E7*, jelikož za normálních okolností protein *E2* negativně reguluje transkripci genů *E6* a *E7* vazbou na tzv. *E2*-vazebné místo v rámci *LCR*. Karcinogenní potenciál proteinů *E6* a *E7* je dán tím, že inhibují expresi důležitého nádorového supresorového proteinu p53, resp. retinoblastomového proteinu pRb, což vede k deregulaci buněčného cyklu buňky, ke snížení exprese proteinů důležitých při opravných mechanismech DNA a k postupné akumulaci buněčných defektů.

Z histologického hlediska dochází k transformaci epitelální tkáně cervixu, vznikají tzv. cervikální intraepiteliální neoplazie (CIN) odstupňované dle progresu onemocnění jako CIN1, CIN2 a CIN3, přičemž u CIN1 a části CIN2 lézí může dojít ke spontánní regresi, aniž by byla potřebná konizace (mluvíme o tzv. produktivních lézích, odpovídajících dle nové nomenklatury low-grade skvamózním intraepiteliálním lézím (LSIL)). CIN3 a zbylá část CIN2 patří do tzv. transformujících lézí (odpovídajících high-grade skvamózním intraepiteliálním lézím (HSIL)), které jsou spojeny se zmíněnou deregulací a nadměrnou expresí *E6* a *E7*, přičemž CIN3 je posledním předstupněm invazivního karcinomu. Bohužel z morfoloického hlediska není možné rozlišit produktivní a transformující CIN2, a je tedy obtížné určit, zda infekce vymizí, nebo povede až ke vzniku karcinomu. Kromě samotného HPV testování se tak uvažuje o dalších



Obr. 1. Genom HPV 16.

Schematické zobrazení polohy jednotlivých genů v rámci kruhového genomu HPV 16.



Obr. 2. Proces karcinogeneze.

Chronologické zobrazení karcinogeneze od HPV infekce až po vznik karcinomu děložního hrdla, včetně lokalizace virové DNA a jednotlivých fází onemocnění.

biomarkerech, které by přesněji určily případy vyžadující léčbu. Mezi tyto markery patří kupříkladu mRNA transkripty genů *E6* a *E7* (produkty aktivní exprese těchto genů), jejichž zvýšená přítomnost poukazuje na přítomnost transformující léze [5]. Nedávná korejská studie např. uvádí až 91% citlivost a 98,6% specifitu pro detekci CIN2+ lézí (pro 337 vzorků) při použití HPV *E6/E7* mRNA testu [6]. Autoři ovšem zdůrazňují, že bude zapotřebí provést rozsáhlejší klinické studie s heterogennějším výběrem populace s ohledem na geografické rozdíly.

Mezi další markery patří protein p16^{INK4a}, jehož hladina se zvyšuje inaktivací pRb. Jedná se o inhibitor cyklin-dependentní kinázy regulující přechod z G1 do S fáze buněčného cyklu. I navzdory velké variabilitě v metodách a interpretacích dat existuje spousta studií popisujících korelaci mezi zvýšenou expresí p16^{INK4a} a přítomností CIN2+ lézí [7]. Americká společnost pro kolposkopii a cervikální patologii dokonce doporučila imunohistochemické stanovení p16 u diagnosticky sporných lézí jakožto vhodnou metodu pro rozlišení prekanceróz za předpokladu výrazné „blokované“ positivity stanovení p16 [8]. Jako možné biomarkery jsou uvažovány i aberantní epigenetické změny (zejména v DNA metylaci) nebo změněné hladiny miRNA (viz níže).

Epigenetické změny DNA u HPV

Nejvíce studovaným epigenetickým mechanismem ve spojitosti s cervikálními lézemi jsou metylace DNA, tj. modifikace 5'-uhlíku cytosinu v dinukleotidu CpG metylovou skupinou (za vzniku metylcytosinu). Například metylace promotoru má za následek „vypnutí“ exprese příslušného genu, a pokud je tímto promotorem kontrolována exprese nádorového supresorového genu, hypermetylace tohoto promotoru způsobí nižší expresi daného nádorového supresoru, což může vést až ke karcinogenezi.

I když jsou změněné metylační vzorce virové DNA v souvislosti s progresí karcinomu cervixu dobře známé, data získaná z různých studií jsou často nekonzistentní [9], zejména co se týká asociace mezi metylací v *LCR* regionu a CIN2+. Některé práce uvádějí pozitivní korelaci

mezi frekvencí metylace v *LCR* a progresí onemocnění [10,11], jiné naopak ukazují sníženou metylaci (demetylací) určitých promotorů v *LCR* u pacientů s CIN3 a rakovinou děložního hrdla v porovnání se zdravými jedinci [12]. To je pravděpodobně způsobeno různou přípravou klinických vzorků nebo analýzou odlišných CpG ostrůvků [13]. Zřejmě nejkonzistentnější výsledky vykazuje oblast genů *L1* a *L2*, kde dochází ke zvýšené metylaci u karcinomů [14].

Mezi metody studia metylace DNA, které byly nedávno detailněji popsány v časopise Klinická onkologie [15], patří např. restrikční analýza v kombinaci s kvantitativní polymerázovou řetězovou reakcí (quantitative polymerase chain reaction – qPCR), metylačně specifická PCR (methylation-specific PCR – MSP), MethyLight PCR (kombinace MSP a fluorescenčního měření pomocí TaqMan sondy) anebo MS-HRM (Methylation-Specific High Resolution Melting) přístup využívající rozdílů teplot tání dvouřetězových DNA v závislosti na jejich sekvenci. Zmíněné metody využívají buď metylačně senzitivní restrikční endonukleázy rozeznávající a štěpící konkrétní restrikční místa v DNA v závislosti na přítomnosti metylcytosinu, anebo reakci DNA s hydrogensulfidem sodným (tzv. bisulfidovou konverzi), který konvertuje cytosin v DNA na uracil, přičemž metylcytosin zůstává nezměněn.

Post-transkripční regulace pomocí miRNA

Funkcí miRNA, tj. krátkých nekódujících jednořetězových RNA o délce 18–22 nukleotidů, je post-transkripční regulace genové exprese vedoucí k degradaci cílové mRNA a následnému poklesu hladiny příslušného proteinu. miRNA vykazují funkci supresorovou i onkogenní, a proto jsou v současné době intenzivně studovány. Uvažuje se o jejich potenciálním využití jako diagnostických či prognostických biomarkerů, či dokonce v terapii.

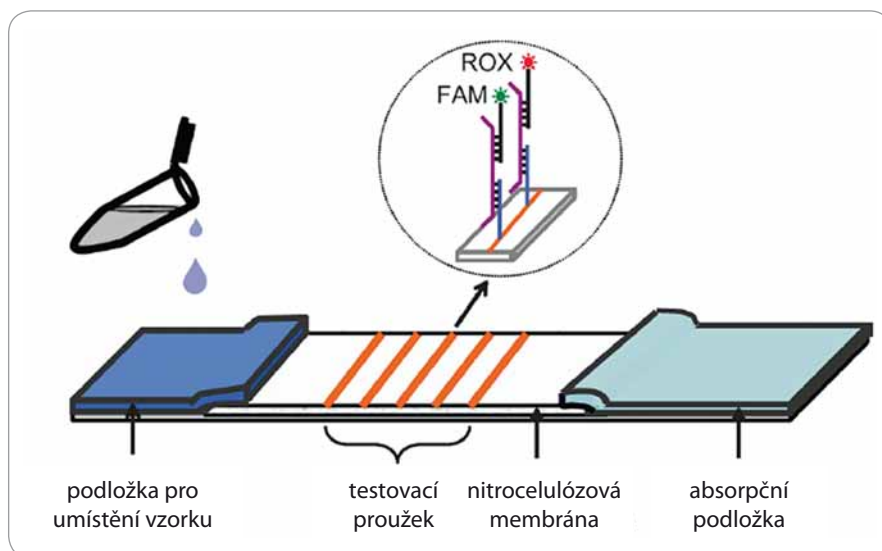
Z těchto důvodů byly provedeny celogenomové studie zaměřené na expresi miRNA v cervikálních lézích, ovšem pouze několik miRNA sekvencí se ukázalo být konzistentně změněno napříč těmito studii [13]. Nejčastěji uváděné

nádorové supresorové miRNA jsou miR-143, miR-145 a miR-214, naopak za onkogenní miRNA jsou považovány např. miR-21 a miR-146a [13,16]. Pro definitivní validaci vybraných miRNA bude ovšem potřeba provést více nezávislých studií a rovněž popsat přesnou roli jednotlivých miRNA v karcinogenezi indukované virem HPV.

Současné testování HPV

Aktuálně se v ČR na přítomnost HPV testují pouze 4 % pacientek s abnormální cytologií s nejasným významem. Cytologie z tekutého média (liquid-based cytology – LBC) je odběrová metoda založená na klasickém Pap testu, avšak odebraný vzorek se místo přímé fixace na sklíčku umísťuje do vhodného média (komerčně pod názvem ThinPrep Pap Test) [17]. Tento postup je vhodný i pro diagnostiku DNA HPV bez nutnosti dvou odběrů. Z roztoku se izolovaná DNA/RNA testuje pomocí komerčně dostupných testovacích sad [18]. Většina testovacích sad je schopná detekovat přítomnost několika HPV typů, a to včetně rozlišení HR/LR HPV a konkrétní genotypizace. Standardně se provádí detekce HPV 16 a HPV 18 (Cervista HPV 16/18 Assay, Hologic), ale existují testy, které zvládnou až 37 genotypů současně (LINEAR ARRAY® HPV Genotyping Test, Roche).

Spousta komerčních HPV testů je založena na PCR amplifikaci a následné hybridizaci. Hlavní rozdíly mezi testy pak tkví v používaných primerech a způsobech detekce. Dalším rozdílem je izolace DNA pro amplifikaci, kterou lze provádět pomocí kolonek (HC2 High-Risk HPV DNA Test, Qiagen) nebo magnetických kuliček (RealTime High Risk HPV, Abbott). Nevýhodou mnoha testovacích sad je jejich zaměření na přítomnost *L1* genu (kódujícího hlavní kapsidový protein) [17], který však může být deletován v průběhu integrace virové DNA do lidského genomu. V případě, že *L1* region nebude přítomen, DNA HPV test bude falešně negativní [19]. Na trhu se však objevuje stále více testů, které obsahují primery i pro *E6/E7* kódující oblast, např. AMPLICOR® Human Papillomavirus Test (Roche) se schválením CE-IVD, které jsou klíčové pro maligní transformaci způsobenou HPV.



Obr. 3. Fluorescenční dipstick.

Roztok DNA se po nakápnutí na jeden konec dipsticku laterálním prouděním dostane až k testovacím proužkům obsahujícím vazebné DNA sondy komplementární k 13 typům HPV DNA. Dochází k hybridizaci a po následném přidání fluorescenčně značených DNA sond i k fluorescenci. Absorbující podložka zachytává zbytek roztoku.

Převzato z [21].

ROX – 6-carboxy-X-rhodamine, FAM – 6-carboxyfluorescein

Stále více se také rozšiřuje přístup spočívající v hybridizaci amplifikované DNA na sondy vázané na nitrocelulózu proužky, který současně poskytuje informace o genotypu HPV, nicméně tato metodika je náročnější na přístrojové vybavení (INNO-LiPA HPV Genotyping, Innogenetics). Odlišný přístup bez nutnosti PCR amplifikace je použití hybridizační techniky k detekci virové DNA pomocí RNA sondy. Po navázání vzniká DNA/RNA duplex, který je zachytáván protilátkou specifickou pro hybridní molekuly. Následná detekce probíhá vazbou další protilátky s vhodnou detekční značkou. Příkladem tohoto přístupu může být HC2 High-Risk HPV DNA Test (Qiagen). Dalším možným způsobem detekce cílené na *E6/E7* oblast je test ZytoFast HPV-Typing ISH Kit (ZytoVision). Test dokáže pomocí značených DNA sond detekovat DNA i RNA a rozpoznávat i různé typy HPV. Tento test je určen pro hybridizaci *in situ* (chromogenic *in situ* hybridization), tudíž je vhodnější spíše pro bioptické vzorky.

Další možností detekce *E6/E7* oblasti HPV může být zaměření se na mRNA, např. pomocí testu Aptima HPV Assay (Hologic), také se schválením CE-IVD.

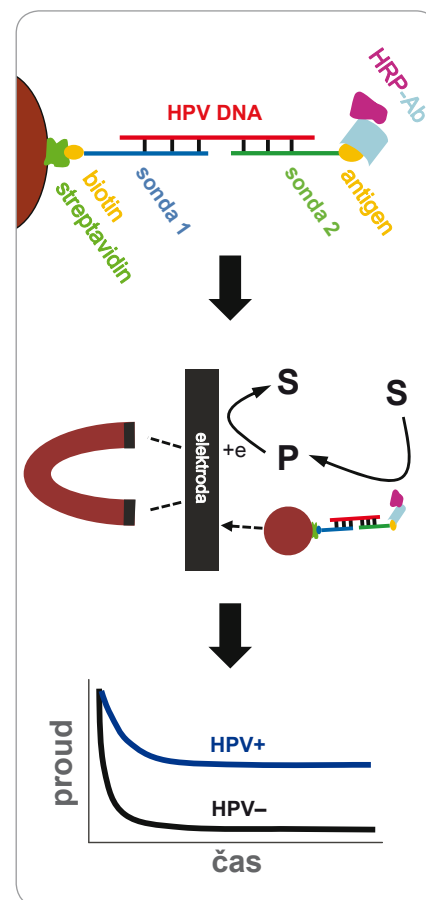
Cílená detekce *E6/E7* mRNA může specifikovat stadium onemocnění, neboť její hladina s progresí onemocnění stoupá.

Plošné testování HPV, zavedené např. ve Spojených státech, prodloužilo interval mezi preventivními cytologickými vyšetřeními v podobě Pap testů na dobu 3 let (naopak v ČR jsou cytologická vyšetření prováděna 1× ročně) a zmíněné HPV testování je prováděno každých 5 let (zavedeno pro pacientky nad 30 let) [20].

Nové přístupy detekce HPV

Kromě komerčně dostupných kitů pro detekci HPV DNA, popsanych v předešlé kapitole, jsou vyvíjeny nové metody, jejichž ambicí je učinit existující HPV testování cenově dostupnější a instrumentálně méně náročné. I tyto přístupy většinou využívají hybridizace DNA mezi hledanou sekvencí HPV DNA a vhodnou DNA sondou, a to přímo v roztoku nebo na vhodném pevném povrchu, např. magnetických kuličkách, obvykle s využitím fluorescenčních nebo elektrochemických metod detekce.

Jedním z příkladů uživatelsky přijemné alternativy ke stávajícím přístupům by mohl být tzv. dipstick test, který



Obr. 4. Elektrochemický test pro detekci virové DNA.

Test je založen na hybridizaci virové DNA se dvěma sondami – vazebnou sondou (sonda 1) připevněnou na magnetické kuličky, a detekční sondou (sonda 2) značenou antigenem (nahore). Po hybridizaci jsou magnetické kuličky přitáhnuty k povrchu elektrody pomocí magnetu (uprostřed) a je elektrochemicky měřen signál z enzymatické reakce křenové peroxidázy (HRP), která je konjugována s protilátkou (Ab) specifickou vůči antigenu (dole).

HRP – křenová peroxidáza,
S – substrát, P – produkt.

Převzato z [27].

je do značné míry podobný jednorázovým těhotenským testům. Nedávno byl vyvinut dipstick test na bázi laterálního proudění (lateral flow dipstick), obsahující nitrocelulózu membránu pokrytou DNA vazebnými sondami pro detekci 13 onkogenních typů HPV [21] (obr. 3). Vzorek obsahující HPV DNA byl nejdříve amplifikován pomocí asymetrické PCR, jednořetězcové amplikony byly následně hybridizovány s vazebnými son-

dami na různých místech membrány a detekce byla provedena pomocí DNA sond fluorescenčně značených molekulami ROX a FAM. Zvýšená fluorescence jedné z fluorescenčních barev, vždy na jiném místě membrány, pak znamenala přítomnost daného HPV typu. Dipstick byl úspěšně validován na klinickém materiálu s > 98% konkordancí s komerčně dostupným kitem GenoArray (HybriBio). Další dipstick test s fluorescenční detekcí využil namísto PCR tzv. izotermální amplifikaci [22]. Na rozdíl od PCR reakce, která vyžaduje termocykler (z důvodu cyklování teplot) a delší čas, dokáže speciální polymeráza, při izotermální amplifikaci amplifikovat DNA při konstantní teplotě (obvykle kolem 60 °C) během kratší doby (za < 1 hod). Autoři prezentovali úspěšné rozlišení kmenů HPV 16 a HPV 18 u klinických vzorků a předpokládají, že by test mohl být aplikován v menších nemocnicích a klinikách. Výhodou fluorescenčního měření je vysoká citlivost a možnost paralelního stanovení velkého množství vzorků současně (několik desítek až stovek). Často ovšem vyžaduje náročnější instrumentaci a relativně drahé fluorescenční barvy.

Elektrochemická analýza představuje zajímavou, i když zatím méně používanou alternativu ve srovnání se stávajícími metodami založenými zejména na optické detekci [23]. Nabízí relativně levnou, rychlou a přístrojově nenáročnou možnost detekce na miniaturizovaných čípech. V posledních několika letech pozorujeme výrazný nárůst počtu prací na téma elektrochemické detekce DNA, zejména co se týká aplikace v onkologickém výzkumu [24]. Objevilo se i několik strategií pro stanovení přítomnosti DNA pocházející z HPV 16 [25,26], ovšem ne všechny práce demonstrovaly použitelnost metody na klinických vzorcích. Nedávno byl vyvinut rychlý elektrochemický test pro detekci HPV 16 aplikovatelný i na klinickém materiálu [27]. Pomocí magnetických kuliček byla ze vzorků DNA (izolovaných z kartáčkových stěrů) separována virová DNA z HPV 16 a po PCR amplifikaci byla sledována elektrochemická odezva na elektrodových čípech, které umožňují paralelní detekci více vzorků (obr. 4). Test dokázal úspěšně rozlišit HPV 16 od HPV 18 a vý-

sledky z kartáčkových stěrů dobře korelovaly se standardními metodami. Pro širší použití elektrochemických metod je nicméně zapotřebí jejich rozsáhlejší validace na klinických vzorcích.

Další zajímavou a relativně jednoduchou možností je amplifikace virové DNA spojená s kolorimetrickou [28,29] nebo turbidimetrickou detekcí [30], a to bez nutnosti hybridizace s DNA sondou. Jinými slovy, pokud neznámý vzorek obsahuje virovou DNA, dojde k její amplifikaci a díky exponenciálnímu nárůstu množství DNA ve vzorku dochází i ke změně vlastností roztoku, případně dochází k četnějším interakcím amplikonů s vhodně zvolenou látkou. Pokud se kupříkladu do reakce přidá komplex kalceinu a iontů manganu, je možné detekovat vznik amplikonů kolorimetricky. Během amplifikace se uvolňuje pyrofosfát, který ionty manganu váže na sebe, tím je kalcein uvolněn do roztoku a dochází ke změně barvy z oranžové na žlutozelenou [28]. Turbidimetrické měření využívá skutečnosti, že během amplifikace nastává vysrážení uvolněného pyrofosfátu v přítomnosti hořčičnatých iontů, což vede k zakalení roztoku (zvýšení turbidity) [30]. Výhodou obou metod je možnost stanovení přítomnosti virové DNA pouhým okem (díky změně barvy, resp. zákalu), ovšem za cenu poněkud nižší citlivosti.

Závěr a výhled do budoucnosti

I když diagnostika i prevence cervikálních lézí za poslední léta doznala velkého pokroku, a to zejména díky zavedení LBC či HPV testování, resp. díky vývoji vakcín proti onkogenním genotypům HPV a jejich zavedení do praxe, nádory děložního hrdla stále patří mezi nejrozšířenější ženské malignity s vysokou mortalitou zejména v rozvojových zemích, kde spolehlivé screeningové programy chybí.

V ČR je stav lepší, i když i zde je mortalita v porovnání se zeměmi západní Evropy relativně vysoká. Zřejmě i díky ad-resnému zvaní na preventivní prohlídky (zavedenému v roce 2014) však roste počet žen, které podstupují screeningové vyšetření (čímž roste i incidence), zároveň však dochází k mírnému poklesu mortality. V současnosti je vyšetření při-

tomnosti nukleové kyseliny vysoce rizikových kmenů HPV v cervikálním stěru hrazeno pouze ženám se sporným cytologickým nálezem nebo jako kontrola konizačního či ablačního výkonu (konkrétně se jedná o výkon č. 95201). Předpokládá se, že implementace HPV testování do rutinního screeningového vyšetření by mohla ještě výrazněji napomoci ke snížení mortality. Avšak aby k tomu skutečně došlo, bude zřejmě zapotřebí zlevnit HPV testování tak, aby bylo cenově konkurenceschopné se stávajícími cytologickými vyšetřeními.

Literatura

1. Burd EM. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microbiol Rev* 2003; 16(1): 1–17.
2. Schiffman M, Castle PE, Jeronimo J et al. Human papillomavirus and cervical cancer. *Lancet* 2007; 370(9590): 890–907. doi: 10.1016/S0140-6736(07)61416-0.
3. Zheng ZM, Baker CC. Papillomavirus genome structure, expression, and post-transcriptional regulation. *Front Biosci* 2006; 11: 2286–2302.
4. Graham SV. Human papillomavirus: gene expression, regulation and prospects for novel diagnostic methods and antiviral therapies. *Future Microbiol* 2010; 5(10): 1493–1506. doi: 10.2217/fmb.10.107.
5. Origeni M, Cristoforoni P, Carminati G et al. E6/E7 mRNA testing for human papilloma virus-induced high-grade cervical intraepithelial disease (CIN2/CIN3): a promising perspective. *Ecantermedicallscience* 2015; 9: 533. doi: 10.3332/ecancer.2015.533.
6. Munkhdelger J, Kim G, Wang HY et al. Performance of HPV E6/E7 mRNA RT-qPCR for screening and diagnosis of cervical cancer with ThinPrep® Pap test samples. *Exp Mol Pathol* 2014; 97(2): 279–284. doi: 10.1016/j.yexmp.2014.08.004.
7. Cuschieri K, Wentzensen N. Human papillomavirus mRNA and p16 detection as biomarkers for the improved diagnosis of cervical neoplasia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008; 17(10): 2536–2545. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-08-0306.
8. Darragh TM, Colgan TJ, Cox JT et al. The Lower anogenital squamous terminology standardization project for HPV-associated lesions: background and consensus recommendations from the college of american pathologists and the american society for colposcopy and cervical pathology. *Arch Pathol Lab Med* 2012; 136(10): 1266–1297. doi: 10.5858/arpa.LGT200570.
9. Clarke MA, Wentzensen N, Mirabello L et al. Human papillomavirus DNA methylation as a potential biomarker for cervical cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2012; 21(12): 2125–2137. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-12-0905.
10. Bhattacharjee B, Sengupta S. CpG methylation of HPV 16 LCR at E2 binding site proximal to P97 is associated with cervical cancer in presence of intact E2. *Virology* 2006; 354(2): 280–285. doi: 10.1016/j.virol.2006.06.018.
11. Vinokurova S, von Knebel Doeberitz M. Differential methylation of the HPV 16 upstream regulatory region during epithelial differentiation and neoplastic transformation. *Plos One* 2011; 6(9): e24451. doi: 10.1371/journal.pone.0024451.
12. Hublarová P, Hrstka R, Rotterová P et al. Prediction of human papillomavirus 16 E6 gene expression and cervical intraepithelial neoplasia progression by methylation status. *Int J Gynecol Cancer* 2009; 19(3): 321–325. doi: 10.1111/IGC.0b013e31819d8a5c.

13. Steenbergen RD, Snijders PJ, Heideman DA et al. Clinical implications of (epi)genetic changes in HPV-induced cervical precancerous lesions. *Nat Rev Cancer* 2014; 14(6): 395–405. doi: 10.1038/nrc3728.
14. Kalantari M, Chase DM, Tewari KS et al. Recombination of human papillomavirus-16 and host DNA in exfoliated cervical cells: A pilot study of L1 gene methylation and chromosomal integration as biomarkers of carcinogenic progression. *J Med Virol* 2010; 82(2): 311–320. doi: 10.1002/jmv.21676.
15. Bartošík M, Ondroušková E. Nové metody studia metylace DNA – MS-HRM analýza a elektrochemie. *Klin Onkol* 2016; 29 (Suppl 4): 64–71. doi: 10.14735/amko20164564.
16. Sharma G, Dua P, Agarwal SM. A comprehensive review of dysregulated miRNAs involved in cervical cancer. *Curr Genomics* 2014; 15(4): 310–323. doi: 10.2174/1389202915666140528003249.
17. Ondryášová H, Koudeláková V, Hajdúch M. Karcinom cervixu – možnosti detekce lidského papilomaviru. *Čes Gynek* 2013; 78(3): 289–294.
18. Ronco G, Segnan N, Giorgi-Rossi P et al. Human papillomavirus testing and liquid-based cytology: results at recruitment from the new technologies for cervical cancer randomized controlled trial. *J Natl Cancer Inst* 2006; 98(11): 765–774. doi: 10.1093/jnci/djj209.
19. Morris BJ. Cervical human papillomavirus screening by PCR: advantages of targeting the E6/E7 region. *Clin Chem Lab Med* 2005; 43(11): 1171–1177. doi: 10.1515/CCLM.2005.203
20. The American cancer society medical and editorial content team. HPV and HPV Testing. [online]. Available from: <https://www.cancer.org/cancer/cancer-causes/infectious-agents/hpv/hpv-and-hpv-testing.html>.
21. Xu Y, Liu Y, Wu Y et al. Fluorescent probe-based lateral flow assay for multiplex nucleic acid detection. *Anal Chem* 2014; 86(12): 5611–5614. doi: 10.1021/ac5010458.
22. Kumvongpin R, Jearanaikoon P, Wilailuckana C et al. Detection assay for HPV16 and HPV18 by loop-mediated isothermal amplification with lateral flow dipstick tests. *Mol Med Rep* 2017; 15(5): 3203–3209. doi: 10.3892/mmr.2017.6370.
23. Bartošík M, Paleček E, Vojtěšek B. Elektrochemická analýza nukleových kyselin, bílkovin a polysacharidů v biomedicině. *Klin Onkol* 2014; 27 (Suppl 1): 53–60. doi: 10.14735/amko20141553.
24. Paleček E, Bartošík M. Electrochemistry of nucleic acids. *Chem Rev* 2012; 112(6): 3427–3481. doi: 10.1021/cr200303p.
25. Huang H, Bai W, Dong C et al. An ultrasensitive electrochemical DNA biosensor based on graphene/Au nanorod/polythionine for human papillomavirus DNA detection. *Biosens Bioelectron* 2015; 68: 442–446. doi: 10.1016/j.bios.2015.01.039.
26. Karimizefreh A, Mahyari FA, VaezJalali M et al. Impedimetric biosensor for the DNA of the human papilloma virus based on the use of gold nanosheets. *Microchim Acta* 2017; 184(14): 1729–1737. doi: 10.1007/s00604-017-2173-8.
27. Bartošík M, Ďuríková H, Vojtěšek B et al. Electrochemical chip-based genomagnetic assay for detection of high-risk human papillomavirus DNA. *Biosens Bioelectron* 2016; 83: 300–305. doi: 10.1016/j.bios.2016.04.035.
28. Lin J, Ma B, Fang J et al. Colorimetric detection of 23 human papillomavirus genotypes by loop-mediated isothermal amplification. *Clin Lab* 2017; 63(3): 495–505. doi: 10.7754/Clin.Lab.2016.160906.
29. Persano S, Valentini P, Kim JH et al. Colorimetric detection of human papilloma virus by double isothermal amplification. *Chem Commun* 2013; 49(90): 10605–10607. doi: 10.1039/c3cc45459b.
30. Saetiew C, Limpaboon T, Jearanaikoon P et al. Rapid detection of the most common high-risk human papillomaviruses by loop-mediated isothermal amplification. *J Virol Methods* 2011; 178(1–2): 22–30. doi: 10.1016/j.jviro.2011.08.007.

Long Non-coding RNAs as Regulators of the Mitogen-activated Protein Kinase (MAPK) Pathway in Cancer

Dlouhé nekódující molekuly RNA jako regulátory mitogenem aktivované proteinkinázové dráhy (MAPK) v nádorech

Tasharofi B., Ghafouri-Fard S.

Department of Medical Genetics, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Summary

Background: The mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathway contributes to regulation of many cellular functions, such as cell proliferation and differentiation, mobility and apoptosis. Extracellular signal-regulated kinase 1/2 (ERK1/2), c-Jun N-terminal kinase (JNK)/p38 and ERK5 construct the three main modules in this pathway. The Raf-ERK1/2 and JNK cascades contribute in cell proliferation, migration, and survival and are principal regulators of malignant phenotype. This pathway is itself regulated by several outside signals as well as lateral signals from other pathways, which construct a complex network. Long non-coding RNAs (lncRNAs) as principal modulators of gene expression at transcriptional and post-transcriptional levels also regulate this pathway. In addition, lncRNA signature can be used as biomarker and target of novel treatment strategies in cancer patients. **Aim:** To explore the role of lncRNAs in regulation of MAPK pathway. **Conclusion:** Considering the role of this pathway in the pathogenesis of several cancers, alterations in lncRNA expression lead to changes in MAPK pathway resulting in inhibition of apoptosis and induction of cell proliferation and migration. Moreover, some lncRNAs participate in cross-talk between MAPK and other cancer-related pathways, such as PI3K/Akt pathway through regulation of certain shared proteins between these pathways. Based on the availability of certain anticancer drugs that modulate this pathway, identification of lncRNAs that affect this pathway would help in establishment of effective therapies.

Key words

RNA – long noncoding – mitogen-activated protein kinases – signal transduction

Souhrn

Úvod: Mitogenem aktivovaná proteinkinázová dráha (MAPK) přispívá k regulaci mnoha buněčných funkcí, jako je proliferace a diferenciací buněk, mobilita a apoptóza. Extracelulární signálně regulovaná kináza 1/2 (ERK1/2), c-Jun N-terminální kináza (JNK)/p38 a ERK5 jsou tři hlavní moduly v této dráze. Kaskády Raf-ERK1/2 a JNK přispívají k proliferaci buněk, migraci a přežití a jsou hlavními regulátory maligního fenotypu. Tato dráha je sama regulována několika vnějšími signály, stejně jako bočními signály z jiných signálních drah, které vytvářejí komplexní síť. Dlouhé nekódující RNA (lncRNA) jako hlavní modulátory genové exprese na transkripční a posttranskripční úrovni a také regulují tuto dráhu. Kromě toho mohou lncRNA sloužit jako biomarker a cíl nových léčebných strategií u pacientů s nádory. **Cíl:** Prozkoumat roli lncRNA v regulaci dráhy MAPK. **Závěr:** Vzhledem k úloze této dráhy v patogenezi několika typů nádorů dochází ke změnám exprese lncRNA, které vedou ke změnám v dráze MAPK, což vede k inhibici apoptózy a indukci buněčné proliferace a migrace. Některé lncRNA se navíc podílejí na spojení mezi MAPK a jinými drahami souvisejícími s nádory, jako je dráha PI3K/Akt prostřednictvím regulace určitých sdílených proteinů mezi těmito drahami. Na základě dostupnosti některých protinádorových léčiv, modulujících tuto dráhu, by identifikace lncRNA, ovlivňující tuto dráhu pomohla při vytváření účinných terapií.

Klíčová slova

RNA – dlouhé nekódování – mitogenem aktivované proteinové kinázy – signální transdukce

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.



Soudeh Ghafouri-Fard, MD, PhD
Department of Medical Genetics
Shahid Beheshti University
of Medical Sciences
Bldg No.2 SBUMS
Arabi Ave, Daneshjoo Blvd, Velenjak
Tehran, Iran
e-mail: s.ghafourifard@sbmu.ac.ir

Submitted/Obdrženo: 5. 12. 2017

Accepted/Přijato: 5. 2. 2018

doi: 10.14735/amko201895

Introduction

The mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathway contributes to a wide range of cellular functions, such as cell proliferation and differentiation, mobility and apoptosis. Several lines of evidence suggest that this pathway does not work as a linear signaling pathway that directly conveys certain signals to a definite cellular response. Instead, several outside signals as well as lateral signals from other pathways contribute to construction of a complex network through which MAPK pathway operates [1]. Abnormal regulation of this pathway participates in the pathogenesis of several malignancies [2]. Extracellular signal-regulated kinase 1/2 (ERK1/2), c-Jun N-terminal kinase (JNK)/p38 and ERK5 construct the three main modules in this pathway [2]. The Raf-ERK1/2 and JNK cascades contribute to cell proliferation, migration, and survival and are principal regulators of malignant phenotype [3].

Among putative regulators of this pathway are long non-coding RNAs (lncRNAs). lncRNAs make a high pro-

portion of human transcripts, which are not translated to proteins [4,5]. With sizes more than 200 base pairs, they regulate expression of protein coding genes as well as microRNAs (miRNAs) [6]. Subsequently, they affect telomere biology, chromatin dynamics, genome structure organization [7], DNA repair [8] and tissue homeostasis [9]. They also participate in tumorigenesis process via different mechanisms, such as transcription repression [10], induction of epithelial-mesenchymal transition (EMT) [11], inhibition of tumor suppressors expression [12,13], over-expression of certain oncogenes [14,15], regulation of tumor-associated signaling pathways [16] as well as modulation of tumor microenvironment [17]. Recently, a handful of lncRNAs have been shown to regulate the MAPK pathway through modulation of the expression of different proteins within this pathway. We discuss specific roles of these lncRNAs in the following sections. Special site of their action in the MAPK pathway has been demonstrated in Fig. 1. In addition, their characteristics, such as their genomic

location and their expression pattern in cancers have been summarized in Tab. 1.

Antisense RNA in the INK4 locus (ANRIL)

Aberrant expression of ANRIL has been detected in a variety of cancers including glioma in which its expression has been associated with tumor grade and patients survival. In vitro studies have shown that ANRIL silencing results in suppression of cell proliferation as well as induction of cell cycle arrest and apoptosis in glioma cells by modulation of expression of ERK, JNK and p38 from MAPK signaling pathway [18].

BMP/OP-Responsive Gene (BORG)

The expression levels of this lncRNA have been associated with invasive and metastatic potential of breast tumors. Its role in breast cancer pathogenesis is exerted through binding with Tripartite Motif Containing 28 (TRIM28) protein and subsequent enhancement of its localization and transcriptional repressive activity. BORG-expressing breast cancer cells attain metastatic

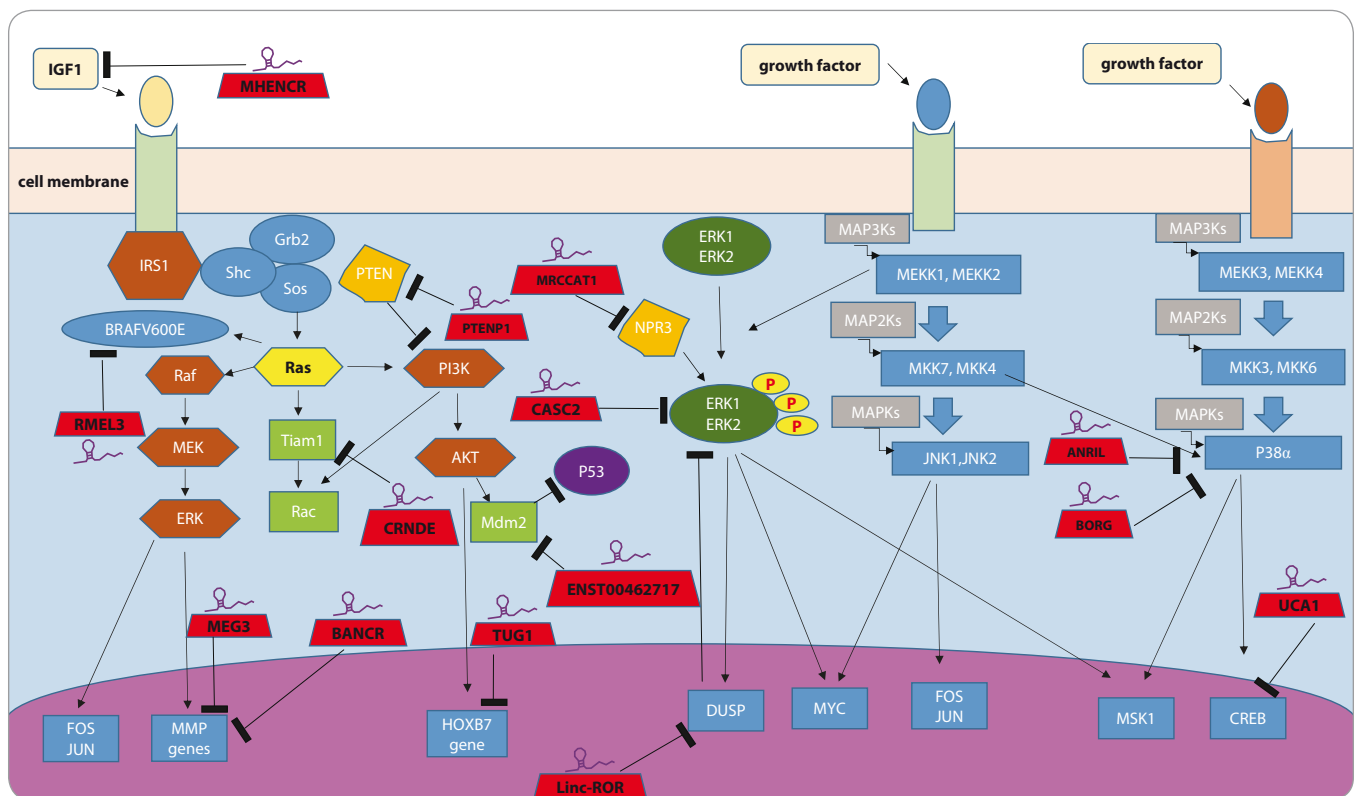


Fig. 1. Schema of mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathway with several proteins involved in it. Long non-coding RNAs (demonstrated in red trapezuses) regulate this pathway at several points.

Tab. 1. Detailed characteristics of long non-coding RNAs that regulate MAPK pathway.

LncRNAs	Location	Expression pattern	Cancer	Role
<i>UCA1</i>	19p13.12	up	bladder	regulation of expression and phosphorylation of AKT and CREB
<i>Linc-ROR</i>	18q21.31	up	breast	decreasing the stability of negative regulator of ERK (phosphatase DUSP7)
<i>PTENP1</i>	9p21	down	breast	regulation of the expression of PTEN, inhibition of cell proliferation and growth, cell cycle and migration
<i>CYTOR</i>	2p11.2	up	breast	cell proliferation, cell migration, cytoskeletal organization
<i>BORG</i>	-	up	breast	regulation of p38 MAPK activity
<i>CRNDE</i>	16q12.2	up	colorectal	regulation of Tiam1, GRB2 and RIN1 expression
<i>BANCR</i>	9q21	up	endometria	regulation of cancer cell proliferation and invasion by regulating MMP2 and MMP1
<i>MALAT1</i>	11q13.1	up	gallbladder carcinoma, neuroblastoma	regulation of proliferation and metastasis, growth rate and invasion
<i>CASC2</i>	10q26.11	down	gastric	regulation of proliferation via ERK1/2 and JNK inactivation
<i>ANRIL</i>	9p21.3	up	glioma	regulation of proliferation via p38, ERK1/2 and JNK activation
<i>MALAT1</i>	11q13.1	down	glioblastoma	regulation of phosphorylated ERK1/2 levels
<i>HULC</i>	6p24.3	up	glioma	important role in angiogenesis and tumor aggravation
<i>MALAT1</i>	11q13.1	up	several cancers	regulation of cell proliferation and invasion by changing MMP2 expression
<i>CASC2</i>	10q26.11	down	hepatocellular carcinoma	regulation of cell proliferation, migration, invasion and apoptosis via p38, ERK1/2 and JNK activation
<i>Igf2as</i>	11p15.5	up	hepatocellular carcinoma	regulation of cell proliferation, apoptosis and invasion
<i>BANCR</i>	9q21	up	melanoma	regulation of cell proliferation and migration via ERK1/2 and JNK activation
<i>RMEL3</i>		up	melanoma	increase cell survival and proliferation
<i>LncRNA-LET</i>		down	nasopharyngeal carcinoma	induction of cell cycle arrest in G0/G1 phase by phosphorylation of ERK1/2
<i>TUG1</i>	22q12.2	down	non-small cell lung cancer	control of cell proliferation through control of HOXB7
<i>MEG3</i>	14q32.2	down	breast	regulation of cell proliferation, invasion, and angiogenesis by downregulating PCNA, MMP-9 and VEGFA
<i>MHENCRCR</i>	20q13.33	up	melanoma	regulation of cell proliferation, cell cycle arrest, apoptosis and migration by bounding to miR-425 and miR-489, upregulation of their target genes IGF1 and SPIN1 expression
<i>MRCCAT1</i>	5q15	up	clear cell renal cell carcinoma	regulation of metastasis, proliferation and migration via inhibiting NPR3 by recruiting PRC2 to NPR3 promoter
<i>ENST00462717</i>		down	glioma	regulation of cell proliferation, survival and migration by inhibiting MDM2
<i>AWPPH</i>		up	hepatocellular carcinoma	regulation of YBX1-mediated activation of SNAIL1 translation
<i>URHC</i>	2q31	up	hepatocellular carcinoma	regulation of proliferation and apoptosis via ZAK
<i>IncARSR</i>		up	hepatocellular carcinoma	regulation of drug response via decreasing PTEN expression
<i>CCHE1</i>	10q21.1	up	hepatocellular carcinoma	regulation of cell growth and apoptosis
<i>CCAT1</i>	8q24.21	up	medulloblastoma	regulation of cell proliferation and metastasis

characteristics through inhibition of p38 MAPK activity and enhancement of ERK1/2 function. This *BORG*-mediated alteration in MAPK function was TRIM28 dependent as demonstrated by high p38 MAPK : ERK1/2 activity ratios in TRIM28 silenced cells [19].

BRAF-activated non-coding RNA (BANCR)

Elevated expression of *BANCR* has been detected in human malignant melanoma cell lines and tissues. *BANCR* silencing has suppressed proliferation of tumor cells and inhibited MAPK pathway through down-regulation of ERK1/2 and JNK [3]. In addition, *BANCR* silencing in endometrial cancer cells inhibited their proliferation and arrested the cell cycle at G0/G1. *BANCR* anti-apoptotic role is possibly exerted through up-regulation of Cyclin D1 and Bcl-2. Besides, *BANCR* activates ERK/MAPK pathway and then induces expression of matrix metalloproteinases 1 and 2 (MMP1 and MMP2) in endometrial cancer cells leading to enhancement in proliferation, migration, and invasion of these cells [20]. In colorectal cancer (CRC) and lung cancer, *BANCR* activates mitogen-activated protein kinase (MEK)/ERK and JNK/MAPK pathways, resp. [21,22].

Cancer susceptibility candidate 2 (CASC2)

Its role as a tumor suppressor gene was first demonstrated in endometrial cancer in which its down-regulation has been detected [23,24]. Subsequently, its down-regulation has been confirmed in glioma and renal cell carcinoma tissues and cell lines where *CASC2* exerts its tumor suppressive role through down-regulation of miR-21 [25,26]. In lung cancer, its down-regulation was significantly correlated with advanced tumor, node and metastasis (TNM) stage and tumor size indicating its role as an independent predictor for overall survival (OS) of these patients [27]. Furthermore, lower expression of this lncRNA in CRC patients was associated with advanced TNM stage. *In vitro* studies have shown that it functions as a competing endogenous RNA (ceRNA) for miR-18 leading to up-regulation

of expression of PIAS3 and STAT3 downstream genes and subsequent suppression of CRC cell proliferation [28]. More recently, its aberrant expression has been demonstrated in hepatocellular carcinoma (HCC) and gastric cancer where it has been shown to exert its role via inhibition of MAPK pathway [29,30]. In *CASC2* over-expressed CRC cells, phosphorylation of ERK and JNK was decreased showing the role of *CASC2* in inhibition of the MAPK pathway [29].

Colon cancer-associated transcript-1 (CCAT1)

The expression levels of *CCAT1* increase in a variety of tumors including medulloblastoma. Its silencing has remarkably suppressed cell proliferation, induced cell cycle arrest in medulloblastoma cells and decreased phosphorylated levels of MAPK, ERK and MEK. So the oncogenic roles of *CCAT1* in medulloblastoma is possibly exerted via regulating the MAPK pathway [31].

Colorectal neoplasia differentially expressed (CRNDE)

The elevated expression of this lncRNA has been detected in colorectal adenomas and cancers compared with normal colon epithelia [32]. In addition, high plasma levels of a certain splice variant of *CRNDE* is a putative plasma biomarker for CRC with a sensitivity of 87% and specificity of 93% [32]. Up-regulation of this lncRNA has been demonstrated in lymphocytic leukemias as well as various solid tumors [33]. Notably, in addition to anti-apoptotic effects, *CRNDE* has a role in enhancement of proliferation, migration and invasion of glioma stem cells [34]. Its over-expression has been associated with poor patients' outcome in ovarian cancer [35] and CRC patients [36]. More recently, over-expression of this lncRNA has been demonstrated in a large cohort of CRC patients with remarkable associations between its high expression and advanced cancer stages as well as poor prognosis [37]. Notably, the mRNA expression profile of *CRNDE*-knocked out CRC cells shows its regulatory function on the Ras and MAPK pathways.

In addition, many of *CRNDE*-induced Ras/MAPK signaling genes participate in CRC development [37].

Cytoskeleton regulator RNA (CYTOR)

This intergenic lncRNA has a crucial role in cell proliferation, cell migration, and cytoskeletal organization. Its expression has been increased in all subtypes of breast cancer as well as a variety of other malignancies including thyroid, stomach, lung, renal, and liver cancers. Using an innovative method based on the recognition of correlations between the expression of lncRNA and protein-coding genes which participate in certain functions, *CYTOR* has been shown to be associated with the epidermal growth factor receptor (EGFR), mammalian target of rapamycin (mTOR), and MAPK pathways [38].

Insulin-like growth factor 2 antisense 1 (Igf2as)

The expression of this lncRNA has been increased in HCC cells and tissues. Its silencing inhibited cell proliferation and migration and induced apoptosis through inactivation of ERK/MAPK signaling pathway [39].

LincRNA regulator of reprogramming (linc-RoR)

This lncRNA was initially recognized to alter reprogramming of induced pluripotent stem cells [40]. Subsequently, it has been demonstrated to act as a miRNA sponge which changes the expression of the principal transcription factors in human embryonic stem cells [41]. Besides, it both inhibits p53 translation [42] and enhances c-Myc expression through interaction with heterogeneous nuclear ribonucleoprotein I (hnRNP I) [43]. While in triple negative breast cancer, linc-RoR increases cell invasion via miR-145/ARF6 pathway [44], in estrogen receptor positive breast tumors it activates MAPK/ERK pathway through diminishing the stability of dual specificity phosphatase 7 (DUSP7) which down-regulates ERK [45].

LncRNA-AWPPH

This lncRNA has been firstly identified as an over-expressed lncRNA in HCC

whose expression was correlated with invasion, advanced TNM stage as well as poor recurrence-free and OS. *In vitro* studies have shown its interaction with Y-Box Binding Protein 1 (YBX1) which leads to up-regulation of SNAIL1 and PIK3CA expressions and activation of the PI3K/AKT pathway [46].

Lnc00462717

In glioma tissues, its low expression was associated with the malignant status. *In vitro* studies have shown its suppressive effect on glioma cell proliferation, survival and migration, which is possibly due to its negative effect on MDM2 expression. In addition, it has a regulatory role on MAPK pathway through decreasing the phosphorylation of p38, ERK1/2, and JNK [47].

LncRNA-low expression in tumor (LET)

It is a tumor suppressor lncRNA, which is down-regulated in a variety of malignancies including nasopharyngeal carcinoma (NPC). *In vitro* studies have demonstrated its role in regulation of cell proliferation, adhesion and invasion of NPC through modulation of MAPK/ERK pathway genes. p-ERK1/2 and p-MEK were considerably down-regulated in LET over-expressed cells with no change in total-ERK1/2 and total-MEK levels. So LET inhibits the cell growth and invasion of NPC cells via suppression of ERK signaling pathway [48].

Metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1 (MALAT1)

This lncRNA has been known as an oncogene associated with metastasis potential of several cancers. MALAT1 enhances cancer cell migration and the EMT by modulation of the expression of several genes [49]. MALAT1 silencing in gall bladder cancer (GBC) cell lines has led to suppression of the proliferation and metastasis of these cell in addition to down-regulation of the expression of phosphorylated MEK1/2, ERK 1/2, MAPK, and JNK 1/2/3 leading to inhibition of MAPK pathway [50]. Moreover, knockout of MALAT1 in lung cancer cells has resulted in down-regulation

of numerous metastasis related genes including Glypican 6 (GPC6) and C-X-C motif chemokine 5 (CXCL5) [51] both of which participate in regulation of MAPK pathway [52,53]. Notably, MALAT1 has been one of the most considerably up-regulated lncRNAs during neuroblastoma-derived Neuro-2a (N2a) cell differentiation whose silencing has impaired neurite outgrowth and induced cell death possibly via inactivation of MAPK signaling pathway as well as aberrant activation of Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) and P53 signaling pathway [54].

Metastatic renal cell carcinoma-associated transcript 1 (MRCCAT1)

This lncRNA is over-expressed in metastatic clear cell renal cell carcinoma (ccRCC) tissues. Its expression is associated with the metastatic phenotype of these cells as well as patients' outcome. MRCCAT1 inhibits Natriuretic Peptide Receptor 3 (NPR3) transcription by recruiting polycomb repressive complex 2 (PRC2) to NPR3 promoter leading to activation of p38-MAPK signaling pathway. Forced over-expression of this lncRNA has resulted in elevation of phosphorylated p38 levels while the phosphorylation levels of ERK and JNK have not been altered [55].

Maternally expressed gene 3 (MEG3)

This imprinted gene is expressed in a variety of normal tissues [56]. On the other hand, its expression has been decreased or lost in several tumors including glioma [57], meningiomas [58], hepatoma [59], gastric cancer [60] and breast cancer [61]. Its tumor suppressive effects have been demonstrated by several *in vitro* studies [57,60]. In breast cancer cells, it has a fundamental role in regulation of cell proliferation and invasion as well as expression of angiogenesis-related factors which is at least partially exerted through AKT signaling pathway [61].

Melanoma highly expressed noncoding RNA (MHENCR)

Its expression has been increased in melanoma tissues and metastatic melanoma in association with poor survival

of melanoma patients. Its silencing has resulted in inhibition of cells proliferation and migration as well as enhancement of cell cycle arrest and apoptosis. It acts as a ceRNA for miR-425 and miR-489 leading to over-expression of their target genes *IGF1* and *SPIN1* and subsequent activation of PI3K-Akt pathway [62]. Considering the role of miR-489 in regulation of MAPK signaling [63], MHENCR might be involved in regulation of this pathway as well.

PTEN pseudogene-1 (PTENP1)

Its over-expression in MCF7 breast cancer cells has resulted in inhibition of cell proliferation and migration as well as down-regulation of cyclin A2, CDK2, p-AKT, p-p44/42 MAPK and p-p38 MAPK, so this lncRNA can impede the proliferation and migration of breast cancer cells through modulation of AKT and MAPK signaling pathways [64].

RMEL3 (ENSG00000250961)

Elevated expression of RMEL3 in melanoma is significantly linked with the existence of BRAF^{V600E} mutation. Its knock-down has considerably decreased colony formation in melanoma cell lines that harbor this mutation. Its expression levels have been correlated with the expression of several MAPK and PI3K pathways genes. Besides, its silencing has diminished expression of pAKT and BRAF in addition to several activators or effectors of MAPK and PI3K pathways such as FGF2, FGF3, DUSP6, ITGB3 and GNG2. Consequently, both *in silico* analysis and experimental data confirmed its role in MAPK and PI3K signaling [65].

Taurine-upregulated gene 1 (TUG1)

This lncRNA has a role in regulation of gene expression through engagement of PRC2. Its down-regulation has been demonstrated in a variety of cancers including non-small cell lung carcinoma (NSCLC) tissues in which its down-expression has been associated with higher TNM stage and tumor size, as well as poor patients' outcome. It has been shown to be a direct transcriptional target of p53 whose silencing leads to enhancement of cell proliferation and

up-regulation of homeobox B7 (HOXB7) expression. As the levels of p-ERK, p-AKT and p-GSK3b were increased following *TUG1* silencing, it has been hypothesized that *TUG1* contributes in AKT/MAPK pathway through modulation of HOXB7 expression [66].

Urothelial carcinoma associated 1 (UCA1)

This lncRNA has an oncogenic role in human bladder cancer pathogenesis. Its silencing has resulted in down-regulation of p300 (encoded by EP300) and its coactivator cAMP response element-binding protein (CREB). In addition, UCA1 modulates AKT activity and cell cycle progression through CREB [67]. CREB is also been phosphorylated through activation of MAPK-interacting kinase (MNK) in MAPK cascade [68].

Up-regulated in hepatocellular carcinoma (URHC)

Up-regulation of this lncRNA in HCC cell lines has been demonstrated through using lncRNA microarray. In addition, its over-expression in HCC tissues has been correlated with poor OS. *In vitro* studies have shown its role in modulation of cell proliferation and apoptosis through down-regulation of leucine zipper containing kinase AZK (ZAK). ERK, JNK and p38 kinase phosphorylation has been altered in URHC knocked-down cells, which implies that the role of URHC in modulation of cell growth and apoptosis might be exerted through inactivation of the MAPK signaling pathway. Consequently, URHC regulates cell proliferation and apoptosis via ERK/MAPK inhibition by targeting ZAK [69].

Discussion

Recent studies have demonstrated that lncRNA signature can be used as biomarker and target of novel treatment strategies in cancer patients [70,71]. lncRNAs participate in principal cancer-related processes, such as cell proliferation, cell migration, and EMT through the modulation of important signaling pathways including mTOR and MAPK pathways [38]. A comprehensive genome-wide transcriptional in-

vestigation of lncRNA signature in breast cancer samples has led to identification of lncRNA specific profile in breast cancer subtypes. Of note, among the nine lncRNAs that constitute the luminal B signature, one chief lncRNA category was linked to the MAPK pathway [38]. Considering the prominent role of MAPK pathway in the pathogenesis of melanoma and existence of MAPK targeting therapeutic modalities in melanoma [72], expression analysis of MAPK-related lncRNAs in this kind of cancer is of special significance.

lncRNAs regulatory roles in fundamental cellular pathways are exerted through modulation of gene expression at the transcriptional or posttranscriptional level. Some of their functions have been elaborated, while others need to be clarified. For instance, the regulatory role of *CRNDE* in regulation of MAPK pathway in CRC [37] and in the maintenance of glioma stem cells [34] have been demonstrated. Considering the role of MAPK in glioma stem cells [73], future studies are needed to elucidate the functional link between the MAPK pathway, *CRNDE* and stem cell maintenance in glioma. Besides, consistent with the existence of a complex interaction network between lncRNAs, miRNAs and protein coding genes especially in the context of cancer, *CASC2* has been shown to exert its tumor suppressive role via modulation of both miRNAs and protein coding genes including those located in MAPK pathway [25,26,29]. Additionally, as revealed by independent studies, a certain lncRNA might regulate expression of different pathways in distinct types of cancers. For instance, while *MALAT1* activates MAPK pathway in GBC [50], it induces the phosphoinositide 3-kinase (PI3K/Akt) pathway in osteosarcoma cells without any significant alteration in MAPK pathway in these cells [74].

Notably, *lncRNA-AWPPH* and *UCA1* possibly participate in cross-talk between MAPK and PI3K/Akt pathways through regulation of certain shared proteins between these pathways. Previous reports have demonstrated that these two signaling pathways interact with

each other at multiple levels. However, as revealed by both *in silico* and experimental studies, such interactions are context-dependent [75] which is in line with the proposed background-reliant role of lncRNAs in regulation of these pathways.

Considering the advent of pathway-based therapeutic modalities for cancer especially in the context of precision medicine [76], expression analysis of lncRNAs that modulate certain cancer related pathways is of clinical importance. Future studies are needed to elaborate function of lncRNAs in these pathways in each cancer type.

References

- Schaeffer HJ, Weber MJ. Mitogen-activated protein kinases: Specific messages from ubiquitous messengers. *Mol Cell Biol* 1999; 19(4): 2435–2444.
- Sebolt-Leopold JS, Herrera R. Targeting the mitogen-activated protein kinase cascade to treat cancer. *Nat Rev Cancer* 2004; 4(12): 937–947. doi: 10.1038/nrc1503.
- Li R, Zhang L, Jia L et al. Long non-coding RNA BANCR promotes proliferation in malignant melanoma by regulating MAPK pathway activation. *Plos One* 2014; 9(6): e100893. doi: 10.1371/journal.pone.0100893.
- Soudyab M, Iranpour M, Ghafouri-Fard S. The role of long non-coding RNAs in breast cancer. *Arch Iran Med* 2016; 19(7): 508–517. doi: 0161907/AIM.0011.
- Iranpour M, Soudyab M, Geranpayeh L et al. Expression analysis of four long noncoding RNAs in breast cancer. *Tumour Biol* 2016; 37(3): 2933–2940. doi: 10.1007/s13277-015-4135-2.
- Nikpayam E, Tasharofi B, Sarrafzadeh S et al. The role of long non-coding RNAs in ovarian cancer. *Iran Biomed J* 2017; 21(1): 3–15. doi: 10.6091/21.1.24.
- Dianatpour A, Ghafouri-Fard S. Long non coding RNA expression intersecting cancer and spermatogenesis: A systematic review. *Asian Pac J Cancer Prev* 2017; 18(10): 2601–2610. doi: 10.22034/APJCP.2017.18.10.2601.
- Dianatpour A, Ghafouri-Fard S. The role of long non coding RNAs in the repair of dna double strand breaks. *Int J Mol Cell Med* 2017; 6(1): 1–12.
- Melissari MT, Grote P. Roles for long non-coding RNAs in physiology and disease. *Pflugers Archiv* 2016; 468(6): 945–958. doi: 10.1007/s00424-016-1804-y.
- Sarrafzadeh S, Geranpayeh L, Ghafouri-Fard S. Expression analysis of long non-coding PCAT-1 in breast cancer. *Int J Hematol Oncol Stem Cell Res* 2017; 11(3): 185–191.
- Nikpayam E, Soudyab M, Tasharofi B et al. Expression analysis of long non-coding ATB and its putative target in breast cancer. *Breast Dis* 2017; 37(1): 11–20. doi: 10.3233/BD-160264.
- Khorshidi HR, Taheri M, Noroozi R et al. ANRIL genetic variants in Iranian breast cancer patients. *Cell J* 2017; 19 (Suppl 1): 72–78. doi: 10.22074/cellj.2017.4496.
- Taheri M, Pouresmaeili F, Omrani MD et al. Association of ANRIL gene polymorphisms with prostate cancer and benign prostatic hyperplasia in an Iranian population. *Biomark Med* 2017; 11(5): 413–422. doi: 10.2217/bmm-2016-0378.
- Taheri M, Habibi M, Noroozi R et al. HOTAIR genetic variants are associated with prostate cancer and benign prostatic hyperplasia in an Iranian population. *Gene* 2017; 613: 20–24. doi: 10.1016/j.gene.2017.02.031.

15. Khorshidi HR, Taheri M, Noroozi R et al. Investigation of the association of HOTAIR single nucleotide polymorphisms and risk of breast cancer in an Iranian population. *Int J Cancer Manag* 2017; 10(5): e7498. doi: 10.5812/ijcm.7498.
16. Sarrafzadeh S, Geranpayeh L, Tasharofi B et al. Expression study and clinical correlations of MYC and CCAT2 in breast cancer patients. *Iran Biomed J* 2017; 21(5): 303–311.
17. Tasharofi B, Soudyab M, Nikpayam E et al. Comparative expression analysis of hypoxia-inducible factor- α and its natural occurring antisense in breast cancer tissues and adjacent noncancerous tissues. *Cell Biochem Funct* 2016; 34(8): 572–578. doi: 10.1002/cbf.3230.
18. Xu XC, Wan XF, Zhang ZR. Long non-coding RNA ANRIL promotes tumorigenesis in glioma via MAPK signaling pathways. *Int J Clin Exp Pathol* 2016; 9(10): 10803–10809.
19. Gooding AJ, Zhang B, Jahanbani FK et al. The lncRNA BORG drives breast cancer metastasis and disease recurrence. *Sci Rep* 2017; 7: 12698. doi: 10.1038/s41598-017-12716-6.
20. Wang DN, Wang DB, Wang N et al. Long non-coding RNA BANCR promotes endometrial cancer cell proliferation and invasion by regulating MMP2 and MMP1 via ERK/MAPK signaling pathway. *Cell Physiol Biochem* 2016; 40(3–4): 644–656. doi: 10.1159/000452577.
21. Quo QH, Zhao Y, Chen JJ et al. BRAF-activated long non-coding RNA contributes to colorectal cancer migration by inducing epithelial-mesenchymal transition. *Oncol Lett* 2014; 8(2): 869–875. doi: 10.3892/ol.2014.2154.
22. Jiang WJ, Zhang DD, Xu BN et al. Long non-coding RNA BANCR promotes proliferation and migration of lung carcinoma via MAPK pathways. *Biomed Pharmacother* 2015; 69: 90–95. doi: 10.1016/j.biopha.2014.11.027.
23. Baldinu P, Cossu A, Manca A et al. Identification of a novel candidate gene, CASC2, in a region of common allelic loss at chromosome 10q26 in human endometrial cancer. *Hum Mutat* 2004; 23(4): 318–326. doi: 10.1002/humu.20015.
24. Baldinu P, Cossu A, Manca A et al. CASC2a gene is down-regulated in endometrial cancer. *Anticancer Res* 2007; 27(1A): 235–243.
25. Wang P, Liu YH, Yao YL et al. Long non-coding RNA CASC2 suppresses malignancy in human gliomas by miR-21. *Cell Signal* 2015; 27(2): 275–282. doi: 10.1016/j.cellsig.2014.11.011.
26. Cao Y, Xu R, Xu X et al. Downregulation of lncRNA CASC2 by microRNA-21 increases the proliferation and migration of renal cell carcinoma cells. *Mol Med Rep* 2016; 14(1): 1019–1025. doi: 10.3892/mmr.2016.5337.
27. He X, Liu Z, Su J et al. Low expression of long noncoding RNA CASC2 indicates a poor prognosis and regulates cell proliferation in non-small cell lung cancer. *Tumour Biol* 2016; 37(7): 9503–9510. doi: 10.1007/s13277-016-4787-6.
28. Huang G, Wu X, Li S et al. The long noncoding RNA CASC2 functions as a competing endogenous RNA by sponging miR-18a in colorectal cancer. *Sci Rep* 2016; 6: 26524. doi: 10.1038/srep26524.
29. Gan Y, Han N, He X et al. Long non-coding RNA CASC2 regulates cell biological behaviour through the MAPK signalling pathway in hepatocellular carcinoma. *Tumour Biol* 2017; 39(6): 1010428317706229. doi: 10.1177/1010428317706229.
30. Li P, Xue WJ, Feng Y et al. Long non-coding RNA CASC2 suppresses the proliferation of gastric cancer cells by regulating the MAPK signaling pathway. *Am J Transl Res* 2016; 8(8): 3522–3529.
31. Gao R, Zhang R, Zhang C et al. Long noncoding RNA CCAT1 promotes cell proliferation and metastasis in human medulloblastoma via MAPK pathway. *Tumori* 2017; 0: doi: 10.5301/tj.5000662.
32. Graham LD, Pedersen SK, Brown GS et al. Colorectal neoplasia differentially expressed (CRNDE), a novel gene with elevated expression in colorectal adenomas and adenocarcinomas. *Genes Cancer* 2011; 2(8): 829–840. doi: 10.1177/1947601911431081.
33. Ellis BC, Molloy PL, Graham LD. CRNDE: a long non-coding RNA involved in cancer, neurobiology, and development. *Front Genet* 2012; 3: 270. doi: 10.3389/fgene.2012.00270.
34. Zheng J, Li X, Wang P et al. CRNDE affects the malignant biological characteristics of human glioma stem cells by negatively regulating miR-186. *Oncotarget* 2015; 6(28): 25339–25355. doi: 10.18632/oncotarget.4509.
35. Szaflon LM, Balcerak A, Grzybowska EA et al. The putative oncogene, CRNDE, is a negative prognostic factor in ovarian cancer patients. *Oncotarget* 2015; 6(41): 43897–43910. doi: 10.18632/oncotarget.6016.
36. Liu T, Zhang X, Yang Y et al. Increased expression of the long noncoding RNA CRNDE-h indicates a poor prognosis in colorectal cancer, and is positively correlated with IRX5 mRNA expression. *Oncotargets Ther* 2016; 9: 1437–1448. doi: 10.2147/OTT.S98268.
37. Jiang H, Wang Y, Ai M et al. Long noncoding RNA CRNDE stabilized by hnRNPUL2 accelerates cell proliferation and migration in colorectal carcinoma via activating Ras/MAPK signaling pathways. *Cell Death Dis* 2017; 8(6): e2862. doi: 10.1038/cddis.2017.258.
38. Van Grembergen O, Bizet M, de Bony EJ et al. Portraying breast cancers with long noncoding RNAs. *Sci Adv* 2016; 2(9): e1600220. doi: 10.1126/sciadv.1600220.
39. Bao H, Guo CG, Qiu PC et al. Long non-coding RNA lgf2as controls hepatocellular carcinoma progression through the ERK/MAPK signaling pathway. *Oncol Lett* 2017; 14(3): 2831–2837. doi: 10.3892/ol.2017.6492.
40. Loewer S, Cabili MN, Guttman M et al. Large intergenic non-coding RNA-RoR modulates reprogramming of human induced pluripotent stem cells. *Nat Genet* 2010; 42(12): 1113–1117. doi: 10.1038/ng.710.
41. Wang Y, Xu Z, Jiang J et al. Endogenous miRNA sponge lincRNA-RoR regulates Oct4, Nanog, and Sox2 in human embryonic stem cell self-renewal. *Dev Cell* 2013; 25(1): 69–80. doi: 10.1016/j.devcel.2013.03.002.
42. Zhang A, Zhou N, Huang J et al. The human long non-coding RNA-RoR is a p53 repressor in response to DNA damage. *Cell Res* 2013; 23(3): 340–350. doi: 10.1038/cr.2012.164.
43. Huang J, Zhang A, Ho TT et al. Linc-RoR promotes c-Myc expression through hnRNP I and AUF1. *Nucleic Acids Res* 2016; 44(7): 3059–3069. doi: 10.1093/nar/gkv1353.
44. Eades G, Wolfson B, Zhang Y et al. LincRNA-RoR and miR-145 regulate invasion in triple-negative breast cancer via targeting ARF6. *Mol Cancer Res* 2015; 13(2): 330–338. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-14-0251.
45. Peng WX, Huang JG, Yang L et al. Linc-RoR promotes MAPK/ERK signaling and confers estrogen-independent growth of breast cancer. *Mol Cancer* 2017; 16(1): 161. doi: 10.1186/s12943-017-0727-3.
46. Zhao XD, Liu YB, Yu S. Long noncoding RNA AWPPh promotes hepatocellular carcinoma progression through YBX1 and serves as a prognostic biomarker. *Biochim Biophys Acta* 2017; 1863(7): 1805–1816. doi: 10.1016/j.bbdis.2017.04.014.
47. Wang AQ, Meng MZ, Zhao XH et al. Long non-coding RNA ENST00462717 suppresses the proliferation, survival, and migration by inhibiting MDM2/MAPK pathway in glioma. *Biochem Biophys Res Commun* 2017; 485(2): 513–521. doi: 10.1016/j.bbrc.2017.02.015.
48. Chen L, Sun L, Dong L et al. The role of long noncoding RNA-LET in cell proliferation and invasion of nasopharyngeal carcinoma and its mechanism. *Oncotargets Ther* 2017; 10: 2769–2778. doi: 10.2147/OTT.S126907.
49. Ying L, Chen Q, Wang Y et al. Upregulated MALAT-1 contributes to bladder cancer cell migration by inducing epithelial-to-mesenchymal transition. *Mol Biosyst* 2012; 8(9): 2289–2294. doi: 10.1039/c2mb25070e.
50. Wu XS, Wang XA, Wu WG et al. MALAT1 promotes the proliferation and metastasis of gallbladder cancer cells by activating the ERK/MAPK pathway. *Cancer Biol Ther* 2014; 15(6): 806–814. doi: 10.4161/cbt.28584.
51. Gutschner T, Hämmerle M, Eißmann M et al. The noncoding RNA MALAT1 is a critical regulator of the metastasis phenotype of lung cancer cells. *Cancer Res* 2013; 73(3): 1180–1189. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-2850.
52. Yiu GK, Kaunisto A, Chin YR et al. NFAT promotes carcinoma invasive migration through glypican-6. *Biochemical J* 2011; 440(1): 157–166. doi: 10.1042/BJ20110530.
53. Merabova N, Kaminski R, Krynska B et al. JCV agno-protein-induced reduction in CXCL5/LIX secretion by oligodendrocytes is associated with activation of apoptotic signaling in neurons. *J Cell Physiol* 2012; 227(8): 3119–3127. doi: 10.1002/jcp.23065.
54. Chen L, Feng PM, Zhu X et al. Long non-coding RNA Malat1 promotes neurite outgrowth through activation of ERK/MAPK signalling pathway in N2a cells. *J Cell Mol Med* 2016; 20(11): 2102–2110. doi: 10.1111/jcmm.12904.
55. Li JK, Chen C, Liu JY et al. Long noncoding RNA MRCCAT1 promotes metastasis of clear cell renal cell carcinoma via inhibiting NPR3 and activating p38-MAPK signaling. *Mol Cancer* 2017; 16(1): 111. doi: 10.1186/s12943-017-0681-0.
56. Zhang X, Zhou YL, Mehta KR et al. A pituitary-derived MEG3 isoform functions as a growth suppressor in tumor cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88(11): 5119–5126. doi: 10.1210/jc.2003-030222.
57. Wang PJ, Ren ZQ, Sun PY. Overexpression of the long non-coding RNA MEG3 impairs in vitro glioma cell proliferation. *J Cell Biochem* 2012; 113(6): 1868–1874. doi: 10.1002/jcb.24055.
58. Zhang X, Gejman R, Mahta A et al. Maternally expressed gene 3, an imprinted noncoding RNA gene, is associated with meningioma pathogenesis and progression. *Cancer Res* 2010; 70(6): 2350–2358. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-09-3885.
59. Zhu J, Liu S, Ye F et al. Long Noncoding RNA MEG3 Interacts with p53 protein and regulates partial p53 target genes in hepatoma cells. *Plos One* 2015; 10(10): e0139790. doi: 10.1371/journal.pone.0139790.
60. Sun M, Xia R, Jin F et al. Downregulated long noncoding RNA MEG3 is associated with poor prognosis and promotes cell proliferation in gastric cancer. *Tumour biology* 2014; 35(2): 1065–1073. doi: 10.1007/s13277-013-1142-z.
61. Zhang CY, Yu MS, Li X et al. Overexpression of long non-coding RNA MEG3 suppresses breast cancer cell proliferation, invasion, and angiogenesis through AKT pathway. *Tumour Biol* 2017; 39(6): 1010428317701311. doi: 10.1177/1010428317701311.
62. Chen XJ, Dong H, Liu S et al. Long noncoding RNA MHENCR promotes melanoma progression via regulating miR-425/489-mediated PI3K-Akt pathway. *Am J Transl Res* 2017; 9(1): 90–102.
63. Patel Y, Shah N, Lee JS et al. A novel double-negative feedback loop between miR-489 and the HER2-SHP2-MAPK signaling axis regulates breast cancer cell proliferation and tumor growth. *Oncotarget* 2016; 7(14): 18295–18308. doi: 10.18632/oncotarget.7577.
64. Chen S, Wang Y, Zhang JH et al. Long non-coding RNA PTENP1 inhibits proliferation and migration of breast cancer cells via AKT and MAPK signaling pathways. *Oncol Lett* 2017; 14(4): 4659–4662. doi: 10.3892/ol.2017.6823.
65. Goedert L, Pereira CG, Roszik J et al. RMEL3, a novel BRAFV600E-associated long noncoding RNA, is required for MAPK and PI3K signaling in melanoma. *Oncotarget* 2016; 7(24): 36711–36718. doi: 10.18632/oncotarget.9164.
66. Zhang EB, Yin DD, Sun M et al. P53-regulated long non-coding RNA TUG1 affects cell proliferation in human non-small cell lung cancer, partly through epigenetica-

- lly regulating HOXB7 expression. *Cell Death Dis* 2014; 5: e1243. doi: 10.1038/cddis.2014.201.
67. Yang C, Li X, Wang Y et al. Long non-coding RNA UCA1 regulated cell cycle distribution via CREB through PI3-K dependent pathway in bladder carcinoma cells. *Gene* 2012; 496(1): 8–16. doi: 10.1016/j.gene.2012.01.012.
68. Cargnello M, Roux PP. Activation and function of the MAPKs and their substrates, the MAPK-activated protein kinases (vol 75, pg 50, 2011). *Microbiol Mol Biol Rev* 2012; 76(2): 496. doi: 10.1128/MMBR.00013-12.
69. Xu WH, Zhang JB, Dang Z et al. Long Non-coding RNA URHC regulates cell proliferation and apoptosis via ZAK through the ERK/MAPK signaling pathway in hepatocellular carcinoma. *Int J Biol Sci* 2014; 10(7): 664–676. doi: 10.7150/ijbs.8232.
70. Taheri M, Omrani MD, Ghafouri-Fard S. Long non-coding RNAs expression in renal cell carcinoma. *Journal of Biology and Today's World* 2017; 6(12): 240–247.
71. Faramarzi S, Dianatpour A, Ghafouri-Fard S. Discovering the role of long non-coding RNAs in regulation of steroid receptors signaling in cancer. *Journal of Biology and Today's World* 2017; 6(12): 248–258.
72. Inamdar GS, Madhunapantula SV, Robertson GP. Targeting the MAPK pathway in melanoma: Why some approaches succeed and other fail. *Biochem Pharmacol* 2010; 80(5): 624–637. doi: 10.1016/j.bcp.2010.04.029.
73. Riddick G, Kotliarova S, Rodriguez V et al. A core regulatory circuit in glioblastoma stem cells links MAPK activation to a transcriptional program of neural stem cell identity. *Sci Rep* 2017; 7: 43605. doi: 10.1038/srep43605.
74. Dong YQ, Liang GJ, Yuan B et al. MALAT1 promotes the proliferation and metastasis of osteosarcoma cells by activating the PI3K/Akt pathway. *Tumour Biol* 2015; 36(3): 1477–1486. doi: 10.1007/s13277-014-2631-4.
75. Aksamitiene E, Kiyatkin A, Kholodenko BN. Crosstalk between mitogenic Ras/MAPK and survival PI3K/Akt pathways: a fine balance. *Biochemical Soc Trans* 2012; 40(1): 139–146. doi: 10.1042/BST20110609.
76. Taylor AD, Micheel CM, Anderson IA et al. The path (way) less traveled: a pathway-oriented approach to providing information about precision cancer medicine on my cancer genome. *Transl Oncol* 2016; 9(2): 163–165. doi: 10.1016/j.tranon.2016.03.001.

Anogenitální HPV infekce jako potenciální rizikový faktor orofaryngeálního karcinomu

Anogenital HPV Infection as the Potential Risk Factor for Oropharyngeal Carcinoma

Sehnal B.¹, Podlešák T.², Kmoníčková E.³, Nipčová M.¹, Driák D.¹, Sláma J.⁴, Zikán M¹

¹ Gynekologicko-porodnická klinika 1. LF UK a Nemocnice Na Bulovce, Praha

² Otorinolaryngologické oddělení, Nemocnice Na Bulovce, Praha

³ Ústav radiační onkologie, 1. LF UK a Nemocnice Na Bulovce, Praha

⁴ Onkogynekologické centrum, Gynekologicko-porodnická klinika 1. LF UK a VFN v Praze

Souhrn

Východiska: Lidský papilomavirus (human papillomavirus – HPV) může být příčinou karcinomů cervikálních, jiných genitálních, análních a karcinomů hlavy a krku. Incidence orofaryngeálního dlaždicobuněčného karcinomu (oropharyngeal squamous cell carcinoma – OSCC) – malignity hlavy a krku, u které je HPV infekce nejčastěji přítomna, se zvyšuje. Prevalence HPV infekce je výrazně menší v orální než v genitální oblasti, ale infekce v obou lokalitách je silně závislá na sexuálním chování. Ačkoliv přirozený průběh cervikální a orální HPV infekce se příliš neliší, zdá se, že schopnost viru infikovat současně orální a genitální oblast je raritní a neobvyklá. Na druhou stranu, poměr standardizované incidence OSCC je vyšší u pacientek s karcinomem děložního hrdla než u ostatní populace. Navíc ženy s OSCC mají významně zvýšené riziko rozvoje genitálních karcinomů v souvislosti s HPV. Vakcinace proti HPV u obou pohlaví nepochybně dramaticky změní epidemiologii HPV asociovaných karcinomů. **Cíl:** Souhrnný přehled literatury a odhad rizika OSCC u žen s HPV anogenitální infekcí. **Závěr:** Biologický vztah mezi různými HPV infikovanými lokalitami může být komplexní, ale vyšší prevalence HPV infekce ve vzorcích z dutiny ústní mezi ženami s anogenitální HPV infekcí naznačuje, že tyto infekce nejsou na sobě zcela nezávislé. Sexuální aktivita hraje roli v riziku prevalence souběžné anogenitální a orální koinfekce, ale je také možné, že infekce jedné lokality slouží jako rezervoár, který může zvyšovat riziko autoinokulace v anatomicky vzdálených lokalitách nebo koinfekce může být důsledkem jiných vlivů (např. imunodeficience). Nicméně pacientky s HPV asociovanou malignitou genitálu mají nepochybně vyšší riziko OSCC.

Klíčová slova

lidský papilomavirus – HPV – orální HPV infekce – genitální HPV infekce – orofaryngeální dlaždicobuněčný karcinom – poměr standardizovaných incidencí – karcinom hlavy a krku

Práce byla podpořena projektem UNCE 204065 Karlovy Univerzity.

This article was supported by the project UNCE 204065 of Charles University.

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. Borek Sehnal, Ph.D.

Gynekologicko-porodnická klinika

1. LF UK a Nemocnice Na Bulovce

Budínova 67/2

180 81 Praha

e-mail: boreksehnal@seznam.cz

Obdrženo/Submitted: 26. 8. 2017

Přijato/Accepted: 4. 1. 2018

doi: 10.14735/amko2018103

Summary

Background: Human papillomavirus (HPV) can cause cervical, other genital, anal, head, and neck cancers. The incidence of oropharyngeal squamous cell carcinoma (OSCC), the head and neck cancer most commonly caused by HPV infection, is increasing. The prevalence of oral HPV infections is considerably lower than that of genital HPV infections; however, infection of both sites is strongly associated with sexual behavior. Although the natural histories of cervical and oral HPV infections do not markedly differ, the virus seems to rarely infect oral and genital sites simultaneously. On the other hand, the standardized incidence ratio of OSCC is higher in cervical cancer patients than in other populations. Furthermore, women with OSCC have a significantly increased risk of developing HPV-related genital cancers. Administration of the HPV vaccine to both genders will undoubtedly dramatically change the epidemiology of HPV-related cancers. **Aim:** This work provides an overview of the literature and estimates the risk of OSCC in women with anogenital HPV infections. **Conclusion:** The biological relationship between different HPV-infected sites might be complex; however, the increased prevalence of HPV in oral samples of women positive for anogenital HPV indicates that such infections are unlikely to be independent of one another. Sexual activity likely affects the risk of concurrent anogenital and oral coinfections. However, it is also possible that one infection site provides a reservoir that can increase the risk of autoinoculation at anatomically distant locations or that coinfections develop as a result of other factors, such as immunodeficiency. Nevertheless, women with HPV-associated malignancy undoubtedly have a higher risk of developing OSCC.

Key words

human papillomavirus – HPV – genital HPV infection – oral HPV infection – oropharyngeal squamous cell carcinoma – standardized incidence ratio – head and neck cancer

Úvod

Infekce lidským papilomavirem (human papillomavirus – HPV) se nejčastěji přenáší při sexuálních aktivitách, postihne alespoň jednou za život asi 80 % sexuálně žijících lidí a je tak považována za nejčastější pohlavně přenosné onemocnění [1]. Předpokládá se, že vysoce rizikové (high-risk – HR) genotypy způsobí přibližně 5 % všech lidských karcinomů a spolu s *Helicobacter pylori* a viry hepatitidy B a C jsou tak HPV nejčastější infekční příčinou malignit [1,2]. Nejvyšší prevalence HPV (99,7 %) je prokazována u dlaždicobuněčných karcinomů děložního hrdla. Také velká část dlaždicobuněčných prekanceróz a karcinomů anu, vulvy, vaginy, penisu, hlavy a krku je způsobena infekcí HR HPV [1–3].

Orofaryngeální dlaždicobuněčný karcinom

Orofaryngeální dlaždicobuněčný karcinom (oropharyngeal squamous cell carcinoma – OSCC) je nejčastější maligní epiteliální neoplazie dutiny ústní (90 %), tvoří až 5 % všech malignit u mužů a 2 % u žen [4,5]. Incidence OSCC signifikantně roste ve všech zemích o 0,6–6,7 % ročně, celosvětově se jedná o 6. nejčastější malignitu [1,5,6]. Vedle tradičních rizikových faktorů (kouření, žvýkání tabáku, konzumace alkoholu) ovlivňuje maligní proces HPV infekce, která může být i primárním onkogenním faktorem indukujícím karcinogenezi u pacientů bez tradičních rizikových faktorů [1,5]. HPV DNA obsahuje

sekvence kódující proteiny s onkogenní kapacitou E6 a E7, které způsobí narušení funkce dvou tumor supresorových genů *p53* a *pRb*, tím utlumí buněčnou apoptózu a umožní nekontrolované buněčné dělení [5].

Některé studie potvrzují zastoupení HPV infekce u OSCC až v 85 %, dříve se udávala asociace výrazně nižší [7,8]. Recentní metaanalýza článků z let 1995–2015 zjistila 39,27% pozitivitu HPV u celkem 1 497 karcinomů dutiny ústní [9]. Jiná metaanalýza uvádí přítomnost HPV u 23–35 % biopsií OSCC s maximem v dutině ústní (45–90 %) a s dominancí HR genotypu HPV 16 (68–90 %) [10]. Původní česká práce v souboru 41 pacientů s nádorem hlavy nebo krku zjistila infekci HPV 16 u 94 % dlaždicobuněčných karcinomů této oblasti a v jednom případě byl detekován HPV 33 [11].

Orální HPV infekce

Hodnoty prevalence orální HPV infekce ve zdravé populaci se liší od prevalence 0,6 % v Japonsku [12] až k záchytu 95,4 % u britské bílé populace [13]. Všechny práce ale potvrzují jasnou dominanci genotypu HPV 16 [3–5,12,14–16]. Recentní metaanalýza 29 studií na celkem 10 124 mužích a 12 623 ženách uvádí orální HPV prevalenci u 2,9 % žen, u 4,7 % heterosexuálních mužů a nejvíce u 12,2 % homosexuálních mužů [15]. Ku podivu, statisticky významná asociace mezi orální HPV infekcí a orálním sexem byla nalezena pouze u mužů a nikoliv

u žen. Na druhou stranu, kouření je jednoznačně více rizikovým faktorem orální HPV infekce u žen (OR 2,19; 95% CI 1,26–3,82; $p = 0,0058$) [15]. V metaanalýze z 18 studií na 4 581 zdravých lidech byla zjištěna prevalence orální HPV infekce ve 4,5 % (95% CI 3,9–5,1) s významně vyšším záchytem v rozvojových zemích [14]. Samostatný výzkum na největším vzorku populace 5 501 jedinců starých 14–69 let byl proveden ve Spojených státech [4]. Prevalence orální HPV infekce byla detekována v průměru u 6,9 % (95% CI 5,7–8,3) populace a byla zjištěna 3× vyšší u mužů než u žen (10,1 vs. 3,6 %; $p < 0,001$), s průkazem genotypu HPV 16 u 1,0 % lidí zahrzených do studie. Nejvyšší prevalence byla prokázána ve věku 30–34 let, signifikantně se zvyšovala s větším počtem sexuálních partnerů a také u silných kuřáků [4]. Většina orálních HPV infekcí je přechodná. Ve Spojených státech se 60,6 % orálních HPV infekcí u žen eradikovalo během 3 měsíců [12] a dalších 20,0 % během následujících 3 měsíců [17]. Také jen necelá polovina (42 %) infekcí nejčastějšími HR HPV genotypy přetrvávala déle než 3 měsíce [12,17]. U HIV– infekce HR genotypy perzistovala 6,9 měsíce, ale genotyp HPV 16 zůstával přítomen v průměru 37,1 měsíce a u HIV+ dokonce až 42,3–48,3 měsíce [17].

Anogenitální HPV infekce jako rizikový faktor OSCC

Prevalence genitální a orální HPV infekce je velmi rozdílná, přirozený průběh ge-

nitální a orální HPV infekce se ale příliš neliší v podobné délce perzistence (tzv. clearing time 1,5–2 roky) [18]. Několik studií sledovalo přítomnost genitální HPV infekce nebo HPV asociované genitální léze jako rizikového faktoru pro výskyt orální HPV infekce. Smith et al již v roce 2004 uveřejnili výsledky opakovaného vyšetření na HPV děložního hrdla a dutiny ústní pomocí polymerázové řetězové reakce (polymerase chain reaction – PCR) u 577 těhotných žen a také u 23 jejich partnerů. V děložním hrdle bylo infikováno 35 % jednou a 20 % žen při dvou kontrolách. V této práci nebyl zjištěn statisticky významný genotypový soulad ani mezi dvěma konsekutivními odběry z děložního hrdla, ani mezi odběry z děložního hrdla a dutiny ústní těhotných a ani mezi odběry u žen a jejich partnerů [19].

Velká studie zaměřená na vztah vaginální a orální HPV infekce byla publikována v roce 2016. Celkem 3 463 žen (průměrný věk 37,5 roku) bylo testováno na orální a vaginální HPV infekci. Vaginální HPV infekce se vyskytovala u 1 568 žen (45,2 %) a orální u 141 subjektů (4,1 %). Vaginální infekce bez přítomné orální infekce byla pozorována u 1 461 (42,2 %) a orální bez vaginální u 107 žen (1,0 %). Souběžná infekce v obou lokalitách s odlišnými HPV genotypy byla detekována u 107 (3,1 %) a konkordantní infekce s identickými HPV genotypy u 41 žen (1,1 %). Ačkoliv pouze 6,8 % vaginálně pozitivních mělo duální infekci, 3/4 (75,9 %) orálně pozitivních žen bylo infikováno i v pochvě [18].

Steinau et al zjistili v kohortě 1 812 žen ve věku 18–59 let prevalenci HPV v dutině ústní 3,8 % (95% CI 2,7–4,4) a v cervixu 42,7 % (95% CI 39,3–46,3), v obou lokalitách bylo HPV+ 3 % žen (95% CI 2,1–4,3) [16]. Prevalence souběžné cerviko-orální HPV infekce byla vyšší u žen s více než třemi životními sexuálními partnery. Prevalence orální HPV infekce byla 5× vyšší u žen s pozitivitou v cervixu než bez infekce v hrdle (7,0 vs. 1,4 %, PR 4,9; 95% CI 2,7–8,7). Z žen se souběžnou infekcí v obou orgánech mělo 43,2 % (95% CI 28,3–59,5) nejméně jeden identický genotyp, u 50,4 % (95% CI 34,3–66,4) byly genotypy zcela odlišné a pouze 6,4 % (95% CI 2,3–16,8)

mělo zcela shodné genotypy. V této studii HPV infekce nebyla v ústech a děložním hrdle nezávislá, ačkoliv typově specifická shoda byla nízká [16].

V kohortě 174 žen ve věku 15–23 let provedli Du et al odběry na HPV z hrdla dělohy i z dutiny ústní [20]. Cervikální HPV infekce byla přítomna u 74,1 % (129/174) žen. Orální HPV infekce byla téměř 4× častější u mladých žen s cervikální HPV infekcí (17,1 %; 22/129) oproti skupině bez cervikální HPV infekce (4,4 %; 2/45 $p = 0,043$). Celkem 91,7 % (22/24) žen s přítomnou orální HPV infekcí mělo také cervikální HPV infekci a u 91 % (20/22) z nich byly orální HPV genotypy zcela identické s HPV genotypy v hrdle děložním s jasnou dominancí genotypu HPV 16. Také tato studie naznačila určitou závislost, i když genotypy v hrdle děložním nebyly zcela shodné s HPV genotypy v dutině ústní [20].

Termine et al zpracovali metaanalýzu 10 studií ($n = 1 017$) a zjistil souběžnou cerviko-orální HPV infekci u 18,1 % žen (95% CI 10,3–25,9) se statisticky signifikantní genotypově konkordantní infekcí u 27,0 % (95% CI 12,3–41,7; $p = 0,002$) infikovaných žen. Riziko orální HPV infekce a také výskyt identických genotypů zvyšovala jen HIV pozitivita a začátek pohlavního života před 18. rokem života. Ostatní potenciální rizikové a protektivní faktory nebyly statisticky významné [21].

Marques et al na malém vzorku 43 brazilských žen s HPV asociovanou lézí děložního hrdla (těžká cervikální prekanceróza nebo invazivní cervikální karcinom) a 22 jejich sexuálních partnerů detekovali orální infekci jen u jedné ženy (1/43; 2,3 %) a u tří mužů (3/22; 13,6 %) [22]. K podobným výsledkům dospěli Oliveira et al, kteří zjistili pomocí PCR cervikální HPV infekci u 9,2 % žen (7/76) a orální u 5,3 % žen (4/76), pouze jedna žena měla souběžnou genitálně-orální HPV infekci (1,3 %) [23]. Také Meyer et al vyšetřili 129 brazilských žen na přítomnost HPV orální laváží a pomocí kartáčku z tonsil a z děložního hrdla. Celkem 54,3 % (70/129) žen mělo HPV infekci v hrdle a z této subkohorty bylo 5,7 % (4/70) infikováno HPV i v dutině ústní. U 5,1 % (3/59) žen v hrdle negativních byla prokázána HPV infekce jen v orofaryngu [24]. Výsledky těchto prací

z Brazílie naznačují, že genitální a orální HPV infekce nejsou izolované, ale vzhledem k malému počtu případů nebyly tyto výsledky statisticky významné.

Brouwer et al analyzovali data ze systému NHANES (National Health and Nutrition Examination Survey, National Center for Health Statistics) ve Spojených státech z let 2003–2012, ve kterém se mimo jiné archivují výsledky HPV vaginálních stěrů žen a výsledky HPV z laváží ústní dutiny mužů a žen [25]. Analýza odhalila u 33 % žen s orální HPV infekcí genotypově konkordantní cerviko-vaginální HPV infekci, ale tento genotypový soulad mezi genitální a orální infekcí se velmi lišil podle věku. Naopak pouze 3 % žen s cerviko-vaginální infekcí bylo infikováno identickými genotypy také v dutině ústní [25].

Cañadas et al odebrali v nemocnici v Oviedo (Španělsko) odběry na genotypizaci HPV u 188 prostitutek z děložního hrdla, pochvy, vulvy, anu a dutiny ústní [26]. Prevalence HPV infekce byla zjištěna ve 27,8 % cervikálních, 26,1 % vaginálních, 22,9 % vulválních, 15 % análních a 7,9 % orálních vzorků. Nejčastěji zastoupeným genotypem ve všech lokalitách byl genotyp HPV 16. Soulad prevalence HPV infekce v hrdle děložním vypočítaný podle koeficientu shody kappa byl pro vaginální HPV infekci 0,932 ($p < 0,0001$), pro vulvální 0,508 ($p < 0,0001$), pro anální 0,41 ($p < 0,001$) a pro orální HPV infekci 0,72 ($p = 0,191$). Také tato studie tedy nepotvrdila statisticky významnou závislost prevalence orální HPV infekce na přítomnost souběžné cervikální HPV infekce na rozdíl od souběžné HPV infekce v jiných lokalitách [26].

Visalli et al do své studie ve městě Messina (Itálie) zařadili 100 nevakcinovaných žen (věk 22–52 let) s HPV asociovanou cervikální lézí (58 žen s HR HPV infekcí a 42 s low-risk (LR) HPV) a 25 nevakcinovaných žen (věk 20–49 let) bez genitální léze jako kontrolní skupinu [5]. Pomocí PCR zjistil přítomnost HPV DNA ve slinách pacientek u 24 % (24/100) žen s cervikální lézí a u 8 % (2/25) v kontrolní skupině. Nejvíce frekventním genotypem byl HPV 16 následovaný HPV 18 a HPV 45. Nebyla zjištěna statistická závislost u pacientek HPV pozitivních

v obou místech v souvislosti s věkem, kouřením, konzumací alkoholu, sexuálními praktikami a sociálními charakteristikami obou skupin. Naopak byla zjištěna závislost detekce HPV 16 a/nebo HPV 18 ve slinách na přítomnost těžké cervikální léze (OR 3,747; 95% CI 1,39–10,09; $p = 0,0069$) [5].

Možnosti vakcinace proti HPV

Prvním impulzem k úspěšnému vývoji profylaktických vakcín proti infekci HPV byla identifikace příčinného vztahu mezi infekcí genotypy HPV 16 a HPV 18 a etiopatogenezi karcinomu děložního hrdla. V současnosti jsou k dispozici tři komerčně vyráběné profylaktické vakcíny – bivalentní Cervarix® (HPV 16/18), kvadrivalentní Silgard® (HPV 6/11/16/18) a nově také nonavalentní Gardasil 9® (HPV 6/11/16/18/31/33/45/53/58). HPV vakcinace je pro dívky ve věku mezi 13 a 14 lety hrazena v ČR z prostředků zdravotního pojištění, v roce 2015 využilo tuto možnost 65 % dívek registrovaných u VZP [27]. Charakteristiky všech dostupných vakcín proti HPV infekci zobrazuje tab. 1.

Když došlo ke schválení nových indikací postupně pro všechny HPV vakcíny v prevenci premaligních análních lézí a análních karcinomů, byla také v ČR zahájena diskuze o možnosti úhrady očkování proti HPV infekci z veřejného zdravotního pojištění pro chlapce ve věku 13–14 let. S ohledem na prozatím nejednotný názor mezi českou odbornou veřejností na zavedení HPV vakcinace chlapců do očkovacího kalendáře Národní imunizační komise zatím pouze doporučila sledovat a vyhodnocovat všechna dostupná data týkající se účinnosti a cost-benefitu plošného očkování chlapců proti HPV ve světě. Česká vakcínologická společnost zaujala v případě plošného očkování chlapců zatím zdrženlivý postoj. Ve svém stanovisku mimo jiné uvádí, že asociace mezi HPV infekcí a karcinomem rekta není tak silná a nejsou dostupná jednoznačná data prokazující dostatečnou účinnost a ekonomickou výhodnost očkování v profylaxi rektálního karcinomu. Naproti tomu Česká společnost otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku ČSL JEP považuje za potřebné rozšířit úhradu očko-

vání také na chlapce, zejména z důvodu stejné ochrany HPV vakcinace před závažným onemocněním karcinomů orofaryngu a rekurentní papilomatózy u dívek i chlapců.

Přestože by zejména homosexuální muži profitovali z plošné HPV vakcinace, pouze Spojené státy, Kanada, Austrálie, Rakousko, Nový Zéland a Mexiko doporučují plošnou HPV vakcinaci u obou pohlaví [28]. V září 2011 Food and Drug Administration (FDA) sice uvolnila ve Spojených státech kvadrivalentní vakcínu k prevenci genitálních kondylomat, anální intraepiteliální neoplazie (AIN) a análního karcinomu pro chlapce a muže ve věku 9–26 let, nicméně ACIP (Advisory Committee on Immunization Practices) při CDC (Centers for Disease Control) doporučila volnější přístup k HPV vakcinaci mužů na rozdíl od striktního doporučení vakcinovat všechny ženy a dívky. Výjimkou zůstává doporučení pro homosexuální muže, které doporučuje očkovat i muže starší [28].

Základním argumentem proti plošné HPV vakcinaci mužů je finanční nevyhodnost založená na ekonomických modelech. Transmise HPV probíhá prakticky výhradně při sexuálních aktivitách a samotné vysoké pokrytí ženské populace poskytuje výrazný benefit i pro chlapce se signifikantním poklesem výskytu HPV asociovaných onemocnění u obou pohlaví. Podle norské práce by pokrytí vakcinací u 90 % dívek mělo větší účinnost na zdraví celé populace a bylo by levnější než 71% proočkovanost obou pohlaví [29]. V ČR je od 1. 1. 2018 HPV vakcinace hrazena ze zdravotního pojištění také pro chlapce ve věku 13–14 let.

Diskuze

Spojitosť mezi HPV infekcí a orofaryngeálním karcinomem je zvažována > 20 let. Většina HPV infekcí vymizí během 1 roku nebo 2 let díky působení přirozených imunitních mechanismů, některé infekce však mohou perzistovat a způsobit maligní transformaci. Lidé s orální HPV infekcí mají přibližně 50x vyšší riziko rozvoje OSCC asociovaného s HPV [4,5]. Pacienti s HPV+ OSCC jsou v průměru o 10 let mladší, častěji se jedná o nekuřáky a abstinenty [2,7,10]. HPV+ nádory bývají méně diferenco-

vány a jsou diagnostikovány v pozdějších stadiích [8,10]. Pacienti s orofaryngeálním karcinomem asociovaným s HPV infekcí umírají 2–5x častěji než pacienti s tímto karcinomem bez prokázané HPV infekce [9,10]. Podle jiných studií ale pacienti s HPV asociovanými orofaryngeálním karcinomem žijí déle (OS 82,4 vs. 57,1 %; $p < 0,001$) a vykazují i delší bezpříznakové období (73,7 vs. 43,5 %; $p < 0,001$) [30]. Zatímco incidence OSCC se u kuřáků snižuje, incidence HPV pozitivních OSCC se neustále zvyšuje. Tento nárůst je přičítán zvyšující se prevalenci orální HPV infekce v souvislosti se změnami sexuálního chování. Například ve Francii se počet žen udávající aktivní praktikování orálního sexu zvýšil z 51 % (1970) na 91 % (2006). Podobně i u mužů byl zaznamenán nárůst praktikování orálního sexu za stejné období z 55 na 94 % [31].

U zdravých jedinců je orální HPV infekce opakovaně detekována podstatně méně často než v oblasti anogenitální [2], což souvisí nejspíše se snadnějším přístupem HPV do anogenitální oblasti, s různou afinitou epitelů a s výskytem protektivních látek (lysozymy, lactoferriny, imunoglobulin A, cytokiny) ve slinách [21]. Zatímco prevalence cervikální HPV infekce klesá se vzrůstajícím věkem, prevalence orální infekce a také souběžné cerviko-orální infekce zůstává v průběhu života stabilní [16]. U žen se souběžnou cerviko-orální HPV infekcí je také doba potřebná k eradikaci orální HPV infekce téměř 2x delší (50,0 měsíce) než u žen bez přítomné cervikální infekce (28,2 měsíce) [17,32]. Prevalence orální HPV infekce je opakovaně nalézána nižší u žen než mužů. Existuje několik hypotéz, proč tomu tak je:

1. muži mají více sexuálních partnerů, a tím větší expozici HPV infekce;
2. přenos infekce při orálním sexu je snadnější při přenosu z ženských infikovaných sliznic genitálu než z mužského keratinizovaného epitelu penisu;
3. ženy mají díky častější cervikální infekci určitý stupeň systémové imunity, která je pravděpodobně může částečně chránit i proti orální HPV infekci, kdežto u mužů nebyla obdobná ochrana pozorována [3]

Tab. 1. Základní charakteristiky registrovaných HPV vakcín.

Název	Cervarix™ injekce 0,5 ml	Silgard® injekce 0,5 ml	Gardasil 9® injekce 0,5 ml
Výrobce	GlaxoSmithKline Biologicals S.A. (GSK), Rue de l'Institut 89 B-1330 Rixensart, Belgie	Merck Sharp & Dohme, B. V. (MSD), Waarderweg 39 2031 BN Haarlem, Nizozemsko	Merck Sharp & Dohme, B. V. (MSD), Waarderweg 39 2031 BN Haarlem, Nizozemsko
Registrace	20. září 2007	20. září 2006	10. června 2015
HPV VLP L1	HPV 16, 18 VLP 20, 20 µg	HPV 6, 11, 16, 18 VLP 20, 40, 40, 20 µg	HPV 6, 11, 16, 18, VLP 30, 40, 60, 40 µg HPV 31, 33 35, 45, 52, 58 VLP 20, 20, 20, 20, 20, 20 µg
Adjuvantní system	50 µg monofosforyl lipid A (MPL) adsorbovaný na 500 µg aluminium hydroxidu (AS04)	225 µg amorfni aluminium – hydroxyfosfát-sulfát (AAHS)	500 µg amorfni aluminium – hydroxyfosfát-sulfát (AAHS)
Obsah hliníku	500 µg	225 µg	500 µg
Technologie	expresní systém bakulovirů, hmyzí buňky Trichoplusia ni, L1 protein ve formě VLP vyrobený rekombinantní DNA technologií	expresní systém kvasinek Saccharomyces cerevisiae, L1 protein ve formě VLP vyrobený rekombinantní DNA technologií	expresní systém kvasinek Saccharomyces cerevisiae, L1 protein ve formě VLP vyrobený rekombinantní DNA technologií
Aplikace	deltový sval	deltový sval nebo horní anterolaterální oblast stehna	deltový sval nebo horní anterolaterální oblast stehna
Věk	jedinci (tzn. ženy i muži) od 9 let, horní věková hranice není stanovena; bezpečnost prokázána u žen do 72 let a mužů do 18 let věku	jedinci (tzn. ženy i muži) od 9 let, horní věková hranice není stanovena; bezpečnost prokázána u žen do 45 let a mužů do 26 let věku	jedinci (tzn. ženy i muži) od 9 let, horní věková hranice není stanovena; bezpečnost a účinnost přípravku u žen ve věku 27 let a více nebyla studována
Schéma očkování	9 až 14 let (v době podání první injekce) – dvě dávky (druhá dávka za 5–13 měsíců po první), při podání druhé dávky do 5 měsíců po první dávce má být aplikována i třetí dávka od 15 let (0, 1, 6 měsíců) – tři dávky s variacemi, všechny dávky by měly být aplikovány během 12 měsíců	9 až 13 let (0, 6 měsíců) – dvě dávky, při podání druhé dávky do 6 měsíců po první dávce má být aplikována i třetí dávka od 14 let (0, 2, 6 měsíců) – celkem tři dávky s variacemi, všechny dávky by měly být aplikovány během 12 měsíců	9 až 14 let (v době podání první injekce) – dvě dávky (druhá dávka za 5 až 13 měsíců po první), při podání druhé dávky do 5 měsíců po první dávce má být aplikována i třetí dávka od 15 let: 0, 2, 6 měsíců (celkem tři dávky) s variacemi, všechny dávky by měly být aplikovány během 12 měsíců
Indikace k prevenci	pre maligní anogenitální léze (cervikální, vulvální, vaginální a anální) a karcinomy, které jsou způsobeny určitými onkogenními typy HPV	pre maligní cervikální, vulvální, vaginální, anální léze a karcinomy v příčinné souvislosti s jistými onkogenními typy HPV; bradavice genitálu (condyloma acuminata) v příčinné souvislosti se specifickými typy HPV	pre maligní léze a cervikální, vulvální, vaginální a anální karcinomy způsobené HPV typy obsaženými v očkovací látce; genitální bradavice (condyloma acuminata) způsobené specifickými HPV typy
Doba ochrany	nestanovena, prokázána imunogenita 9,4 roku	nestanovena, 5 let prokázána imunogenita, 10 let po očkování 78–98 % séropozitivních subjektů v závislosti na typu HPV	nestanovena, prokázána imunogenita až 5,6 roku
Booster	nestanoven	nestanoven	nestanoven

HPV – lidský papilomavirus, VLP – virům podobné částice

HPV se nejčastěji přenáší při sexuálních (koitálních i nekoitálních) aktivitách, ale relativně časté jsou i přenosy kontaktem genitál-genitál, anus-genitál a ústa-genitál nebo pomocí sexuálních pomůcek či rukou od jiné osoby i autoinokulací (tzn. přenos mezi anem, genitálem a dutinou ústní vlastní rukou) [3]. Zatímco genito-anální HPV infekce jsou silně provázané [33], souběžná genito-orální HPV infekce je relativně vzácná a genotypově specifická shoda v obou lokalitách je poměrně nízká. Biologický vztah mezi oběma lokalitami může být komplexní, ale vyšší prevalence HPV infekce ve vzorcích z dutiny ústní mezi ženami s cervikální HPV infekcí naznačuje, že určitý stupeň závislosti existuje [16]. Sexuální aktivita hraje roli v riziku prevalence souběžné genitální a orální koinfekce, ale je také možné, že infekce jedné lokality slouží jako rezervoár, který může zvyšovat riziko autoinokulace v anatomicky vzdálených lokalitách [16]. Tato hypotéza je podpořena daty ze Swedish Cancer Registry. Z analýzy 17 556 pacientek s invazivním karcinomem děložního hrdla vyplynulo, že zvláště ženy ve věku ≥ 50 let mají vyšší riziko sekundární HPV asociované malignity [34]. Pacientky s anamnézou karcinomu děložního hrdla měly poměr incidence onemocnění ve vztahu ke standardní incidenci téhož onemocnění v populaci (standardized incidence ratio – SIR) sekundárního karcinomu laryngu odpovídající hodnotě 4,40 (95% CI 1,88–8,72), SIR 4,98 (95% CI 1,57–11,71) pro karcinom hypofaryngu a SIR 2,60 (95% CI 1,18–4,95) pro karcinom dutiny ústní. Na druhou stranu nebyla prokázána statisticky významná vyšší incidence jiných HPV asociovaných malignit (tonsily, kořen jazyka) u těchto žen [34]. K podobným výsledkům dospěli Chaturvedi et al s využitím údajů z 13 onkologických registrů v Dánsku, Norsku, Švédsku, Finsku a Spojených státech u 85 109 pacientek s dlaždicobuněčným karcinomem děložního hrdla. SIR u všech sekundárních HPV asociovaných karcinomů bylo stanoveno na 2,30 (95% CI 2,18–2,43). Podle očekávání nejvyšší SIR 5,00 (95% CI 4,55–5,50) bylo u jiných sekundárních malignit genitálu, ale poměrně vysoké bylo SIR 2,69 (95% CI 2,57–2,83) také pro ma-

lignity systému trachea/bronchus/plíce, SIR 2,06 (95% CI 1,53–2,73) pro karcinom faryngu a SIR 2,10 (95% CI 1,55–2,79) pro karcinomy laryngu [6]. Balamurugan et al dohledali u 23 509 pacientek s rakovinou děložního hrdla mírně zvýšené SIR (1,96) pro karcinomy dutiny ústní a vyšší SIR (3,27) u žen s karcinomem plic a bronchů. U pacientek s OSCC byly nejčastěji zastoupeny karcinomy tonsil (55 %) a karcinomy kořene jazyka (25 %) [35].

Tyto práce dokládají vyšší riziko OSCC u žen s HPV asociovanou malignitou genitálu, přestože přítomnost anogenitální HPV infekce nebyla jako rizikový faktor pro orální HPV infekci jednoznačně prokázána. Existují návrhy provádět organizovaný screening onemocnění dutiny ústní u žen s HPV asociovanou cervikální lézí zvláště ve spojitosti s přítomností dalších rizikových faktorů (kouření, genetická predispozice, HIV pozitivita) [5,18]. Detekce HR HPV genotypů v dutině ústní patří k rizikovým faktorům. Pacienti s OSCC asociovaným s LR HPV genotypy a s dalšími nepříznivými aspekty (nízká diferenciací tumoru, extrakapsulární šíření, metastázy v lymfatických uzlinách) žijí o 2 roky déle než pacienti, u kterých byly detekovány HR HPV genotypy [7,9,30].

Závěr

Prevalence HPV infekce je výrazně nižší v dutině ústní než v oblasti anogenitální a liší se i u obou pohlaví. Je ale nutné provést další prospektivní studie k doplnění mezer ve znalostech o průběhu HPV infekce [3]. Vzhledem k nízké prevalenci orální HPV infekce je třeba studií na velkých vzorcích populace ke zhodnocení přirozeného průběhu a možností přenosu HPV infekce. Pravděpodobně existuje určitá závislost v přítomnosti HPV infekce mezi dutinou ústní a genitálem, která ale není příliš silná a může souviset s jinými predispozicemi (např. imunodeficiency). Nicméně pacientky s HPV asociovanou malignitou genitálu mají prokazatelně vyšší riziko OSCC. Stále není zcela jasné, jakou účinnost bude mít zavedení plošné HPV vakcinace na incidenci OSCC, některé práce ale dokládají snížení prevalence orální HPV infekce po vakcinaci [36].

Literatura

1. Sehnal B, Vojáčková N, Driák D et al. Předpokládaná účinnost HPV vakcinace v profylaxi nongenitálních karcinomů. *Klin Onkol* 2014; 27(4): 239–246. doi: 10.14735/amko2014239.
2. Forman D, de Martel C, Lacey CJ et al. Global burden of human papillomavirus and related diseases. *Vaccine* 2012; 30 (Suppl 5): F12–F23. doi: 10.1016/j.vaccine.2012.07.055.
3. Giuliano AR, Nyitray AG, Kreimer AR et al. EUROGIN 2014 roadmap: differences in human papillomavirus infection natural history, transmission and human papillomavirus-related cancer incidence by gender and anatomic site of infection. *Int J Cancer* 2015; 136(12): 2752–2760. doi: 10.1002/ijc.29082.
4. Gillison ML, Broutian T, Pickard RK et al. Prevalence of oral HPV infection in the United States, 2009–2010. *JAMA* 2012; 307(7): 693–703. doi: 10.1001/jama.2012.101.
5. Visalli G, Currò M, Facciola A et al. Prevalence of human papillomavirus in saliva of women with HPV genital lesions. *Infect Agent Cancer* 2016; 11(1): 48. doi: 10.1186/s13027-016-0096-3.
6. Chaturvedi AK, Kleinerman RA, Hildesheim A et al. Second cancers after squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of the cervix. *J Clin Oncol* 2009; 27(6): 967–973. doi: 10.1200/JCO.2008.18.4549.
7. Kašpírková J, Ondič O, Černá K et al. Možnosti průkazu biologicky relevantní papilomavírové infekce u maligních nádorů hlavy a krku v diagnostické patologii. *Cesk Patol* 2013; 49(1): 29–34.
8. Näsman A, Attner P, Hammarstedt L et al. Incidence of human papillomavirus (HPV) positive tonsillar carcinoma in Stockholm, Sweden: an epidemic of viral-induced carcinoma? *Int J Cancer* 2009; 125(2): 362–366. doi: 10.1002/ijc.24339.
9. Chaitanya NC, Allam NS, Gandhi DB et al. Systematic meta-analysis on association of human papilloma virus and oral cancer. *J Cancer Res Ther* 2016; 12(2): 969–974. doi: 10.4103/0973-1482.179098.
10. Kreimer AR, Clifford GM, Boyle P et al. Human papillomavirus types in head and neck squamous cell carcinomas worldwide: a systematic review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14(2): 467–475. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-04-0551.
11. Kašpírková J, Ondič O, Černá K et al. Možnosti průkazu biologicky relevantní papilomavírové infekce u maligních nádorů hlavy a krku v diagnostické patologii. *Cesk Patol* 2013; 49(1): 29–34.
12. Wood ZC, Bain CJ, Smith DD et al. Oral human papillomavirus infection incidence and clearance: a systematic review of the literature. *J Gen Virol* 2017; 98(4): 519–526. doi: 10.1099/jgv.0.000727.
13. Crawford R, Grignon AL, Kitson S et al. High prevalence of HPV in non cervical sites of women with abnormal cervical cytology. *BMC Cancer* 2011; 11: 473. doi: 10.1186/1471-2407-11-473.
14. Kreimer AR, Bhatia RK, Messegue AL et al. Oral human papillomavirus in healthy individuals: a systematic review of the literature. *Sex Transm Dis* 2010; 37(6): 386–391. doi: 10.1097/OLQ.0b013e3181c94a3b.
15. Shigeishi H, Sugiyama M. Risk factors for oral human papillomavirus infection in healthy individuals: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Med Res* 2016; 8(10): 721–729. doi: 10.14740/jocmr.2545w.
16. Steinau M, Hariri S, Gillison ML et al. Prevalence of cervical and oral human papillomavirus infections among US women. *J Infect Dis* 2014; 209(11): 1739–1743. doi: 10.1093/infdis/jit799.
17. Taylor S, Bunge E, Bakker M et al. The incidence, clearance and persistence of non-cervical human papillomavirus infections: a systematic review of the literature. *BMC Infect Dis* 2016; 16: 293. doi: 10.1186/s12879-016-1633-9.
18. Kedarisetty S, Orosco RK, Hecht AS et al. Concordant oral and vaginal human papillomavirus infec-

- tion in the United States. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg* 2016; 142(5): 457–465. doi: 10.1001/jamaoto.2016.0064.
19. Smith EM, Ritchie JM, Yankowitz J et al. HPV prevalence and concordance in the cervix and oral cavity of pregnant women. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2004; 12(2): 45–56. doi: 10.1080/10647440400009896.
20. Du J, Nordfors C, Ahrlund-Richter A et al. Prevalence of oral human papillomavirus infection among youth, Sweden. *Emerg Infect Dis* 2012; 18(9): 1468–1471. doi: 10.3201/eid1809.111731.
21. Termine N, Giovannelli L, Matranga D et al. Oral human papillomavirus infection in women with cervical HPV infection: new data from an Italian cohort and a meta-analysis of the literature. *Oral Oncol* 2011; 37(4): 244–250. doi: 10.1016/j.oraloncology.2011.02.011.
22. Marques AE, Barra GB, de Resende Oyama CN et al. Low rate of oropharyngeal human papillomavirus infection of women with cervical lesions and their partners: new data from Brazilian population. *J Oral Pathol Med* 2015; 44(6): 453–458. doi: 10.1111/jop.12252.
23. Oliveira LH, Santos LS, Silva CO et al. Papillomavirus infections in the oral and genital mucosa of asymptomatic women. *Braz J Infect Dis* 2017; 21(1): 88–91. doi: 10.1016/j.bjid.2016.08.015.
24. Meyer MF, Huebbers CU, Siefer OG et al. Prevalence and risk factors for oral human papillomavirus infection in 129 women screened for cervical HPV infection. *Oral Oncol* 2014; 50(1): 27–31. doi: 10.1016/j.oraloncology.2013.10.009.
25. Brouwer AF, Eisenberg MC, Carey TE et al. Trends in HPV cervical and seroprevalence and associations between oral and genital infection and serum antibodies in NHANES 2003–2012. *BMC Infect Dis* 2015; 15: 575. doi: 10.1186/s12879-015-1314-0.
26. Cañadas MP, Bosch FX, Junquera ML et al. Concordance of prevalence of human papillomavirus DNA in anogenital and oral infections in a high-risk population. *J Clin Microbiol* 2004; 42(3): 1330–1332.
27. Cabrchonová H. XII. Hradecké vakcinologické dny, 6.–8. října 2016. [Ústní sdělení] Data VZP ČR.
28. Stupiansky NW, Alexander AB, Zimet GD. Human papillomavirus vaccine and men: what are the obstacles and challenges? *Curr Opin Infect Dis* 2012; 25(1): 86–91. doi: 10.1097/QCO.0b013e32834ed5be.
29. Burger EA, Sy S, Nygård M et al. Prevention of HPV-related cancers in Norway: cost–effectiveness of expanding the HPV vaccination program to include pre-adolescent boys. *PLoS One* 2014; 9(3): e89974. doi: 10.1371/journal.pone.0089974.
30. Ang KK, Harris J, Wheeler R et al. Human papillomavirus and survival of patients with oropharyngeal cancer. *N Engl J Med* 2010; 363(1): 24–35. doi: 10.1056/NEJMoa0912217.
31. Bajos N, Bozon M, Beltzer N et al. Changes in sexual behaviours: from secular trends to public health policies. *AIDS* 2010; 24(8): 1185–1191. doi: 10.1097/QAD.0b013e328336ad52.
32. Louvanto K, Rautava J, Syrjänen K et al. The clearance of oral high-risk human papillomavirus infection is impaired by long-term persistence of cervical human papillomavirus infection. *Clin Microbiol Infect* 2014; 20(11): 1167–1172. doi: 10.1111/1469-0691.12700.
33. Sehnal B, Dusek L, Cibula D et al. The relationship between the cervical and anal HPV infection in women with cervical intraepithelial neoplasia. *J Clin Virol* 2014; 59(1): 18–23. doi: 10.1016/j.jcv.2013.11.004.
34. Hemminki K, Dong C, Frisch M. Tonsillar and other upper aerodigestive tract cancers among cervical cancer patients and their husbands. *Eur J Cancer Prev* 2000; 9(6): 433–437.
35. Balamurugan A, Ahmed F, Saraiya M et al. Potential role of human papillomavirus in the development of subsequent primary in situ and invasive cancers among cervical cancer survivors. *Cancer* 2008; 113(Suppl 10): 2919–2925. doi: 10.1002/cncr.23746.
36. Herrero R, Quint W, Hildesheim A et al. Reduced prevalence of oral human papillomavirus (HPV) 4 years after bivalent HPV vaccination in a randomized clinical trial in Costa Rica. *PLoS One* 2013; 8(7): e68329. doi: 10.1371/journal.pone.0068329.

Úvod do problematiky léčby zhoubných nádorů ledvin

Treatment of Metastatic Renal Cell Carcinoma

Richter I^{1,2}, Dvořák J.²

¹ Onkologické oddělení, Krajská nemocnice Liberec

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

Souhrn

Východiska: Zhoubné nádory ledvin představují přibližně 2–3 % všech malignit. Česká republika celosvětově dosahuje prvenství v incidenci zhoubných nádorů ledvin. Nejčastější je světlobuněčný karcinom, který představuje přibližně 70 % všech renálních karcinomů. V léčbě metastatického renálního karcinomu (metastatic renal cell cancer – mRCC) došlo v poslední době k významnému rozšíření léčebných možností. Léčba zahrnuje antiangiogenní přístup inhibicí receptoru pro vaskulární endoteliální růstový faktor, inhibice dráhy mTOR (mechanistic target of rapamycin) a imunoterapii. **Cíl:** Cílem přehledového článku je pohled na aktuální léčebné možnosti mRCC. U pacientů v dobrém výkonnostním stavu a s menším rozsahem systémové diseminace lze zvážit provedení cytoredukční nefrektomie. V případě oligometastatického onemocnění lze zvážit použití ablačních metod, např. stereotaktické radioterapie. V 1. linii léčby mRCC dominuje podání sunitinibu nebo pazopanibu, které lze považovat v účinnosti za rovnocenné. K výrazné změně dochází v léčbě 2. a vyšší linie, kde se uplatňují nové léky jako kabozantinib či možnosti imunoterapie zastoupené nivolumabem. Optimální sekvence léčby mRCC je otázkou aktuální diskuze. Dále probíhá mnoho klinických studií, které hodnotí kombinovanou terapii, jiné práce se věnují hledání využitelného prediktivního biomarkeru. Problémem biomarkerů je nádorová heterogenita karcinomu ledviny. **Závěr:** Léčba mRCC aktuálně prochází významnými změnami na podkladě výsledků proběhlých klinických studií. Nové postupy budou zahrnovat kombinovanou léčbu, hlavně s využitím imunoterapie. Tato skutečnost se postupně promítá do změny léčebných standardů tohoto onemocnění.

Klíčová slova

karcinom ledviny – cílená terapie – imunoterapie – metastázy – biomarkery

Abstract

Introduction: Renal cell cancer accounts for approximately 2–3% of all cases of malignancy. The incidence of kidney cancer in the Czech Republic is the highest in the world. Approximately 70% of renal cell carcinomas are clear-cell renal cancer. Various treatment options for metastatic renal cell cancer (mRCC) have been developed. Treatment regimens comprise antiangiogenic drugs in combination with vascular endothelial growth factor receptor inhibitors, mTOR inhibitors, and immunotherapy. **Aim:** This review provides an overview of the current treatment options for mRCC. Patients with a good performance status and a low systemic disease burden are candidates for cytoreductive nephrectomy. Ablative methods, such as stereotactic radiotherapy, can be used in patients with oligometastatic disease. Sunitinib and pazopanib are preferred first-line treatments for mRCC and provide similar outcomes. Second-line and higher line treatments markedly changed with the development of new drugs, such as cabozantinib and the immunotherapy nivolumab. The optimal treatment sequence for mRCC is discussed. Ongoing studies are evaluating combined treatments and searching for potential biomarkers. However, the tumor heterogeneity of renal cell cancer complicates the use of biomarkers. **Conclusion:** The results of clinical trials have markedly changed the treatment guidelines for mRCC. New strategies include combinatorial approaches, which mainly incorporate immunotherapy.

Key words

renal cancer – targeted therapy – immunotherapy – metastases – biomarkers

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. Igor Richter, Ph.D.
Onkologické oddělení
Krajská nemocnice Liberec
Husova 10
460 63 Liberec

Obdrženo/Submitted: 19. 12. 2017

Přijato/Accepted: 7. 1. 2018

doi: 10.14735/amko2018110

Zhoubné nádory ledvin představují přibližně 2–3 % všech malignit [1]. ČR celosvětově dosahuje prvenství v incidenci zhoubných nádorů ledvin. Incidence v ČR byla v roce 2015 28,34 a mortalita 10,94 na 100 000 obyvatel [2,3]. Renální karcinom (renal cell cancer – RCC) představuje heterogenní skupinu tumorů vycházejících z nefronu. Modernější Vancouverská klasifikace renálních tumorů vychází nejenom z patologické klasifikace, ale hodnotí i molekulární charakteristiky jednotlivých typů RCC [4]. Aktuální histopatologická klasifikace byla publikovaná v roce 2016 [5]. Přibližně 70 % zhoubných nádorů ledvin představuje světlobuněčný karcinom, který je dominantně asociován s dysfunkcí v genu von Hippel-Lindau (*VHL*). Tato porucha je spojena s akumulací hypoxia indukovaného faktoru (HIF), v důsledku čehož dochází k podobným metabolickým jevům jako při hypoxii. Výsledkem je indukce vaskulárního endoteliálního růstového faktoru (vascular endothelial growth factor – VEGF) s následnou stimulací angiogeneze [6]. Podobně při analýze světlobuněčného karcinomu byly zjištěny i dysfunkce v dráze mTOR (mechanistic target of rapamycin), která je spojena s tumorovou progresí [7,8]. Obě skutečnosti se staly podkladem klinického využití cílené léčby proti receptorům pro VEGF (VEGFR) a dráze mTOR. S dalším vývojem došlo v posledních letech i k rozvoji imunoterapie v klinické praxi, hlavně ovlivněním kontrolních bodů imunitní reakce [9]. Zatím nemáme k dispozici prognostické či pre-

diktivní biomarkery použitelné v běžné klinické praxi při léčbě metastatického RCC (mRCC). Proto na podkladě klinických či laboratorních ukazatelů existují skórovací systémy, které klasifikují nemocné do prognostických skupin. Široce se v praxi používá hlavně klasifikace podle Memorial Sloan Kettering Cancer Center (MSKCC), jejíž výsledky vycházejí z klinických studií hodnotících imunoterapii založenou na cytokinech. Skupina bez rizikových faktorů (dobrá prognóza) prokázala celkové přežití (overall survival – OS) 30 měsíců, skupina nemocných s jedním až dvěma faktory (střední prognóza) dosáhla OS 14 měsíců, skupina se třemi a více faktory (špatná prognóza) měla OS jenom 5 měsíců [10]. Pro indikaci léčby temsirolimem se doporučují modifikovaná MSKCC kritéria podle Hudese [11]. Novější klasifikaci představuje Hengův model, který vychází z dat novější cílené terapie [12]. Podle této klasifikace pacienti v dobré prognostické skupině prokázali OS 43 měsíců ve srovnání s nemocnými se špatnou prognózou, kde bylo OS jenom 8 měsíců [13]. Ve výsledcích délky OS obou modelů lze pozorovat zlepšení léčebných výsledků po zavedení cílené terapie ve srovnání s léčbou cytokiny. Přehled skórovacích systémů je podrobně uveden v Modré knize České onkologické společnosti (ČOS) [14]. I v době cílené terapie a imunoterapie má své postavení provedení cytoredukční nefrektomie u pacientů s mRCC. Nemocní, kteří absolvovali cytoredukční nefrektomii, měli delší OS než pacienti bez nefrekto-

mie (17,1 vs. 7,7 měsíce; $p < 0,001$) [15]. Obecně lze doporučit provedení cytoredukční nefrektomie u pacientů v dobrém výkonnostním stavu a s méně rozsáhlým metastatickým postižením [16]. Cytoredukční nefrektomii lze indikovat i s odstupem po zahájení systémové cílené terapie bez zhoršení přežití bez známek progresu (progression-free survival – PFS), jak bylo prezentováno na loňském ESMO (European Society for Medical Oncology) 2017 [17]. Další text se zabývá možnostmi systémové léčby mRCC.

Systémová léčba karcinomu ledviny

V léčebných možnostech systémové léčby mRCC došlo v posledních letech k významným změnám vycházejícím z výsledků randomizovaných klinických studií, převážně fáze III. Aktuálně představují dominantní roli cílená léčba a imunoterapie. Hormonální léčba či cytotoxická chemoterapie neprokázaly výraznější účinnost u tohoto onemocnění. Menší část pacientů s mRCC profitovala z podání vysokodávkového interleukinu 2 (IL-2). Problematická byla vysoká toxicita této léčby s nutností aplikace na jednotkách intenzivní péče [18]. Cílenou léčbu představuje skupina inhibitorů angiogeneze, kam řadíme jednak tyrozin-kinázové inhibitory (TKI) jako sunitinib, sorafenib, pazopanib, axitinib, kabozantinib, lenvatinib, jednak monoklonální protilátka bevacizumab. Další představitelem cílené terapie v léčbě mRCC představuje skupina inhibitorů mTOR dráhy

Tab. 1. Přehled toxicity cílené léčby a imunoterapie v terapii mRCC.

Typ terapie	Nežádoucí účinky
inhibitory tyrozin kináz	únava, arteriální hypertenze, mukozitida, stomatitida, nevolnost, zvracení, průjem, nechutenství, kožní toxicita (akneiformní exantém, hand-foot syndrom), alopecie, hypotyreóza, leukopenie, trombocytopenie, elevace jaterních testů, změna barvy vlasů
mTOR inhibitory	únava, kožní vyrážka, nevolnost, průjem, plicní toxicita (kašel, pneumonitida), infekce, periferní otoky, anémie, metabolické změny (porucha metabolismu lipidů, hyperglykemie)
monoklonální protilátka – bevacizumab	arteriální hypertenze, proteinurie, zhoršení hojení ran, možná gastrointestinální perforace
imunoterapie – nivolumab	únava, nevolnost, průjem, kožní potíže (svědění kůže, vyrážka), hypotyreóza, pneumonitida, elevace jaterních testů, další možné neobvyklé projevy (autoimunitní encefalitida)
mRCC – metastatický karcinom ledviny	

Tab. 2. Přehled vybraných klinických studií 1. linie léčby mRCC.

Studie	Počet pacientů	PFS (m)	OS (m)	ORR (%)
sunitinib	375	11	26,4	31
interferon α [19,20]	375	5	21,8	6
pazopanib	290	9,2	22,9	30
placebo [21]	145	4,2	20,5	3
bevacizumab + interferon α	327	10,2	23,3	31
interferon α [22]	322	5,4	21,3	13
bevacizumab + interferon α	369	8,5	18,3	26
interferon α [23]	363	5,2	17,4	13

mRCC – metastatický karcinom ledviny, PFS – přežití bez progresu onemocnění, OS – celkové přežití, ORR – celková léčebná odpověď

everolimus a temsirolimus. Představitelem imunoterapie v léčebné praxi mRCC je monoklonální protilátka nivolumab. Důležitým aspektem nových léčebných možností je kromě účinnosti i toxicita terapie. Obecně se toxicita cílené terapie nebo imunoterapie liší od typických nežádoucích účinků (NÚ) chemoterapie, navíc je rozdílná i v rámci jednotlivých typů cílené léčby. Přehled nejčastějších NÚ cílené léčby a imunoterapie je uveden v tab. 1. V ČR máme aktuálně definované 3 linie léčby mRCC [14]. V léčbě 1. linie se podle nejnovějších dat uplatňují jiné preparáty než v léčbě vyšší linie. Taky je důležité zmínit, že na podkladě účinnosti 1. linie terapie nelze většinou odhadovat výsledky léčby ve 2. či vyšší linii [14].

1. linie léčby

Přehled nejvýznamnějších klinických studií fáze III hodnotících 1. linii je uveden v tab. 2 [19–23]. Sunitinib je perorální inhibitor VEGFR 1–3 a dalších tyrozinkináz jako PDGFR (platelet-derived growth factor receptor), c-KIT a jiných. Podává se perorálně v dávce 50 mg/den po dobu 4 týdnů s 2týdenní pauzou. Jeho účinnost byla prokázána v klinické studii, ve které byl srovnáván s interferonem α v 1. linii mRCC. Sunitinib prokázal významné prodloužení mediánu PFS a procenta celkové léčebné odpovědi (overall response rate – ORR). OS bylo prodlouženo na hranici statistické významnosti. Pazopanib je dalším perorálním TKI VEGFR1-3, PDGFR, c-KIT

Tab. 3. spektrum nežádoucích účinků pazopanibu a sunitinibu a podle studie COMPARZ [22].

Nežádoucí účinek	Pazopanib		Sunitinib	
	Celkem (%)	Stupeň 3–4 (%)	Celkem (%)	Stupeň 3–4 (%)
průjem	63	9	57	8
únav	55	11	63	18
arteriální hypertenze	46	16	41	16
nevolnost	45	2	46	2
nechutenství	37	1	37	3
hand-foot syndrom	29	6	50	12
změna barvy vlasů	30	0	10	1
vyrážka	18	1	23	1
stomatitida	14	1	27	1
alopecie	14	0	8	0
hypotyreóza	12	0	24	1
epistaxe	9	1	18	1
leukopenie	43	1	78	6
trombocytopenie	41	3	78	22
anémie	31	2	60	7
elevace ALT	61	12	60	3
elevace AST	60	17	43	5

ALT – alaninaminotransferáza, AST – aspartátaminotransferáza

a dalších drah. V léčbě mRCC se používá kontinuálně v dávce 800 mg/den. V klinické studii prokázal v 1. linii ve srovnání s placebem významné prodloužení mediánu PFS a vyšší ORR, bez prodloužení mediánu OS. Další možností v léčbě 1. linie mRCC je monoklonální proti-

látka bevacizumab. V kombinaci s interferonem α prokázal bevacizumab významné prodloužení mediánu PFS ve srovnání s monoterapií interferonem α . OS nebylo významně prodlouženo. Nevýhodou je parenterální podání a toxicita interferonu α . Tato kombinace se

Tab. 4. Přehled vybraných klinických studií 2. linie léčby mRCC.

Studie	Počet pacientů	PFS (m)	OS (m)	ORR (%)
everolimus	272	4,9	14,8	1,8
placebo [33]	138	1,9	14,4	0
sorafenib	451	5,5	17,8	2
placebo [34]	452	2,8	15,2	0
axitinib	361	6,7	20,1	19
sorefenib [35,36]	362	4,7	19,2	9
kabozantinib	330	7,4	21,4	17
everolimus [37,38]	328	3,9	16,5	3
nivolumab	406	4,6	25	25
everolimus [39]	397	4,4	19,6	5

mRCC – metastatický karcinom ledviny, PFS – přežití bez progresu onemocnění, OS – celkové přežití, ORR – celková léčebná odpověď

v ČR v praxi výrazněji nepoužívá, dominantní roli léčby 1. linie mRCC představuje podávání sunitinibu a pazopanibu. Vzájemné porovnání obou preparátů hodnotila klinická studie COMPARZ, jejímž cílem bylo prokázání noninferiority pazopanibu ve srovnání se sunitinibem. Při hodnocení léčebných výsledků byla noninferiorita prokázána jak v PFS (sunitinib vs. pazopanib – 9,5 vs. 8,4 měsíce; HR 1,05), tak i v OS (29,1 vs. 28,3 měsíce; HR 0,92) či ORR (25 vs. 31 %). Jednotlivé preparáty se ale lišily odlišným spektrem NÚ (tab. 3). Toxicita pazopanibu prokázala příznivější vliv na kvalitu života než terapie sunitinibem [24,25]. Preference pacientů či lékařů ohledně účinků sunitinibu a pazopanibu zkoumala další klinická studie PISCES. Pacienti byli léčeni 10 týdnů sunitinibem (4 týdny sunitinib, 2 týdny pauza, 4 týdny sunitinib) nebo pazopanibem (10 týdnů kontinuálně). Následně po 2 týdnech pauzy došlo k výměně terapie. Výsledkem studie byla vyšší preference pacientů pro pazopanib (70 %) než sunitinib (22 %), podobně pazopanib preferovala i větší část lékařů [26]. Na podkladě výše zmíněných dat se zdá, že léčba pazopanibem by mohla být výhodnější než podání sunitinibu. Nutno ale zmínit, že ve studii COMPARZ byla kvalita života hodnocena 28. den cyklu, kdy vrcholil NÚ sunitinibu před následnou 2týdenní pauzou. Ve studii PISCES pacienti léčení ve fázi I pazo-

panibem měli 2týdenní léčebnou pauzu (pazopanib se standardně používá kontinuálně), kdežto 2týdenní pauza u pacientů léčených zpočátku sunitinibem byla v podstatě součástí standardního režimu dávkování sunitinibu. Tedy pacienti léčení ve fázi I sunitinibem neměli „regulérní“ přestávku v léčbě, což mohlo ovlivnit preferenci nemocných či lékařů. Při použití pazopanibu v 1. linii léčby mRCC byla donedávna problematická definice další linie. V ČR se často používal po pazopanibu sunitinib, nicméně tato indikace nevycházela z výsledků randomizovaných studií. Aktuálně po progresi pazopanibu je další linie léčby již dobře definovaná, kdy lze podat jak kabozantinib, tak i nivolumab, podobně jako po progresi sunitinibem. V ČR na podkladě dat z registru RENIS je pazopanib vnímán spíše jako lék vhodný pro starší populaci pacientů, nicméně jeho účinnost byla prokázána i u pacientů mladších. Další možnost, jak zlepšit toleranci léčby sunitinibem, je alternativní způsob podávání, kdy nejvíce dat je k dispozici s takzvaným režimem 2/1 (2 týdny terapie/1 týden pauza), jak prezentovaly převážně retrospektivní klinické studie [27–29]. Některé studie dokonce prokázaly i lepší léčebné výsledky režimu 2/1 [30]. Indikace vhodného preparátu do 1. linie vychází jednak z charakteristik pacientů (komorbidit, anamnestické údaje, vliv možných NÚ na konkrétního

nemocného), jednak ze zkušeností indikujících lékařů či daného onkologického pracoviště. Problematika, zda je výhodnější sunitinib, či pazopanib, je nadále široce diskutovaná. U pacientů se špatnou prognózou podle modifikovaných MSKCC kritérií lze zvážit i podání temsirolimu, který prokázal významné prodloužení nejenom mediánu PFS (HR 0,66; $p < 0,001$), ale i OS (HR 0,73; $p = 0,008$) ve srovnání s interferonem α [31]. Nevýhodou podání temsirolimu je nutnost týdenní nitrožilní infuze a nežádoucí vliv na metabolismus lipidů a sacharidů. V klinické praxi se zřejmě častěji u této skupiny pacientů používá sunitinib nebo pazopanib, jak je to uvedeno i v doporučení ČOS [14]. Recentně byly publikovány výsledky klinické studie fáze II CABOSUN, která prokázala prodloužení mediánu PFS u pacientů se střední a špatnou prognózou léčených kabozantinibem ve srovnání se standardní léčbou sunitinibem v 1. linii [32].

2. a vyšší linie

Přehled významných klinických studií hodnotících léčbu 2. a vyšší linie mRCC je uveden v tab. 4 [33–39]. Everolimus řadíme mezi perorální mTOR inhibitory se standardním dávkováním 10 mg/den kontinuálně. V klinické studii prokázal u pacientů po předchozí terapii sunitinibem nebo sorafenibem významné prodloužení mediánu PFS ve srovnání s placebem, ale bez prodloužení OS. Od léčby everolimem je nutno očekávat z hlediska hodnocení dosažení léčebné odpovědi hlavně stabilizaci onemocnění, kdy léčebná odpověď byla jenom u 1,8 % pacientů [33]. Dalším lékem, který prokázal účinnost ve 2. linii terapie mRCC po selhání cytokinové léčby, je sorafenib. Jedná se o TKI VEGFR, PDGFR a BRAF dráhy. Podává se perorálně v dávce 800 mg/den ve dvou dávkách. Sorafenib ve srovnání s placebem prokázal významné prodloužení mediánu PFS, opět bez prodloužení OS. Podobně jako everolimus ani sorafenib neprokával větší procento ORR. Na druhé straně byla publikovaná studie fáze III INTORSECT, kde sorafenib prokázal významné prodloužení mediánu OS ve srovnání s temsirolimem po předchozí léčbě sunitinibem (16,6 vs. 12,3 měsíce; HT 1,31; $p = 0,01$) [40]. No-

vějším preparátem v léčbě 2. linie mRCC je axitinib. Axitinib řadíme mezi druhou generaci VEGFR inhibitorů s vyšší potencí a specificitou k cílové struktuře [41]. Axitinib se užívá perorálně ve dvou denních dávkách. Léčba je zahájena dávkou 2× 5 mg. V roce 2011 byly publikovány výsledky registrační prospektivní klinické studie fáze III AXIS. Do studie byli zahrnuti pacienti s mRCC po předchozí antiVEGFR léčbě převážně sunitinibem (62 %), méně po selhání cytokinů. Axitinib byl srovnáván se sorafenibem a prokázal významné prodloužení mediánu PFS. Jednalo se o první přímé srovnání dvou představitelů TKI ve 2. linii léčby mRCC [35]. V roce 2013 byla publikována nová analýza dat studie AXIS, která potvrdila významné prodloužení mediánu PFS ve skupině pacientů léčených axitinibem (8,3 vs. 5,7 měsíce; HR 0,656; $p < 0,0001$). Medián OS ale prodloužen nebyl (20,1 vs. 19,2 měsíce; HR 0,969; $p = 0,374$). V klinické studii AXIS prokázal axitinib výraznější prodloužení mediánu PFS ve srovnání se sorafenibem ve skupině nemocných, kteří byli léčeni v 1. linii cytokiny (12,1 vs. 4,8 měsíce), než sunitinibem (4,8 vs. 3,4 měsíce). Jedním z nejčastějších NÚ axitinibu je arteriální hypertenze. Subanalýza studie AXIS prokázala, že zvýšení krevního tlaku v době léčby axitinibem je nezávislým prediktorem delšího OS [36]. V klinické praxi se proto doporučuje titrovat denní dávku axitinibu na podkladě zvýšení krevního tlaku. U pacientů léčených TKI VEGFR dochází časem k rozvoji rezistence. Preklinické práce prokázaly, že tato rezistence je spojena u karcinomu ledviny se zvýšením exprese genů MET a AXL [42]. Nový TKI kabozantinib inhibuje kromě angiogeneze i výše zmíněné geny. Jedná se o perorální lék s dávkováním 60 mg/den. Klinická studie METEOR hodnotila kabozantinib s everolimem u pacientů s mRCC po předchozí terapii TKI angiogeneze. Kabozantinib jako první preparát prokázal významné prodloužení všech tří ukazatelů jako PFS, OS i ORR [37,38]. Kabozantinib dále prokázal rychlý nástup léčebné odpovědi (necelé 2 měsíce), což lze využít hlavně u symptomatických pacientů s cílem dosažení časně léčebné odpovědi. Při podskupinové analýze kabozantinib prokázal

účinnost i u prognosticky nepříznivé skupiny pacientů s kostním metastatickým procesem. Studie ale prokázala i vyšší výskyt toxicity kabozantinibu než everolimu s nutností častější redukce dávky (medián dávky 44 vs. 9 mg), i když procento přerušení léčby bylo v obou skupinách bez významného rozdílu. Kromě cílené terapie se aktuálně v léčbě 2. a vyšší linie mRCC začala používat i imunoterapie [9]. Nivolumab je monoklonální IgG4 protilátka proti PD-L1, která prokázala účinnost v celé řadě malignit. Aplikuje se v dávce 3 mg/kg v podobě nitrožilní infuze, 1× za 2 týdny. Nivolumab byl srovnáván s everolimem u pacientů s mRCC po předchozí terapii TKI angiogeneze v klinické studii CheckMate 025. Nivolumab významně prodloužil OS o 5,4 měsíce, což byl primární cíl studie. Medián PFS významně prodloužen nebyl. Snášenlivost imunoterapie byla lepší než ve skupině pacientů léčených everolimem [39]. Skutečnost, že nedošlo k prodloužení mediánu PFS, ale následně bylo popsáno prodloužení mediánu OS, je u pacientů léčených imunoterapií opakovaně pozorována. Souvisí to zřejmě se specifickým účinkem imunoterapie, kdy i po počáteční progresi nastává následně dlouhodobý léčebný efekt, který se může promítnout do prodloužení OS. Diskutovaným problémem imunoterapie je možný výskyt pseudoprogrese, která může vést k předčasnému ukončení potenciálně účinné léčby. Diskutovanou otázkou je hledání optimálního hodnocení léčebné odpovědi při léčbě imunoterapií. Nejčastěji se diskutuje možnost širšího využití imunitní varianty RECIST (Response Evaluation Criteria in Solid Tumours) kritérií. Dosavadní data zatím ale nejsou dostatečná pro jejich validaci. Na podkladě skutečností, že při léčbě nivolumabem ve výše zmíněné studii byla popsána primární progresa až u 30 % pacientů, imunoterapie nivolumabem nebude vhodná u nemocných se symptomatickým či rozsáhlejším onemocněním, kdy může v případě progrese dojít k významnému zhoršení klinického stavu. U imunoterapie je dále nutno myslet i na méně časté či neočekávané projevy toxicity, které mohou být pro pacienta i fatální, jako např. autoimunitní encefalitida.

Systémová terapie nesevřetlobuněčných karcinomů

Do této skupiny řadíme papilární karcinom, který představuje přibližně 10 % všech RCC. U části papilárních karcinomů lze pozorovat alteraci již zmíněného MET genu, zatímco druhá část tohoto histologického typu je spojena s poškozením Nrf2-antioxidantu [43]. Vzácnějšími typy jsou chromofobní karcinom, medulární karcinom, karcinom z přechodných buněk aj. V léčbě těchto karcinomů máme k dispozici méně klinických dat vycházejících z randomizovaných studií. Obecně lze zmínit, že systémová léčba je méně účinná než u pacientů se světlobuněčným karcinomem. Standardy National Comprehensive Cancer Network (NCCN) doporučují zařazení pacientů do klinických studií [44]. Proběhlo několik randomizovaných studií, které prokázaly trend k delšímu PFS při terapii sunitinibem než everolimem [45–47]. U pacientů se sarkomatoidní variantou lze zvážit i podání systémové chemoterapie, nejčastěji se zmiňují data s gemcitabinem, kapecitabinem či doxorubicinem [14,48,49].

Perspektivy

Zdá se, že monoterapie standardními TKI angiogeneze již nejspíše dosáhla vrcholu své účinnosti. Dalším podkladem pro zlepšení výsledků léčby je při vzniku primární či získané rezistence na VEGFR inhibitory, inhibice dalších up-regulovaných drah (AXL, MET) [42]. Nová generace TKI představovaná kabozantinibem je podle aktuálních dat významně účinnější v porovnání se sunitinibem v 1. linii u pacientů se střední či špatnou prognózou či s mTOR inhibitory ve vyšší linii [32,37,38]. Bylo popsáno prodloužení OS u pacientů léčených sekvencí TKI – kabozantinib přibližně o 5 měsíců než u nemocných léčených sekvencí TKI – mTOR. Podobně i nivolumab prodloužil medián OS o 5 měsíců po předchozí TKI terapii ve srovnání se sekvencí TKI – mTOR. Další možností, jak dále zlepšit výsledky terapie mRCC, je kombinovaná léčba. Proběhlo několik klinických studií již s prvními výsledky. Studie fáze II hodnotila nový TKI lenvatinib. Jedná se o duální VEGFR a FGFR (fibroblast growth factor receptor) inhibitor, který v kom-

binaci s everolimem ve 2. linii mRCC významně prodloužil medián PFS (12,8 vs. 5,6 měsíce; HR 0,45; $p = 0,003$), OS (25,5 vs. 19,1 měsíce; HR 0,51; $p = 0,02$) ve srovnání s monoterapií everolimem. Studie dále prokázala dosud nevídané procento dosažení ORR (43 %). Tato skutečnost by mohla být využita u symptomatických pacientů s masivním metastatickým postižením [50]. Na loňské konferenci ESMO v Madridu byla publikována studie CheckMate 214, která u pacientů se střední a špatnou prognózou porovnávala kombinaci imunoterapie nivolumab + ipilimumab se standardní léčbou sunitinibem v 1. linii léčby mRCC. Kombinovaná imunoterapie prokázala významně delší medián PFS (11,6 vs. 8,4 měsíce; HR 0,82; $p = 0,0331$), OS (medián zatím nedosažen vs. 26,0 měsíce; HR 0,63; $p < 0,000$), jakož i ORR (42 vs. 27 %). Tato studie dále prokázala prediktivní vliv exprese PD-L1, kdy ve skupině pacientů s expresí ≥ 1 % byl rozdíl v PFS 22,8 vs. 5,9 měsíce (HR 0,48; $p = 0,0003$) [51]. Aktuálně probíhá mnoho klinických studií, převážně fáze I, které kombinují TKI a imunoterapii. Kontrolním ramenem je většinou standardní terapie 1. linie sunitinib. Problémem je kombinace pazopanibu a imunoterapie vzhledem k vysokému riziku jaterní toxicity. Další perspektivní možností je i použití protinádorových vakcín, nutno ale vyčkat na data ze studií fáze III hodnotících větší počet pacientů [52].

Biomarkery

V současné době nemáme k dispozici prediktivní biomarker pro léčbu TKI či mTOR inhibitory. V poslední době dochází na podkladě genové analýzy RCC k identifikaci mnoha mutovaných genů, které by mohly mít prognostický či prediktivní význam (*PBRM1*, *BAP1*, *SETD2*, *KDM5C*) [53]. Asi nejvíce dat máme z výzkumu genu *KDM5C*, který se spolupodílí na procesu transkripce a remodelace chromatinu. Mutovaná forma tohoto genu je spojena se zvýšením léčebné odpovědi na inhibitor VEGFR sunitinib ve srovnání s nemutovanou formou. Prediktivní význam mutace genu *KDM5C* na inhibitory mTOR nebyl prokázán [54]. Dvě retrospektivní studie prokázaly, že mutace v mTOR dráze v genech *TSC1*,

TSC2 a *MTOR* jsou asociovány s odpovědí na mTOR inhibitory everolimus a temsirolimus [55,56]. Dalším hodnoceným biomarkerem byl gen MET jako cílová struktura pro kabozantinib. Subanalýza studie METEOR ale neprokázala korelaci mezi expresí MET a léčebnými výsledky. Expresí MET byla vyšetřena imunohistochemicky. Jiným potenciálním biomarkerem je exprese PD-L1. Zvýšená exprese PD-L1 a CD8 T lymfocytů byla asociovaná s kratším OS u pacientů léčených inhibitory VEGFR ve studii COMPARZ [57]. Podobně byl negativní prognostický vliv exprese PD-L1 prokázán i ve studii CheckMate 025, ale bez prediktivního působení na účinnost imunoterapie [39]. Prediktivní vliv exprese PD-L1 ≥ 1 % byl prokázán pro kombinaci nivolumab + ipilimumab ve studii CheckMate 214 [51]. Problematika nalezení optimálních biomarkerů v léčbě mRCC je výzvou pro aktuální výzkum.

Závěr

U pacientů se světlobuněčným mRCC představuje aktuálně významnou roli cílená terapie a imunoterapie. U pacientů v dobrém výkonnostním stavu a s menším rozsahem metastatického postižení lze zvážit provedení cytoredukční nefrektomie. V případě oligometastatického onemocnění lze uvažovat o chirurgické resekci metastáz nebo použití ablačních metod, jako je stereotaktická radioterapie. Podle doporučení NCCN, ESMO či ČOS lze definovat celkem 3 linie systémové terapie mRCC. V 1. linii hrají dominantní roli sunitinib a pazopanib, které lze považovat z hlediska účinnosti za rovnocenné, liší se ale spektrem NÚ. V léčbě další linie se vedou aktuální diskuze, zda pokračovat v podávání TKI, nebo indikovat imunoterapii nivolumabem. Užitečné mohou být podskupinové analýzy jednotlivých klinických studií. Léčba mTOR inhibitory po předchozí terapii TKI je méně účinná než terapie nové generace TKI či imunoterapie. V budoucnu lze na podkladě výsledků randomizovaných studií očekávat širší využití kombinace cílené terapie s imunoterapií [58].

Literatura

1. Marenčák J, Ondrušová M, Ondruš D. Súčasný pohľad na diagnostiku a liečbu karcinómu obličky. *Klin Onkol* 2017; 30(3): 175–181. doi: 10.14735/amko2017175.

2. Dušek L, Mužík J, Kubásek M et al. Epidemiologie zhubných nádorů v České republice. [online]. Dostupné z: www: http://www.svod.cz.

3. Dušek L, Mužík J, Malúšková D et al. Incidence a mortalita nádorových onemocnění v České republice. *Klin Onkol* 2014; 27(6): 406–423. doi: 10.14735/amko2014406.

4. Srigley JR, Delahunt B, Eble JN et al. The International Society of Urological Pathology (ISUP) Vancouver classification of renal neoplasms. *Am J Surg Pathol* 2013; 37(10): 1469–1489. doi: 10.1097/PAS.0b013e318299f2d1.

5. Moch H, Cubilla AL, Humprey PA et al. The 2016 WHO classification of tumours of the urinary system and male genital organs – part A: renal, penile, and testicular tumours. *Eur Urol* 2016; 70(1): 93–105. doi: 10.1016/j.eururo.2016.02.029.

6. Kaelin WG Jr. The von Hippel-Lindau tumour suppressors protein: O2 sensing and cancer. *Nat Rev Cancer* 2008; 8(11): 865–873. doi: 10.1038/nrc2502.

7. Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular characterization of clear cell renal carcinoma. *Nature* 2013; 499(7456): 43–49. doi: 10.1038/nature12222.

8. Sabatiny DM. mTOR and cancer: insights into a complex relationship. *Nat Rev Cancer* 2006; 6(9): 729–734. doi: 10.1038/nrc1974.

9. Büchler T. Imunoterapie renálního karcinomu. *Klin Onkol* 2015; 28 (Suppl 4): 4564–4568. doi: 10.14735/amko20154564.

10. Motzer RJ, Bacik BA, Russi P et al. Interferon.alfa as a comparative treatment for clinical trials of new therapies against advanced renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2002; 20(1): 289–296. doi: 10.1200/JCO.2002.20.1.289.

11. Hudes G, Carducci M, Tomczak P et al. Temsirolimus, interferon alfa, or both for advanced renal-cell carcinoma. *N Engl J Med* 2007; 356(22): 2271–2281. doi: 10.1056/NEJMoa066838.

12. Heng DY, Xie W, Regan MM et al. Prognostic factors for overall survival in patients with metastatic renal cell carcinoma treated with vascular endothelial growth factor-targeted agents: results from a large, multicenter study. *J Clin Oncol* 2009; 27(34): 5794–5799. doi: 10.1200/JCO.2008.21.4809.

13. Heng DY, Xie W, Regan MM et al. External validation and comparison with other models of the International Database Consortium Prognostic Model: a population-based study. *Lancet Oncol* 2013; 14(2): 141–148. doi: 10.1016/S1470-2045(12)70559-4.

14. Vyzula R, Adámková Krákorová D, Arenberger P et al. Zhubný novotvar ledviny (C64). In: *Modrá kniha České onkologické společnosti*. Brno: Masarykův onkologický ústav 2017: 116–119.

15. Hanna N, Sun M, Meyer CP et al. Survival analyses of patients with metastatic renal cancer treated with targeted therapy with or without cytoreductive nephrectomy: a national cancer data base study. *J Clin Oncol* 2016; 34(27): 3267–3275. doi: 10.1200/JCO.2016.66.7931.

16. Heng DY, Wells JC, Rini BI et al. Cytoreductive nephrectomy in patients with synchronous metastases from renal cell carcinoma: results from the International Metastatic renal cell carcinoma database consortium. *Eur Urol* 2014; 66(4): 704–710. doi: 10.1016/j.eururo.2014.05.034.

17. Bex A, Mulders P, Jewett M et al. Immediate versus deferred cytoreductive nephrectomy (CN) in patients with synchronous metastatic renal cell carcinoma (mRCC) receiving sunitinib (EORTC 30073 SURTIME). *Ann Oncol* 2017; 28 (Suppl 5): v605–v649. doi: 10.1093/annonc/mdx440.

18. Allard CB, Gelpi-Hammerschmidt F, Harshman LC et al. Contemporary trends in high-dose interleukin-2 use for metastatic renal cell carcinoma in the United States. *Urol Oncol* 2015; 33(11): 496. e11–e16. doi: 10.1016/j.urolonc.2015.06.014.

19. Motzer RJ, Hutson TE, Tomczak P et al. Sunitinib versus interferon alfa in metastatic renal-cell carcinoma.

- N Eng J Med 2007; 356(2): 115–124. doi: 10.1056/NEJMoa065044.
20. Motzer RJ, Hutson TE, Tomczak P et al. Overall survival and updated results for sunitinib compared with interferon alfa in patients with metastatic renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2009; 27(22): 3584–3590. doi: 10.1200/JCO.2008.20.1293.
21. Sternberg CN, Davis ID, Mardiak J et al. Pazopanib in locally advanced or metastatic renal cell carcinoma: results of a randomized phase III trial. *J Clin Oncol* 2010; 28(6): 1061–1068. doi: 10.1200/JCO.2009.23.9764.
22. Escudier B, Bellmunt J, Négrier S et al. Phase III trial of bevacizumab plus interferon alfa-2a in patients with metastatic renal cell carcinoma (AVOREN): final analysis of overall survival. *J Clin Oncol* 2010; 28(13): 2144–2150. doi: 10.1200/JCO.2009.26.7849.
23. Rini BI, Halabi S, Rosenberg JE et al. Phase III trial of bevacizumab plus interferon alfa versus interferon alfa monotherapy in patients with metastatic renal cell carcinoma: final results of CALGB 90206. *J Clin Oncol* 2010; 28(13): 2137–2143. doi: 10.1200/JCO.2009.26.5561.
24. Motzer RJ, Hutson TE, Cella D et al. Pazopanib versus sunitinib in metastatic renal-cell carcinoma. *N Engl J Med* 2013; 369: 722–731. doi: 10.1056/NEJMoa1303989.
25. Motzer RJ, Hutson TE, McCann L et al. Overall survival in renal-cell carcinoma with pazopanib versus sunitinib. *N Engl J Med* 2014; 370(18): 1769–1770. doi: 10.1056/NEJMcl1400731.
26. Escudier B, Porta C, Bono P et al. Randomized, controlled, double-blind, cross-over trial assessing treatment preference for pazopanib versus sunitinib in patients with metastatic renal cell carcinoma: PISCES Study. *J Clin Oncol* 2014; 32(14): 1412–1418. doi: 10.1200/JCO.2013.50.8267.
27. Najjar YG, Mittal K, Elson P et al. A 2 weeks on and 1 week off schedule of sunitinib is associated with decreased toxicity in metastatic renal cell carcinoma. *Eur J Cancer* 2014; 50(6): 1084–1089. doi: 10.1016/j.ejca.2014.01.025.
28. Atkinson BJ, Kalra S, Wang X et al. Clinical outcomes for patients with metastatic renal cell carcinoma treated with alternative sunitinib schedules. *J Urol* 2014; 191(3): 611–618. doi: 10.1016/j.juro.2013.08.090.
29. Bracarda S, Iacovelli R, Boni L et al. Sunitinib administered on 2/1 schedule in patients with metastatic renal cell carcinoma: the RAINBOW analysis. *Ann Oncol* 2015; 26(10): 2107–2113. doi: 10.1093/annonc/mdv315.
30. Lee JL, Kim MK, Park I et al. Randomized phase II trial of sunitinib four weeks on and two weeks off versus two weeks on and one week off in metastatic clear-cell type renal cell carcinoma: RESTORE trial. *Ann Oncol* 2015; 26(11): 2300–2305. doi: 10.1093/annonc/mdv357.
31. Hudes G, Carducci M, Tomczak P et al. Temsirolimus, interferon alfa, or both for advanced renal-cell carcinoma. *N Engl J Med* 2007; 356(22): 2271–2281. doi: 10.1056/NEJMoa066838.
32. Choueiri TK, Halabi S, Sanford BL et al. Cabozantinib versus sunitinib as initial targeted therapy for patients with metastatic renal cell carcinoma of poor or intermediate risk: The alliance A031203 CABOSUN trial. *J Clin Oncol* 2017; 35(6): 591–597. doi: 10.1200/JCO.2016.70.7398.
33. Motzer RJ, Escudier B, Oudard S et al. Efficacy of everolimus in advanced renal cell carcinoma: a double-blind, randomised, placebo-controlled phase III trial. *Lancet* 2008; 372(9637): 449–456. doi: 10.1016/S0140-6736(08)61039-9.
34. Escudier B, Eisen T, Stadler WM et al. Sorafenib for treatment of renal cell carcinoma: final efficacy and safety results of the phase III treatment approaches in renal cancer evaluation trial. *J Clin Oncol* 2009; 27(20): 3312–3318. doi: 10.1200/JCO.2008.19.5511.
35. Rini BI, Escudier B, Tomczak P et al. Comparative effectiveness of axitinib versus sorafenib in advanced renal cell carcinoma (AXIS): a randomised phase 3 trial. *Lancet* 2011; 378(9807): 1931–1939. doi: 10.1016/S0140-6736(11)61613-9.
36. Motzer RJ, Escudier B, Tomczak P et al. Axitinib versus sorafenib as second-line treatment for advanced renal cell carcinoma: overall survival analysis and updated results from a randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2013; 14(6): 552–562. doi: 10.1016/S1470-2045(13)70093-7.
37. Choueiri TK, Escudier B, Powles T et al. Cabozantinib versus everolimus in advanced renal-cell carcinoma. *N Engl J Med* 2015; 373(19): 1814–1823. doi: 10.1056/NEJMoa1510016.
38. Choueiri TK, Escudier B, Powles T et al. Cabozantinib versus everolimus in advanced renal cell carcinoma (METEOR): final results from a randomized, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2016; 17(7): 917–927. doi: 10.1016/S1470-2045(16)30107-3.
39. Motzer RJ, Escudier B, McDermott DF et al. Nivolumab versus everolimus in advanced renal-cell carcinoma. *N Engl J Med* 2015; 373(19): 1903–1813. doi: 10.1056/NEJMoa1510665.
40. Hutson TE, Escudier B, Esteban E et al. Randomized Phase III Trial of temsirolimus versus sorafenib as second-line therapy after sunitinib in patients with metastatic renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2014; 32(8): 760–767. doi: 10.1200/JCO.2013.50.3961.
41. Hu-Lowe DD, Zou HY, Grazzini ML et al. Nonclinical antiangiogenesis and antitumor activities of axitinib (AG-013736), an oral, potent, and selective inhibitor of vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinases 1, 2, 3. *Clin Cancer Res* 2008; 14(22): 7272–7283. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-08-0652.
42. Zhou L, Liu XD, Sun M et al. Targeting MET and AXL overcomes resistance to sunitinib therapy in renal cell carcinoma. *Oncogene* 2016; 35(21): 2687–2697. doi: 10.1038/onc.2015.343.
43. The Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular characterisation of papillary renal-cell carcinoma. *N Engl J Med* 2016; 374(2): 135–145. doi: 10.1056/NEJMoa1505917.
44. National Comprehensive Cancer Network. NCCN clinical practice guidelines in oncology: kidney cancer, version 2. 2018. [online]. Available from: https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/default.aspx.
45. Armstrong AJ, Halabi S, Eisen T et al. Everolimus versus sunitinib for patients with metastatic non-clear cell renal carcinoma (ASPEN): a multicentre, open-label, randomised phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2016; 17(3): 378–388. doi: 10.1016/S1470-2045(15)00515-X.
46. Motzer RJ, Barrios CH, Kim TM et al. Phase II randomised trial comparing sequential first-line everolimus and second-line sunitinib versus first line sunitinib and second-line everolimus in patients with metastatic renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2014; 32(25): 2765–2772. doi: 10.1200/JCO.2013.54.6911.
47. Tannir NM, Jonasch E, Albiges L et al. Everolimus versus sunitinib prospective evaluation in metastatic non-clear cell renal carcinoma (ESPN): a randomized multicenter phase 2 trial. *Eur Urol* 2016; 69(5): 866–874. doi: 10.1016/j.eururo.2015.10.049.
48. Haas NB, Lin X, Manola J et al. A phase II trial of doxorubicin and gemcitabine in renal cell carcinoma with sarcomatoid features. *ECOG 8802*. *Med Oncol* 2012; 29(2): 761–767. doi: 10.1007/s12032-011-9829-8.
49. Nanus DM, Garino A, Miowsky ML et al. Active chemotherapy for sarcomatoid and rapidly progressing renal cell carcinoma. *Cancer* 2004; 101(7): 1545–1551. doi: 10.1002/cncr.20541.
50. Motzer RJ, Hutson TE, Glen H et al. Lenvatinib, everolimus, and the combination in patients with metastatic renal cell carcinoma: a randomised, phase 2, open-label, multicentre trial. *Lancet Oncol* 2015; 16(15): 1473–1482. doi: 10.1016/S1470-2045(15)00290-9.
51. Escudier B, Tannir N, McDermott DF et al. CheckMate 214: Efficacy and safety of nivolumab + ipilimumab v sunitinib for treatment-naïve advanced or metastatic renal cell carcinoma, including IMDC risk and PD-L1 expression subgroups. *Ann Oncol* 2017; 28 (Suppl 5): abstr. LBA5. doi: 10.1093/annonc/mdx440.029.
52. Amin A, Dudek AZ, Logan TF et al. Survival with AGS-003, an autologous dendritic cell-based immunotherapy, in combination with sunitinib in unfavorable risk patients with advanced renal cell carcinoma (RCC): phase 2 study results. *J Immunother Cancer* 2015; 3: 14. doi: 10.1186/s40425-015-0055-3.
53. Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular characterization of clear cell renal cell carcinoma. *Nature* 2013; 499(7456): 43–49. doi: 10.1038/nature12222.
54. Hsieh J, Chen D, Wang P et al. Identification of efficacy biomarkers in a large metastatic renal cell carcinoma (mRCC) cohort through next generation sequencing (NGS): results from RECORD-3. *J Clin Oncol* 2015; 33 (Suppl 15): abstr. 4509. doi: 10.1200/jco.2015.33.15_suppl.4509.
55. Kwiatkowski DJ, Choueiri TK, Fay AP et al. Mutations in TSC1, TSC2 and mTOR are associated with response to rapalogs in patients with metastatic renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2016; 22(10): 2445–2452. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-15-2631.
56. Voss MH, Hakimi AA, Pham CG et al. Tumor genetic analyses of patients with metastatic renal cell carcinoma and extended benefit from mTOR inhibitor therapy. *Clin Cancer Res* 2014; 20(7): 1955–1964. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-13-2345.
57. Choueiri TK, Figueroa DJ, Fay AP et al. Correlation of PD-L1 tumor expression and treatment outcomes in patients with renal cell carcinoma receiving sunitinib or pazopanib: results from COMPARZ, a randomized controlled trial. *Clin Cancer Res* 2015; 21: 1071–1077. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-14-1993.
58. Poprach A, Lakomý R, Büchler T. Imunoterapie zhoubného nádoru ledviny. *Klin Onkol* 2017; 30 (Suppl 3): 3555–3561. doi: 10.14735/amko20173555.

Nové možnosti testování chemosenzitivity u nádorových onemocnění

New Approaches for Chemosensitivity Testing in Malignant Diseases

Sommerová L., Michalová E., Hrstka R.

RECAMO, Masarykův onkologický ústav, Brno

Souhrn

Východiska: Vzhledem k nezastupitelné úloze chemoterapie při léčbě nádorových onemocnění se onkologický výzkum zaměřil na zvýšení účinnosti jednotlivých léčiv a maximální zmírnění, ne-li kompletní potlačení nežádoucích účinků. Vhodná léčba je primárně volena podle základních klinicko-patologických diagnostických kritérií, jako je velikost nádoru, stupeň diferenciacie a přítomnost či absence standardních markerů. Situaci však komplikuje variabilita mezi jednotlivými pacienty spolu se značnou heterogenitou vlastního nádoru. Detailní charakterizace intratumorální heterogenity a získání spolehlivějších ukazatelů účinnosti léčiv by tak mělo vést k posílení personalizované terapie. Vývoj a výběr spolehlivých modelů tudíž představuje důležitou otázku ve výzkumu zaměřeném na predikci citlivosti nádorových buněk k léčbě. **Cíl:** Práce shrnuje poznatky o testovacích systémech zaměřených na stanovení citlivosti či rezistence nádorových buněk k chemoterapii a jejich zavádění do onkologické praxe od prvních dnes již historických pokusů až po současnost se snahou posoudit jejich uplatnění ve stávající klinické praxi či blízké budoucnosti. Značný důraz je kladen na porovnání 2D a 3D *in vitro* buněčných modelů, neboť jejich význam a popularita konstantně narůstá. Pozornost je též věnována systémům *in vivo*, které v poslední době zaznamenaly nemalý progres a jsou v rámci klinických studií testovány k predikci odpovědi na podávanou terapii. **Závěr:** Práce uvádí stručný přehled testů chemosenzitivity a hodnotí význam jednotlivých testů vzhledem k jejich zapojení do rozhodovacího procesu a stratifikace pacientů s cílem predikovat klinickou odpověď konkrétních pacientů a přispět tak k rozvoji cílené personalizované terapie.

Klíčová slova

techniky tkáňových kultur – individualizovaná medicína – screening léčiv – biologické modely – nádorové buněčné linie – karcinom – cytotoxické testy

Summary

Background: Due to the irreplaceable role of chemotherapy in cancer treatment, research has focused on improving the efficacies of individual drugs and minimizing, or completely suppressing, their negative side effects. Based on long-term experience and the results of clinical trials, the selection of appropriate treatment is currently based on classical clinical diagnostic criteria, such as tumor size, grade, and the presence or absence of standard markers. However, complications arise due to variability between patients and tumor heterogeneity. Characterization of intratumoral heterogeneity and acquisition of more reliable drug performance indicators should improve personalized therapy. Development and selection of suitable models are therefore important issues in cancer research focused on predicting sensitivity to therapy. **Aim:** This work provides an overview of various chemosensitivity tests that have been previously employed and those that are currently used. Great emphasis is placed on comparing 2D and 3D cell culture models, since their importance and popularity are increasing. Particular attention is paid to *in vivo* systems, which have significantly improved recently and are tested in clinical trials to predict responses to therapy. **Conclusion:** This work provides a brief overview of chemosensitivity tests, focusing on the importance of individual tests and their application in decision-making and patient stratification to improve the clinical responses of patients and the development of targeted personalized therapy.

Key words

cell culture techniques – personalized medicine – drug screening – biological models – tumor cell lines – carcinoma – cytotoxicity assays

Práce byla podpořena projektem MŠMT – NPU I - LO1413 a GAČR 17-05838S.

This work was supported by the project MEYS-NPS I-LO1413 and GACR 17-05838S.

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

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

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

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



doc. Mgr. Roman Hrstka, Ph.D.
RECAMO
Masarykův onkologický ústav
Žlutý kopec 7
656 53 Brno
e-mail: hrstka@mou.cz

Obdrženo/Submitted: 21. 9. 2017
Přijato/Accepted: 20. 12. 2017

doi: 10.14735/amko2018117

Úvod

Za ideálních podmínek ošetřující lékař správně diagnostikuje onemocnění a nasadí vhodnou léčbu, která bere v potaz celkový zdravotní stav pacienta a je současně maximálně účinná, avšak pokud možno bez nežádoucích vedlejších účinků (NÚ). V případě nádorových onemocnění je situace mnohem komplikovanější, neboť rakovina je značně heterogenní onemocnění. Jinými slovy i v případě nádorů nacházejících se ve stejné tkáni nemusí být tato léčba vždy rovnocenně účinná. Kromě toho je stále častěji skloňován i fenomén tzv. intratumorální heterogenity. To znamená, že nádorová masa je tvořena buněčnými populacemi (klony), které se mohou významně lišit v celé řadě vlastností vč. citlivosti k podávané léčbě. Avšak i přes tato úskalí jsou usilovně vyvíjeny testovací systémy, které by umožnily účinně predikovat citlivost nádorů k dostupným léčebným modalitám a zefektivnily by tak vlastní terapeutický efekt za současného minimalizování pro organismus mnohdy značně devastujících NÚ protinádorové léčby.

Chemoterapie představuje jednu ze základních modalit při léčbě nádorových onemocnění. Jedná se o systémovou terapii, při níž jsou podávána tzv. cytostatika, jejichž cílem je usmrtit nádorové buňky. Přípravují se nejčastěji synteticky, případně se jedná o deriváty pocházející z rostlin či plísní. Cytostatika obecně zasahují do průběhu buněčného cyklu a brání dalšímu dělení buněk. Proto jsou k nim velmi citlivé právě rychle se dělící nádorové buňky, případně buňky se sníženou schopností opravovat poškozenou DNA. Je třeba si však uvědomit, že chemoterapie působí nespecificky a účinky cytostatik se manifestují i vzhledem k fyziologicky rychle se dělícím buňkám, a to je spojeno právě s řadou NÚ. Tato skutečnost je jedním z hlavních důvodů neutuchajícího výzkumného úsilí o vývoj nových, selektivnějších a současně účinnějších léků. Nemalý úspěch zaznamenaly např. inhibitory tyrozinkináz interferující s významnými onkogenními signálními dráhami [1]. Renesanci v současné době zažívá imunoterapie, která je efektivní u celého spektra nádorových

onemocnění, a není tudíž omezena jen na specifické skupiny nádorů a především její účinnost je dlouhodobá [2,3]. Dalším důležitým aspektem při léčbě nádorových onemocnění je možnost predikovat účinnost jednotlivých potenciálně aplikovatelných léků a zvolit tak pro daného pacienta co možná nejvhodnější, resp. nejúčinnější léčebný režim. První oficiální snahy v tomto směru se datují již ke konci první poloviny 20. století, kdy byly vyvíjeny a zaváděny první *in vitro* testy [4]. Přestože se jedná o značně atraktivní aplikovaný výzkum se zjevným praktickým uplatněním, dosud nebyl vytvořen, schválen ani systematicky zaveden univerzální protokol umožňující personalizovanou predikci chemosenzitivity u nádorových onemocnění.

Cílem této práce je shrnout poznatky o testovacích systémech založených na kultivaci nádorových buněk, příp. nádorových xenotransplantátů umožňujících stanovení citlivosti/rezistence nádorových onemocnění k chemoterapii vč. snahy o jejich zavádění do onkologické praxe od prvních dnes již historických pokusů až po současnost a posoudit jejich uplatnění ve stávající klinické praxi či blízké budoucnosti.

Historie testování chemosenzitivity nádorových onemocnění

Od 50. let minulého století byly vyvíjeny přístupy umožňující testování citlivosti lidských nádorových buněk k cytostatikům v podmínkách *in vitro* s cílem najít jednodušší alternativu k testům aktivity tehdy dostupných účinných látek prováděným především na hlodavcích.

První pokus popsali Black a Speer v roce 1954 [5]. Inkubovali řezy nádorové tkáně s cytostatiky a pozorovali inhibici metabolické aktivity buněk pomocí tetrazoliové soli. V několika následujících desetiletích byla publikována řada studií srovnávajících na podobném principu vyvinuté *in vitro* testy (ať již buňky kultivované v monovrstvě, nebo tkáňové řezy) s hodnocením citlivosti orgánových kultur *in vivo* s obecným cílem optimalizovat *in vitro* testy a přiblížit se stavu *in vivo*. Závěry mnoha z nich však připustily, že korelace výsledků není abso-

lutní, přičemž testy *in vitro* jsou zatíženy řadou negativních faktorů, které jsou evokovány izolací buněk z původního mikroprostředí [6,7] a promítají se i do hodnocení metabolické aktivity buněk kultivovaných *in vitro*. Z metodických, tehdy zaváděných přístupů k testování životaschopnosti nádorových buněk se ujaly především ty, které byly založené na stanovení metabolické aktivity, jako je např. měření enzymatické aktivity sukcinát dehydrogenázy [5], kyselých fosfatáz [8,9] či založené na analýze inkorporace radioaktivně značených prekurzorů 3H-uridinu/3H-thymidinu během syntézy nukleových kyselin [10–12] v krátkodobých buněčných kulturách. Další skupinu představují metody hodnocení viability testovaných buněk na bázi membránové integrity pomocí selektivního barvení mrtvých buněk. Tyto však byly obecně vnímány jako přístupy produkující nepřesné výsledky a v porovnání s ostatními metodami byly hodnoceny spíše jako nevyhovující [13,14].

V roce 1977 Hamburger a Salmon [15] kultivovali nádorové buňky na měkkém agarovém médiu a ke stanovení jejich chemosenzitivity použili test nazvaný HTCA (Human Tumor Colony Assay), který je založen na selektivním růstu nádorových buněk na médiu umožňujícím vznik kolonií. Přibližně po 10–21 dnech kultivace jsou kultury ovlivněné cytostatiky a kontrolní kultura vzájemně porovnány vzhledem k počtu vytvořených kolonií, z čehož se následně vyvozuje účinek testované látky.

Kangas et al [16] a Sevin et al [17,18] navíc využili k testování chemorezistence *in vitro* měření hladiny adenosin trifosfátu (adenosine triphosphate – ATP) jako základního zdroje energie živých buněk, a to pomocí bioluminiscence. Izolované buňky nádoru/shluky buněk byly kultivovány na agarovém médiu a po 6–7 dnech byl ATP z buněk extrahován, přidán komplex luciferin-luciferáza a hladina bioluminiscence byla měřena luminometrem.

Nejrozšířenější metodou stanovení citlivosti nádorových buněk *in vitro* se však stal tetrazoliový test (MTT test) [5,19,20] vycházející z původního konceptu a postupně zdokonalovaný díky vývoji kulturačních médií a laboratorního vybavení.

Izolované buňky nádoru jsou kultivovány v kultivačních deskách s médiem obsahujícím cytostatikum o různých koncentracích a přežívání buněk v tomto prostředí je hodnoceno na základě zachování jejich metabolické aktivity. Ta je hodnocena mírou schopnosti živých buněk redukovat žlutou rozpustnou tetrazoliovou sůl, MTT (3-[4,5-dimethylazol-2-yl]-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromid), pomocí mitochondriálních oxidoreduktáz na nerozpustný modrý formazan [21], který je následně rozpuštěn organickým rozpouštědlem [22,23]. Absorbance barevného produktu je následně měřena fotometricky a hodnoty získané u buněk kultivovaných s testovaným cytostatikem jsou srovnány s hodnotami identické kontrolní kultury bez ovlivnění. Následně jsou sestrojeny křivky přežití a hodnocena inhibiční koncentrace (IC) nebo též efektivní koncentrace (EC) cytostatika. Tato metoda byla taktéž zavedena v Masarykově onkologickém ústavu v Brně s cílem konsekutivně testovat chemorezistenci u vzorků odebraných v rámci léčby u většiny onkologických diagnóz [24,25]. Výsledky však nebyly uspokojivé a i přes další optimalizace [26] bylo rutinní testování v roce 2009 ukončeno.

Všechny dosud jmenované přístupy představují maximálně zjednodušené metody testování chemorezistence *in vitro* v 2D uspořádání, a to v podstatě až na úrovni jednotlivých separovaných buněk. Na druhou stranu je však třeba si uvědomit, že ve své jednoduchosti systém pomíjí vlastnosti nádorové tkáně (komplexnost a heterogenitu) a 2D uspořádání se značně vzdaluje podmínkám *in vivo*, proto může docházet k nemalému zkreslení dat. Souběžně se tedy objevují první práce pokoušející se kultivovat nádorové buňky v 3D uspořádání a toto využít i k testování chemosenzitivity.

3D *in vitro* modely

Již na počátku 20. století popsal Carrel [27] úspěšné experimenty s tkáňovými fragmenty dlouhodobě kultivovanými v podmínkách *in vitro*. V 50. letech pak Leighton provedl řadu *in vitro* studií, při nichž nádorové buňky nebo jejich shluky byly kultivovány na pórovité ma-

trix (sponge-matrix) s cílem lépe simulovat 3D prostředí *in vivo* [28,29].

Rotman et al v roce 1988 [30] získali jemnou homogenizací nádoru shluky buněk (označené jako „micro-organs“), které vystavil fluorescein-acetátu s cílem selektovat „živé“ shluky pomocí fluorescence, tzv. fluorescent cytoprinting. Ty následně imobilizoval na matrix z celulózových vláken impregnovaných kolagenem a inkuboval 5–10 dní na ocelové destičce v Petriho misce s kultivačním médiem spolu s přidavkem testovaného cytostatika. Následně byla vyvolána další fluorescence a účinek cytostatika byl hodnocen porovnáním hladin fluorescence před a po vystavení shluků cytostatiku. Vescio [31] vyvinul systém histokultury *in vitro*, tzv. HDRA (Histoculture Drug-response Assay), v níž byly kousky (1–2 mm) nádoru kultivovány na gelu (native-state collagen-sponge gel) odvozeném od extracelulární matrix prasečí kůže podporující 3D růst nádoru, který byl ponořen do kultivačního média s cytostatiky v kultivační misce.

V současné době existuje řada modelových systémů, které se mohou uplatnit nejen v rámci výzkumu zaměřeného na biologii nádorové buňky, ale i prakticky např. při screeningu nových léčivých přípravků. Na druhou stranu však úspěšnost potenciálních protinádorových léků, které se ukazovaly jako velmi slibné v rámci testování v *in vitro* 2D kultivačních systémech, bývá v klinické praxi jen okolo 5–10 % [32–34]. Využití zvířecích modelů, které obvykle představuje navazující fázi v rámci preklinického testování, je naopak finančně i časově značně náročné a navíc ani tyto modelové systémy plně neodpovídají lidské fyziologii [35].

Tato skutečnost tedy nutí k vývoji modelového systému, který by umožnil monitorovat buněčnou proliferaci a životaschopnost (viabilitu) nádorových buněk a současně co možná nejdříve napodoboval situaci v lidském těle. V optimálním případě by pak měl současně umožňovat i monitorování migrace a invazivity nádorových buněk do přilehlého okolí, neboť se jedná o významné parametry spojené s tvorbou metastáz, které představují jednu z hlavních příčin

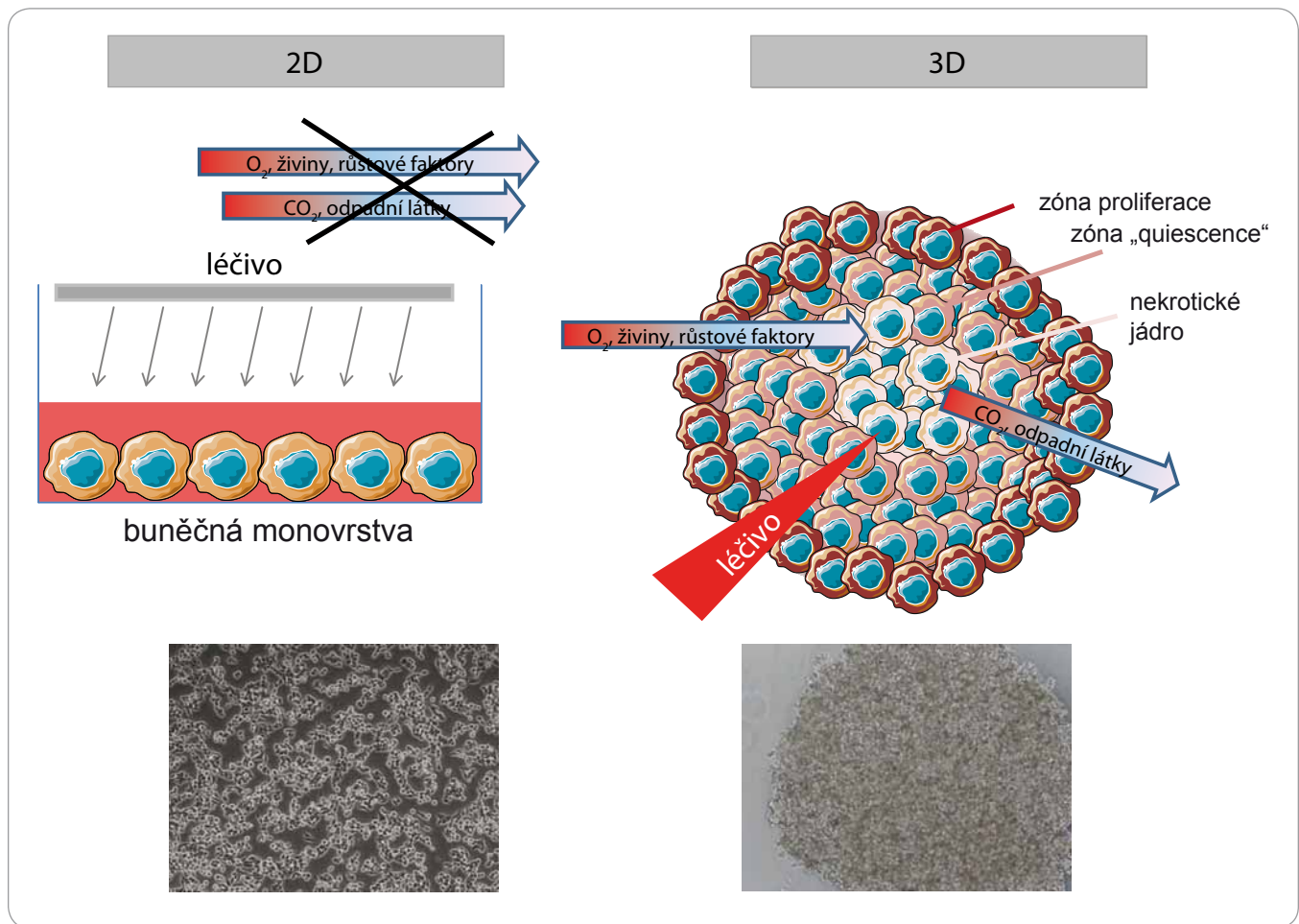
selhání protinádorové terapie [36]. Dalším v dnešní době stále více skloňovaným požadavkem na vhodný buněčný model je možnost analýzy angiogeneze a schopnosti interagovat, resp. uniknout imunitnímu systému organismu, ve kterém se nádor vytvořil [3,35].

Třídídimenzionální (3D) kultivační modely řadu výše zmíněných vlastností splňují a představují tak atraktivní nástavbu testování cytotoxicity i efektivnosti a bezpečnosti nových léčiv v 2D *in vitro* podmínkách, a v řadě aspektů dokonce překonávají experimenty na zvířecích modelech [37]. Zavedení 3D *in vitro* modelů tak jednoznačně vedlo k eliminaci málo účinných protinádorových léků a redukci počtu experimentů na zvířecích modelech [38–40].

3D buněčné kultury jsou pokusem o simulaci prostředí tkání, ve kterých jsou buňky mezi sebou spojeny, interagují spolu a reagují na podněty z okolí [41]. Existuje celá řada variací 3D modelů. Dnes již klasickým a nejjednodušším 3D modelem jsou tzv. multicelulární sféroidy (MCS), ve kterých se adherentní nádorové buňky shlukují do útvarů připomínajících koule. Během přípravy sféroidů je možné využít syntetické buněčné lešení nebo přirozenou schopnost buněk produkovat extracelulární matrix (ECM). Pro vytvoření MCS jsou kritické 3 etapy:

1. Vazba dlouhých řetězců ECM tvořících vlákna na integriny nacházející se na buněčném povrchu, což umožní přiblížení buněk rozptýlených v suspenzi a zajistí tvorbu agregátu. Buněčné shlukování pak aktivuje expresi kadherinů.
2. Kadheriny jsou následně akumulovány na buněčném povrchu.
3. Dochází k vytvoření mezibuněčných homofilických vazeb kadherin-kadherin, čímž vzniká MCS [42].

Důležitým krokem k vytvoření MCS je taktéž nutnost kultivovat buňky v prostředí, kde je adhezivita mezi buňkami silnější než přilnavost buněk k substrátu. Z toho důvodu se využívají kultivační desky se speciálním nepřilnavým povrchem, případně se používá metoda visící kapky, agitační míchaní nebo elektricky/magneticky indukovaná tvorba



Obr. 1. Schematické zobrazení rozdílů 2D a 3D kultivačních metod.

Nádorové buňky kultivované ve 2D podmínkách jsou přichyceny k plastovému podkladu, vykazují stejnou míru proliferace, jsou rovnoměrně vystaveny působení látek z vnějšího prostředí a interagují se sousedními buňkami pouze malou částí svého povrchu. Naopak buňky kultivované ve 3D kultivačních podmínkách vytváří několik zón dle schopnosti proliferovat – zónu proliferace, zónu quiescence a nekrotické jádro. Takto uspořádaným nádorovým buňkám je umožněno vytvářet mezibuněčné interakce a interagovat s okolním extracelulárním matrixem (ECM). Kultivace buněčného sféroиду rovněž simuluje vytvoření gradientu léčiv, růstových faktorů, plynů a dalších produktů metabolismu. Různá míra hypoxie a hladovění se pak promítá ve zvýšené rezistenci k podávaným léčivům.

MCS [43]. Na našem pracovišti se nejčastěji používá metoda visící kapky – buňky se nanesou v kapce na víčko kultivační nádoby a po jejím otočení vznikne kapka. Buňky zde nemají možnost přisednout k povrchu a vytvářejí MCS ve spodní části kapky na rozhraní kultivačního média a vzduchu.

Další možností přípravy 3D kultur je využití trojrozměrných polymerních lešení. Nejčastěji se používají přírodní hydrogely, jako je Matrigel (gelová směs proteinů extracelulární matrix) nebo kolagen, které současně simulují přirozené vytváření spojů mezi nádorovými buňkami a ECM, která rovněž významně ovlivňuje buněčnou signalizaci [44,45].

Společná kultivace nádorového 3D sféroиду s dalšími buňkami jiného typu (např. endoteliální buňky, fibroblasty apod.) umožňuje kopírovat vliv nádorového mikroprostředí na progresi nádorového onemocnění [46]. Oproti nádorovým buňkám majícím při kultivaci v monovrstvě na Petriho misce plochý „rozprostřený“ tvar, vykazují buňky tvořící sféroid morfologii, která mnohem věrněji kopíruje morfologii buněk uvnitř nádoru, ze kterého byly odvozeny [47]. Dále buňky kultivované v monovrstvě proliferují v podstatě rovnoměrně, zatímco vytvořením buněčného sféroidu dochází ke vzniku rozdílných zón tvořených buňkami v různých fázích buněč-

ného cyklu, s čímž je spojena i rozdílná rychlost proliferace [48,49]. Rovněž dochází k vytvoření gradientu živin, růstových faktorů, léčiv, plynů a dalších metabolických produktů a ke změnám v pH, které charakterizují nádor *in vivo*. Naopak buňky v 2D modelech jsou rovnoměrně vystaveny působení látek, živin, růstových faktorů a léčiv nacházejících se v kultivačním médiu (obr. 1). Napodobování této vlastnosti nádoru *in vitro* může mít ve svém důsledku nejen stimulační nebo inhibiční efekt na progresi nádoru, ale současně se může podílet i na účinnosti terapie a odpovědi na ni [37,50]. Navíc bylo prokázáno, že v nádorové tkáni dochází vlivem hypoxie, hlado-

vění (z důvodu zhoršeného zásobování živinami) a sníženého pH k indukci exprese proteinů spojených s rezistencí k chemoterapii, např. MRP1 (multidrug resistance protein) nebo LRP (lung resistance-related protein) [51,52].

Rozdíl v intenzitě proliferace spolu s vytvořením gradientu v distribuci léčiva jsou hlavními důvody, proč jsou nádorové buňky kultivované v 3D modelu zpravidla více rezistentní k chemoterapii v porovnání s týmiž buňkami kultivovanými v monovrstvě [53–55]. Příkladem může být:

1. Dvojnásobné snížení citlivosti buněk melanomu kultivovaných v 3D podmínkách vzhledem k působení NPrCAP (4N-acetyl-4S-cysteaminylfenol) [56].
2. Snížení cytotoxického účinku paklitaxelu o 20–40 % u epiteliálních ovariálních buněk kultivovaných ve 3D modelu v porovnání s buňkami kultivovanými ve 2D podmínkách [54].
3. Významně snížená účinnost všech čtyř běžně používaných modalit při léčbě kolorektálního karcinomu (colorectal cancer – CRC) – melfalan, 5-fluorouracil, oxaliplatin a irinotekan – u buněčné linie HCT-116 odvozené od CRC, kultivované ve 3D sféroidech v porovnání s buňkami ve 2D kultivačním modelu, u něhož byly tytéž látky výrazně efektivnější [55].

Klíčovou úlohu při odpovědi na terapii hrají lokalizace a exprese buněčných povrchových receptorů spolu s buněčnými signálními drahami, jejichž aktivita se značně liší při porovnání 2D a 3D modelů, byť jsou tvořeny původně stejnými buňkami. To úzce souvisí se skutečností, že buňky kultivované ve 2D modelech mohou být citlivější k podávané terapii, než je tomu ve skutečnosti [57]. Současně pak může nastat i opačná situace, kdy jsou k terapii senzitivní pouze buňky kultivované v 3D modelu s tím, že *in vitro* 2D model poskytuje falešně negativní výsledky.

Přestože testování chemosenzitivity, resp. chemorezistence založené na trojrozměrných kultivacích teprve vstupuje do povědomí odborné veřejnosti a většina experimentů byla provedena prozatím jen s ustavenými nádorovými buněčnými liniemi, v poslední době

se stále hlasitěji o slovo hlásí příprava a praktické využití primárních buněčných linií (tzv. primokultur) získaných přímo od pacientů. Jednoznačně se jedná o krok směrem k rozvoji personalizované medicíny. Kondo et al [58] ve své studii úspěšně izolovali buňky z CRC od řady pacientů a připravili z nich 3D kultury *in vitro*, které věrně kopírovaly vlastnosti nádoru *in vivo*. Následně na 3D sféroidech analyzovali chemosenzitivitu a aktivaci signálních drah. Podařilo se jim prokázat, že odpověď na terapii 5-fluorouracilem (5-FU) je individuální. U tří pacientů byl růst sféroidů inhibován už při koncentraci 0,1 µg/ml, zatímco ve dvou případech ani koncentrace 10 µg/ml nebyla dostatečně účinná, aby docházelo k inhibici růstu sféroidů.

Vzhledem k obrovskému přínosu 3D kultur je v současné době hlavní snahou ve výzkumu nových protinádorových léků plnohodnotné začlenění trojrozměrně kultivovaných nádorových orgánoidů do preklinického „highthroughput“ screeningu léčiv. S tím úzce souvisí vývoj obecně platných postupů pro přípravu těchto 3D kultur, jejich management a testování citlivosti k léčbě, které musí být aplikovatelné napříč všemi světovými laboratořemi. Jednou z prvních vlastností by mohla být příprava uniformních reprodukovatelných sféroidů v 384 jamkovém formátu pomocí metody visící kapky. Tato metoda je plně kompatibilní s automatizovanými robotickými systémy běžně využívanými při velkokapacitním screeningu léčiv a byla nedávno úspěšně využita při testování citlivosti různých 3D kultur k 5-fluorouracilu [59].

Významným aspektem souvisejícím se zdomácněním 3D kultur v aplikovaném výzkumu zaměřeném na testování účinnosti nových nebo již dříve používaných léčiv představuje po jejich zavedení a optimalizaci také automatizace, jež by umožnila rutinní využití 3D kultur v běžné praxi při výzkumu jednotlivých nádorových onemocnění. Jako ilustrativní příklad mohou sloužit nedávno vytvořené platformy pro studium biologie nádorových kmenových buněk získaných z ascitu od pacientek s karcinomem vaječnicku [60].

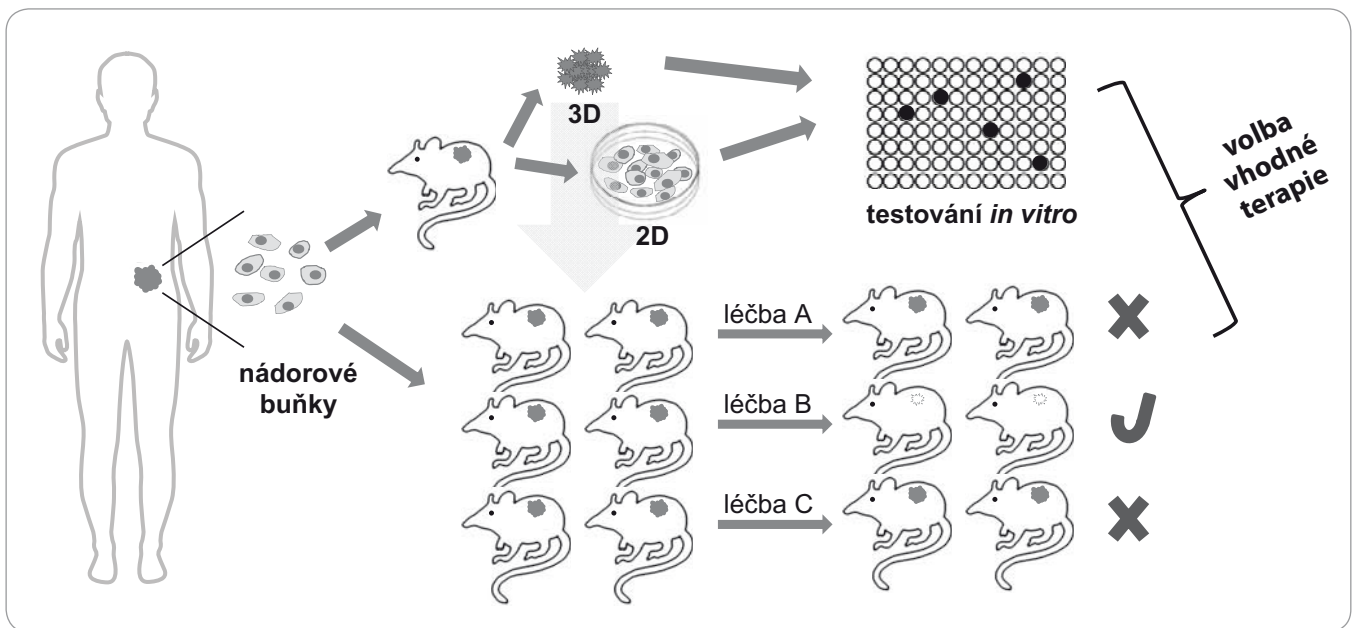
Nemalý význam je též kladen na vývoj metodik vedoucích k vytváření sféroidů,

kteří by byly reprodukovatelné, snadno proveditelné a přitom cenově dostupné. Jednou z možností mohou být modifikace dříve používaných metod, např. analýza schopnosti nádorových buněk tvořit kolonie po expozici léčivu, která byla již úspěšně převedena do 3D formátu a nyní je ve stavu vývoje plně automatizovaného systému [61]. Nedávno byla publikována studie, v rámci které se podařilo připravit platformu pro jednoduché a současně kvantitativní testování chemosenzitivity buněk v 3D formátu [62]. Byla však pozorována různá míra úspěšnosti tvorby sféroidů pohybující se v rozmezí 50–99 % [63].

Hlavním přínosem testů chemosenzitivity je predikce citlivosti k plánované léčbě a s tím spojená selekce pacientů, kteří budou z léčby profitovat. Pěkným příkladem je tzv. CD-DST (Collagen gel Droplet-embedded culture Drug Sensitivity Test), který byl vyvinut již před 20 lety [64], avšak jeho přednosti v testování chemosenzitivity různých nádorů se využívají i v současnosti. CD-DST byl využit k predikci rezistence pacientů s hepatocelulárním karcinomem k standardně podávané léčbě a v související klinické studii umožnil poměrně spolehlivě stanovit, který z pacientů bude z adjuvantní chemoterapie skutečně profitovat [65,66]. Jen v roce 2017 bylo publikováno hned několik prací, které se zabývaly aplikací CD-DST u dalších malignit, jako je karcinom dutiny ústní, plic nebo nádory trávicího traktu [65,67,68].

Predikce chemosenzitivity s využitím *in vivo* modelů

Historicky tento přístup vychází z tzv. xenogenních (xenograftových) modelů, kdy je nádorová linie (většinou lidská) transplantována imunodeficitnímu xenogennímu příjemci. Nejčastěji se jedná o athymické Nu/Nu myši (chybí brzlík, neprodukují T buňky) nebo SCID myši (severe combined immunodeficiency disease), které nesou autozomalně recesivní mutaci SCID způsobující těžkou kombinovanou imunodeficienci (chybí protilátková i T buněčná imunita) a hodnocena je obvykle dynamika nádorového růstu a parametry přežití. V současnosti se při testování chemosenzitivity *in vivo* uplatňují zejména myší modely,



Obr. 2. Schematické zobrazení přípravy xenogenních myších modelů.

Kousky resekované nádorové tkáně mohou být přímo vneseny do imunodeficitních myší, častěji se však provádí homogenizace a získaná suspenze nádorových buněk je následně aplikována do imunodeficitních myší. Takto připravené xenogenní myší modely pak mohou sloužit buď k získání většího množství téměř identické nádorové masy vhodné pro další testování, nebo v případě dostatečného množství nádorového materiálu jsou přímo vystaveny působení příslušných chemoterapeutik s cílem monitorovat citlivost nádorových buněk k testovaným léčebným modalitám.

kteří vykazují ještě vyšší stupeň imunodeficiency v porovnání s klasickými xenogenními modely. Typickým příkladem je kmen NOD (non-obese diabetic)/SCID, u něhož nedochází k rozvoji diabetu, avšak myši vykazují sníženou aktivitu NK (natural killer) buněk a vrozené imunity vůbec, což až 10násobně zvyšuje toleranci vůči lidským hematopoetickým buňkám. Jiným příkladem je inbrední kmen nesoucí homozygotní mutaci IL2rg^{-/-} (interleukin-2 receptor), která potlačuje tvorbu T a B lymfocytů a brání vzniku NK buněk. Křížením těchto dvou kmenů vznikl hybridní kmen NOD/SCID IL2rg^{-/-}, který svými vlastnostmi umožňuje a zároveň významně zvyšuje úspěšnost uchycení a růstu nádorových buněk, a dokonce i dalších lidských tkání vč. kmenových a progenitorových buněk izolovaných z pupečnickové krve nebo kostní dřeně.

Imunodeficitní myši nesoucí lidské xenogenní nádory představují velice účinný nástroj v rámci preklinických studií zaměřených na screening potenciálních léčiv a identifikaci potenciálních terapeutických cílů. Současně mohou být

i přímo využity v rámci konceptu tzv. personalizované terapie. Zjednodušeně jsou nádorové buňky/tkáně jednotlivých pacientů vneseny do vhodných imunodeficitních myší, kterým jsou následně podávány protinádorové léčebné modalitativy s cílem vybrat co nejvhodnější lék, případně kombinaci vybraných léků.

Metodicky jsou xenogenní myší modely připravovány vnesením malého kousku nádoru nebo buněčné suspenze získané z krve pacienta či excízi nádorové tkáně. Při tomto procesu je bezpodmínečně nutná sterilita vnášené tkáně [69]. Nádorové buňky nebo kousky tkáně bývají často před vlastní injikací do myši smíchány s Matrigelem, který zefektivní růst xenogenního nádoru a přispívá k udržení původního fenotypu nádoru. Ze stejného důvodu bývají nádorové buňky často koinjikovány s dalšími buňkami, např. endoteliálními, stromálními, fibroblasty apod. V případě malého množství vstupního materiálu je nádorový materiál implantován subkutánně do omezeného počtu myší. Jakmile jsou xenogenní nádory dostatečně veliké, jsou odebrány a je z nich připra-

vena buněčné suspenze, jež se následně aplikuje do další generace myší.

Další nemalou výhodou xenogenních myších modelů je možnost implantace nádorových buněk či tkání dvěma způsoby – ortotopicky nebo heterotopicky. Hlavními výhodami heterotopické implantace je jednoduchost a snadné monitorování růstu nádoru, přičemž v případě solidních tumorů se většinou jedná o subkutánní aplikaci, zatímco v případě krevních malignit o aplikaci intravenózní. Technicky mnohem náročnější je ortotopická implantace, při které se nádorové buňky vnášejí do stejného typu tkáně, resp. orgánu, ze kterého původně pocházejí. Tím se pro lidské nádorové buňky vytváří přívětivější okolní mikroprostředí, které mnohem věrněji simuluje vnější nádorové milieu v lidském těle. U ortotopických implantací je obvykle pozorována zvýšená incidence metastáz, čehož lze využít k predikci účinnosti léčby metastatického onemocnění, příp. k identifikaci buněčných populací, resp. molekulárních biomarkerů, které jsou s procesem vzniku metastáz asociovány [70]. Xenogenní myší model lze případně vytvořit i z cir-

kulujících nádorových buněk pocházejících z krve pacientů s nádorovým onemocněním. Předpokládá se, že cirkulující nádorové buňky se oddělily z primárních nádorových ložisek a volně cirkulují ve vaskulárním systému, dokud se neuhnízdí na příhodném místě a nezáčnou nekontrolovaně proliferovat, aby daly vzniknout sekundárnímu ložisku – metastázi. Takto připravené modelové xenogenní systémy pak mohou sloužit nejen k testování chemosenzitivity, ale obecně i ke studiu tumorigenicity a k molekulární charakterizaci cirkulujících nádorových buněk. Zjednodušený postup přípravy xenogenních myších nádorových modelů je schematicky znázorněn na obr. 2.

Závěr

Vzrůstající množství nových, poměrně bezpečných protinádorových léků cílených proti specifickým signálním drahám a procesům i na subcelulární úrovni dává naději, že v drtivé většině případů bude k dispozici vhodný a dostatečně účinný lék pro daného onkologického pacienta. V současné době kurativní onkologická terapie obecně vychází především z tradičních klinicko-patologických parametrů, jako je histologický typ a rozsah (staging) nádorového onemocnění. Toto pak může být dle typu nádoru doplněno dalšími testy zaměřenými na vybrané molekulárně biologické determinanty a genetickým vyšetřením umožňujícím detekci specifických mutací. Značně atraktivní možnost pak nabízí funkční testování, při kterém jsou buňky pocházející z biopsie daného nádoru testovány *ex vivo* na citlivost k potenciálním léčebným modalitám, přičemž ošetřující lékař pak může na základě výsledku rozhodnout o vhodném a co možná nejúčinnějším léčebném režimu.

Na druhou stranu je však třeba si uvědomit komplexitu nádorových onemocnění, kdy se i v rámci jednoho nádoru můžeme setkat s výraznou heterogenitou a léčba aplikovaná vůči dominantnímu buněčnému klonu nemusí být vždy dostatečně účinná vzhledem k dalším minoritním buněčným populacím, které se nacházejí v rámci jednoho nádoru. Je třeba také vzít v potaz tzv. kme-

nové nádorové buňky, které se obecně mnohem méně dělí, a jsou tedy i mnohem méně citlivé k chemoterapii a následně mohou být příčinou recidivy onemocnění.

V podstatě nejhorší prognóza je v onkologii spojena s přítomností vzdálených metastáz, které jsou také obvykle hlavní příčinou úmrtí na onkologická onemocnění. Při tvorbě metastáz dochází k transformaci epiteliálních buněk primárního nádoru na mezenchymální buňky, které vykazují mnohem agresivnější fenotyp co do invazivity a schopnosti migrovat. Takto pozměněné buňky se mohou uvolnit do vaskulárního systému a volně cirkulovat v těle, současně se však tyto buňky nacházejí ve stavu dormance, neboť mají transientně pozastavený buněčný cyklus, což způsobuje jejich rezistenci k systémově podávaným cytostatikům. Po ukončení léčby pak může dojít k reaktivaci těchto buněk a vytvoření sekundárního nádorového ložiska.

V kontextu výše uvedeného tedy ani funkční testování prováděné komplexně s rutinním klinicko-patologickým vyšetřením a dalšími sofistikovanými molekulárně biologickými metodami nemusí být dostatečné a jasně naznačuje potřebu nových dostupných individualizovaných přístupů umožňujících komplexní vyšetření na úrovni jednotlivých pacientů.

Literatura

1. Workman P, Brunton VG, Robins DJ. Tyrosine kinase inhibitors. *Semin Cancer Biol* 1992; 3(6): 369–381.
2. Scott AM, Wolchok JD, Old LJ. Antibody therapy of cancer. *Nat Rev Cancer* 2012; 12(4): 278–287. doi: 10.1038/nrc3236.
3. Chen L, Han X. Anti-PD-1/PD-L1 therapy of human cancer: past, present, and future. *J Clin Invest* 2015; 125(9): 3384–3391. doi: 10.1172/JCI80011.
4. Su YZ. Cancer chemosensitivity testing: Review. *J Cancer Ther* 2014; 5(7): 672–679. doi: 10.4236/jct.2014.57076.
5. Black MM, Speer FD. Further observations on the effects of cancer chemotherapeutic agents on the *in vitro* dehydrogenase activity of cancer tissue. *J Natl Cancer Inst* 1954; 14(5): 1147–1158.
6. Kondo T, Imamura T, Ichihashi H. *In vitro* test for sensitivity of tumor to carcinostatic agents. *Gan* 1966; 57(2): 113–121.
7. Ichihashi H, Sasaki S, Kondo T. Colorimetric estimation of succinic dehydrogenase activity by neotetrazolium chloride as a tumor sensitivity test to chemotherapeutic agents. *Nagoya J Med Sci* 1971; 33(3): 247–256.
8. Imaizumi M. Study on the sensitivity test of carcinostatic agents by acid phosphatase activity. *Nagoya J Med Sci* 1972; 34(4): 315–333.

9. Kondo T, Ichihashi H, Imaizumi M. Predication of the effect of carcinostatic agents on tumor-bearing host by the sensitivity test using acid phosphatase activity *in vitro*. *Gan* 1976; 67(5): 633–639.
10. Volm M, Kaufmann M, Mattern J et al. Possibilities and limits of pre-therapeutic neoplasm sensitivity cytostatics tests under short-term conditions. *Schweiz Med Wochenschr* 1975; 105(3): 74–82.
11. Volm M, Kaufmann M, Mattern J et al. Sensitivity tests of tumors to cytostatic agents. I. Comparative investigations on transplanted tumors *in vivo* and *in vitro*. *Z Krebsforsch Klin Onkol Cancer Res Clin Oncol* 1975; 83(2): 85–96.
12. Wiskemann A, Schussmann M, Rothmann D et al. *In vitro* and *in vivo* sensitivity of animal and human melanomas to various chemotherapeutic agents. *Arch Dermatol Res* 1978; 262(3): 285–299.
13. Roper PR, Drewinko B. Comparison of *in vitro* methods to determine drug-induced cell lethality. *Cancer Res* 1976; 36(7 PT 1): 2182–2188.
14. Weisenthal LM, Dill PL, Kurnick NB et al. Comparison of dye exclusion assays with a clonogenic assay in the determination of drug-induced cytotoxicity. *Cancer Res* 1983; 43(1): 258–264.
15. Hamburger AW, Salmon SE. Primary bioassay of human tumor stem cells. *Science* 1977; 197(4302): 461–463.
16. Kangas L, Grönroos M, Nieminen AL. Bioluminescence of cellular ATP: a new method for evaluating cytotoxic agents *in vitro*. *Med Biol* 1984; 62(6): 338–343.
17. Sevin BU, Peng ZL, Perras JP et al. Application of an ATP-bioluminescence assay in human tumor chemosensitivity testing. *Gynecol Oncol* 1988; 31(1): 191–204.
18. Sevin BU, Perras JP, Averette HE et al. Chemosensitivity testing in ovarian cancer. *Cancer* 1993; 71 (Suppl 4): 1613–1620.
19. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* 1983; 65(1–2): 55–63.
20. Carmichael J, De Graff W, Gazdar A et al. Evaluation of a tetrazolium-based semi-automated colorimetric assay: Assessment of chemosensitivity testing. *Cancer Research* 1987; 47(4): 936–942.
21. Slater TF. Studies on a succinate-neotetrazolium reductase system of rat liver. II. points of coupling with the respiratory chain. *Biochim Biophys Acta* 1963; 77: 365–382.
22. Denizot F, Lang R. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival. Modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. *J Immunol Methods* 1986; 89(2): 271–277.
23. Berridge MV, Tan AS, McCoy KD et al. The biochemical and cellular basis of cell proliferation assays that use tetrazolium salts. *Biochemica* 1996; 4(1): 15–19.
24. Kiss I, Žaloudík J, Vyzula R et al. Principal clinical indications for *in vitro* testing of chemoresistance of tumors. *Klin Onkol* 2000; 13 (Speciál 2): 62–64.
25. Žaloudík J, Hajdich M, Vyzula R et al. Results of chemoresistance MTT *in vitro* testing in lung and colorectal carcinomas nad soft-tissue sarcomas. *Klin Onkol* 2000; 13 (Speciál 2): 37–38.
26. Michalova E, Poprach A, Nemeckova I et al. Chemosensitivity prediction in tumor cells *ex vivo*—difficulties and limitations of the method. *Klin Onkol* 2008; 21(3): 93–97.
27. Carrel A. On the permanent life of tissues outside of the organism. *J Exp Med* 1912; 15(5): 516–528.
28. Leighton J. A sponge matrix method for tissue culture; formation of organized aggregates of cells *in vitro*. *J Natl Cancer Inst* 1951; 12(3): 545–561.
29. Leighton J, Kline I, Belkin M et al. The similarity in histologic appearance of some human cancer and normal cell strains in sponge-matrix tissue culture. *Cancer Res* 1957; 17(5): 359–363.

30. Rotman B, Teplitz C, Dickinson K et al. Individual human tumors in short-term micro-organ cultures: chemosensitivity testing by fluorescent cytoprinting. *In vitro Cell Dev Biol* 1988; 24(11): 1137–1146.
31. Vescio RA, Connors KM, Kubota T et al. Correlation of histology and drug response of human tumors grown in native-state three-dimensional histoculture and in nude mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991; 88(12): 5163–5166.
32. Ashworth A, Balkwill F, Bast RC et al. Opportunities and challenges in ovarian cancer research, a perspective from the 11th Ovarian cancer action/HHMT Forum, Lake Como, March 2007. *Gynecol Oncol* 2008; 108(3): 652–657. doi: 10.1016/j.ygyno.2007.11.014.
33. van der Worp HB, Howells DW, Sena ES et al. Can animal models of disease reliably inform human studies? *PLoS Med* 2010; 7(3): e1000245. doi: 10.1371/journal.pmed.1000245.
34. Rabacchi SA, Neve RL, Dräger UC. A positional marker for the dorsal embryonic retina is homologous to the high-affinity laminin receptor. *Development* 1990; 109(3): 521–531.
35. Hait WN. Anticancer drug development: the grand challenges. *Nat Rev Drug Discov* 2010; 9(4): 253–254. doi: 10.1038/nrd3144.
36. Chaffer CL, Weinberg RA. A perspective on cancer cell metastasis. *Science* 2011; 331(6024): 1559–1564. doi: 10.1126/science.1203543.
37. Mehta G, Hsiao AY, Ingram M et al. Opportunities and challenges for use of tumor spheroids as models to test drug delivery and efficacy. *J Control Release* 2012; 164(2): 192–204. doi: 10.1016/j.jconrel.2012.04.045.
38. Hirschhaeuser F, Menne H, Dittfeld C et al. Multicellular tumor spheroids: an underestimated tool is catching up again. *J Biotechnol* 2010; 148(1): 3–15. doi: 10.1016/j.jbiotec.2010.01.012.
39. Hutmacher DW. Biomaterials offer cancer research the third dimension. *Nat Mater* 2010; 9(2): 90–93. doi: 10.1038/nmat2619.
40. Hutmacher DW, Loessner D, Rizzi S et al. Can tissue engineering concepts advance tumor biology research? *Trends Biotechnol* 2010; 28(3): 125–133. doi: 10.1016/j.tibtech.2009.12.001.
41. Edmondson R, Broglie JJ, Adcock AF et al. Three-dimensional cell culture systems and their applications in drug discovery and cell-based biosensors. *Assay Drug Dev Technol* 2014; 12(4): 207–218. doi: 10.1089/adt.2014.573.
42. Lin RZ, Chang HY. Recent advances in three-dimensional multicellular spheroid culture for biomedical research. *Biotechnol J* 2008; 3(9–10): 1172–1184. doi: 10.1002/abt.200700228.
43. Cui X, Hartanto Y, Zhang H. Advances in multicellular spheroids formation. *J R Soc Interface* 2017; 14(127). pii: 20160877. doi: 10.1098/rsif.2016.0877.
44. Lu P, Weaver VM, Werb Z. The extracellular matrix: a dynamic niche in cancer progression. *J Cell Biol* 2012; 196(4): 395–406. doi: 10.1083/jcb.201102147.
45. Tibbitt MW, Anseth KS. Dynamic microenvironments: the fourth dimension. *Sci Transl Med* 2012; 4(160): 160ps24. doi: 10.1126/scitranslmed.3004804.
46. Bremnes RM, Dønnem T, Al-Saad S et al. The role of tumor stroma in cancer progression and prognosis: emphasis on carcinoma-associated fibroblasts and non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol* 2011; 6(1): 209–217. doi: 10.1097/JTO.0b013e3181f8a1bd.
47. Gurski LA, Xu X, Labrada LN et al. Hyaluronan (HA) interacting proteins RHAMM and hyaluronidase impact prostate cancer cell behavior and invadopodia formation in 3D HA-based hydrogels. *PLoS One* 2012; 7(11): e50075. doi: 10.1371/journal.pone.0050075.
48. Sutherland RM. Cell and environment interactions in tumor microregions: the multicell spheroid model. *Science* 1988; 240(4849): 177–184.
49. LaRue KE, Khalil M, Freyer JP. Microenvironmental regulation of proliferation in multicellular spheroids is mediated through differential expression of cyclin-dependent kinase inhibitors. *Cancer Res* 2004; 64(5): 1621–1631.
50. Smalley KS, Haass NK, Brafford PA et al. Multiple signaling pathways must be targeted to overcome drug resistance in cell lines derived from melanoma metastases. *Mol Cancer Ther* 2006; 5(5): 1136–1144. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-06-0084.
51. Zhu H, Luo SF, Wang J et al. Effect of environmental factors on chemoresistance of HepG2 cells by regulating hypoxia-inducible factor-1 α . *Chin Med J (Engl)* 2012; 125(6): 1095–1103.
52. Xu X, Sabanayagam CR, Harrington DA et al. A hydrogel-based tumor model for the evaluation of nanoparticle-based cancer therapeutics. *Biomaterials* 2014; 35(10): 3319–3330. doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.12.080.
53. Fong EL, Lamhamedi-Cherradi SE, Burdett E et al. Modeling Ewing sarcoma tumors in vitro with 3D scaffolds. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013; 110(16): 6500–6505. doi: 10.1073/pnas.1221403110.
54. Loessner D, Stok KS, Lutolf MP et al. Bioengineered 3D platform to explore cell-ECM interactions and drug resistance of epithelial ovarian cancer cells. *Biomaterials* 2010; 31(32): 8494–8506. doi: 10.1016/j.biomaterials.2010.07.064.
55. Karlsson H, Fryknäs M, Larsson R et al. Loss of cancer drug activity in colon cancer HCT-116 cells during spheroid formation in a new 3-D spheroid cell culture system. *Exp Cell Res* 2012; 318(13): 1577–1585. doi: 10.1016/j.yexcr.2012.03.026.
56. Yamamoto S, Okochi M, Jimbow K et al. Three-dimensional magnetic cell array for evaluation of anti-proliferative effects of chemo-thermo treatment on cancer spheroids. *Biotechnology and Bioengineering* 2015; 20(3): 488–497. doi: 10.1007/s12257-014-0724-y.
57. dit Faute MA, Laurent L, Ploton D et al. Distinctive alterations of invasiveness, drug resistance and cell-cell organization in 3D-cultures of MCF-7, a human breast cancer cell line, and its multidrug resistant variant. *Clin Exp Metastasis* 2002; 19(2): 161–168.
58. Kondo J, Endo H, Okuyama H et al. Retaining cell-cell contact enables preparation and culture of spheroids composed of pure primary cancer cells from colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108(15): 6235–6240. doi: 10.1073/pnas.1015938108.
59. Tung YC, Hsiao AY, Allen SG et al. High-throughput 3D spheroid culture and drug testing using a 384 hanging drop array. *Analyst* 2011; 136(3): 473–478. doi: 10.1039/c0an00609b.
60. Raghavan S, Mehta P, Ward MR et al. Personalized medicine-based approach to model patterns of chemoresistance and tumor recurrence using ovarian cancer stem cell spheroids. *Clin Cancer Res* 2017; 23(22): 6934–6945. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-17-0133.
61. Lei KF, Kao CH, Tsang NM. High throughput and automatic colony formation assay based on impedance measurement technique. *Anal Bioanal Chem* 2017; 409(12): 3271–3277. doi: 10.1007/s00216-017-0270-5.
62. Lei KF, Liu TK, Tsang NM. Towards a high throughput impedimetric screening of chemosensitivity of cancer cells suspended in hydrogel and cultured in a paper substrate. *Biosens Bioelectron* 2018; 100: 355–360. doi: 10.1016/j.bios.2017.09.029.
63. Jeppesen M, Hagel G, Glenthoj A et al. Short-term spheroid culture of primary colorectal cancer cells as an in vitro model for personalizing cancer medicine. *PLoS One* 2017; 12(9): e0183074. doi: 10.1371/journal.pone.0183074.
64. Kobayashi H, Tanisaka K, Doi O et al. An in vitro chemosensitivity test for solid human tumors using collagen gel droplet embedded cultures. *Int J Oncol* 1997; 11(3): 449–455.
65. Hou J, Hong Z, Feng F et al. A novel chemotherapeutic sensitivity-testing system based on collagen gel droplet embedded 3D-culture methods for hepatocellular carcinoma. *BMC Cancer* 2017; 17(1): 729. doi: 10.1186/s12885-017-3706-6.
66. Tanigawa N, Yamaue H, Ohyama S et al. Exploratory phase II trial in a multicenter setting to evaluate the clinical value of a chemosensitivity test in patients with gastric cancer (JACCRO-GC 04, Kubota memorial trial). *Gastric Cancer* 2016; 19(2): 350–360. doi: 10.1007/s10120-015-0506-z.
67. Kanazawa Y, Yamada T, Fujita I et al. In vitro chemosensitivity test for gastric cancer specimens predicts effectiveness of oxaliplatin and 5-fluorouracil. *Anticancer Res* 2017; 37(11): 6401–6405. doi: 10.21873/anticancer.12093.
68. Inoue M, Maeda H, Takeuchi Y et al. Collagen gel droplet-embedded culture drug sensitivity test for adjuvant chemotherapy after complete resection of non-small-cell lung cancer. *Surg Today* 2017; 48(4): 380–387. doi: 10.1007/s00595-017-1594-7.
69. Pavia-Jiménez A, Tcheuyap VT, Brugarolas J. Establishing a human renal cell carcinoma tumorgraft platform for preclinical drug testing. *Nat Protoc* 2014; 9(8): 1848–1859. doi: 10.1038/nprot.2014.108.
70. Lawson DA, Bhakta NR, Kessenbrock K et al. Single-cell analysis reveals a stem-cell program in human metastatic breast cancer cells. *Nature* 2015; 526(7571): 131–135. doi: 10.1038/nature15260.

Kvalita života pacientů s častými nádory dutiny ústní léčených pooperační brachyterapií s vysokým dávkovým příkonem pro těsné nebo pozitivní okraje

Quality of Life After High-dose Brachytherapy in Patients with Early Oral Carcinoma

Doležalová H.¹, Blechová N.², Petera J.³

¹ Stomatologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

² Radiologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

³ Klinika onkologie a radioterapie LF UK a FN Hradec Králové

Souhrn

Východiska: Prevalence karcinomů hlavy a krku v posledních dekádách stoupá, což představuje vážný sociální i medicínský problém. Retrospektivní hodnocení kvality života po léčbě brachyterapií s vysokým dávkovým příkonem (high-dose rate – HDR) u pacientů s časnými nádory dutiny ústní. **Materiál a metody:** Kvalita života byla hodnocena u 14 pacientů léčených HDR brachyterapií pro časně nádory dutiny ústní (jazyk, spodina dutiny ústní) léčených na klinice Onkologie a radioterapie LF UK a FN Hradec Králové. Pro hodnocení byly použity dotazníky EORTC QLQ-C30 a EORTC QLQ-H&N 35. Hodnocení bylo provedeno 12 měsíců po léčbě. Všichni pacienti podepsali před zařazením do studie informovaný souhlas. Dotazníky pacienti vyplňovali samostatně, bez asistence zdravotnického personálu. **Výsledky:** Celkový zdravotní stav podle EORTC QLQ-C30 byl hodnocen 70 body. Nejzávažnějšími symptomy byly únava, nespavost, ztráta chuti k jídlu, dušnost a finanční problémy. EORTC QLQ-H&N 35 identifikoval jako hlavní problémy přibírání na váze, kašel, bolest, lepkavé sliny a problémy s jídlem ve společnosti. Naopak ztráta na váze, porucha řeči, otvírání úst, polykání a senzorické obtíže hrály nevýznamnou roli. **Závěr:** HDR brachyterapie představuje efektivní metodu léčby časných nádorů dutiny ústní s uspokojivou kvalitou života. Bylo by prospěšné iniciovat prospektivní multicentrické multidisciplinární studie zaměřené na kvalitu života pacientů s nádory hlavy a krku, kteří jsou léčeni různými způsoby léčby, a pak provést jejich porovnání.

Klíčová slova

nádory dutiny ústní – brachyterapie – kvalita života

Článek vznikl za podpory grantu PROGRES Q 40/13.

This article was supported by grant PROGRES Q 40/13.

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

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

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

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



MUDr. Helena Doležalová
Stomatologická klinika
LF UK a FN Hradec Králové
Sokolská 581
500 05 Hradec Králové
e-mail: helena.dolezalova@fnhk.cz

Obdrženo/Submitted: 17. 1. 2018

Přijato/Accepted: 4. 2. 2018

doi: 10.14735/amko2018125

Summary

Background: The prevalence of head and neck tumors has continually increased over the past decades, which is a serious medical and social problem. This study retrospectively assessed the quality of life of patients with early-stage oral cavity tumors after high-dose rate (HDR) brachytherapy. **Material and Methods:** Quality of life was evaluated in 14 patients with early-onset oral cavity tumors who underwent HDR brachytherapy at the Department of Oncology and Radiotherapy, University Hospital Hradec Kralove. The standardized EORTC QLQ-C30 and EORTC QLQ-H&N 35 questionnaires were used. Patients completed these questionnaires at 12 months after treatment. **Results:** The general health status was scored 70 points using the EORTC QLQ-C30 questionnaire. Fatigue, insomnia, loss of appetite, dyspnea, and financial problems were the most severe problems reported. The main problems identified by the EORTC QLQ-H&N 35 questionnaire were weight gain, coughing, pain, sticky saliva, and difficulties eating in public. On the contrary, patients did not significantly suffer weight loss, speech impairments, difficulties in mouth opening or swallowing, or sensory problems. **Conclusion:** HDR brachytherapy is an effective treatment for early oral cancer that leaves patients with an acceptable quality of life. A prospective, multicentric study focused on the quality of life of patients with head and neck tumors is required.

Key words

oral cancer – brachytherapy – quality of life

Východiska

Chirurgická léčba, brachyterapie (BRT) a zevní ozařování (external-beam radiotherapy – EBRT) jsou standardně užívané metody léčby časných karcinomů dutiny ústní (cT1-2cN0M0). Samostatná chirurgická léčba je v případě těsných resekčních okrajů (< 5 mm), v přítomnosti lymfovaskulární či perineurální invaze, u špatně diferencovaných

nádorů a u nádorů s tloušťkou > 5 mm provázena vyšším rizikem recidiv a horším přežitím. V těchto případech je doporučována pooperační radioterapie [1]. EBRT má řadu akutních i pozdních nežádoucích účinků – mukositida, dysfagie, fibróza krku, xerostomie, osteroradionekróza. Výhodou BRT je dopravení vysoké dávky v krátkém čase cíleně do oblasti nádoru a signifikantní redukce objemu ozářených zdravých tkání. BRT může být použita jako samostatná léčebná metoda namísto chirurgické léčby nebo jako pooperační ozáření u pacientů s nízkým rizikem relapsu v krčních uzlinách místo EBRT [2]. Pooperační radioterapie umožňuje redukovat rozsah chirurgického výkonu se zachováním lokální kontroly v případě nepříznivých prognostických faktorů a snížit výskyt postradiačních komplikací oproti EBRT. Kombinace operace a BRT zlepšuje kontrolu nádoru

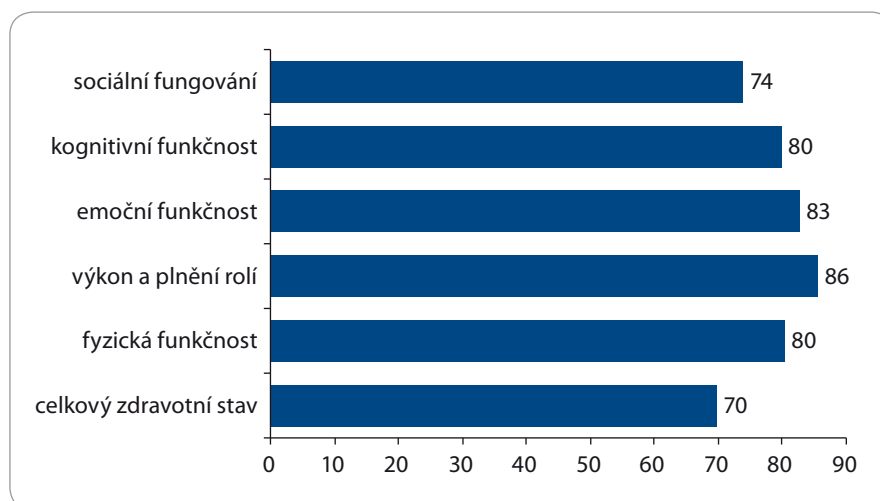
v porovnání s BRT samotnou, zvláště v případě větších nádorů [3]. Většina zkušeností s BRT byla založena na manuálním zavádění radioaktivních zdrojů s nízkým dávkovým příkonem (low-dose rate – LDR) BRT. Od 90. let minulého století je LDR BRT nahrazována především s ohledem na vyšší radiační bezpečnost automatickými přístroji pro BRT s vysokým dávkovým příkonem (high-dose rate – HDR) BRT. Při LDR BRT se používá kontinuální ozařování, při HDR BRT se celková dávka dělí na jednotlivé frakce. Klinické zkušenosti s HDR BRT jsou stále ještě limitované.

V současné onkologii se při hodnocení efektu léčby bere v úvahu nejen kontrola nádorového onemocnění a akutní a pozdní komplikace, ale také její dopad na kvalitu života pacientů.

V roce 2015 jsme publikovali naše výsledky pooperační HDR BRT u pacientů

Tab. 1. Charakteristiky pacientů.

Parametry	N/rozmezí
lokalizace	
jazyk	29
spodina dutiny ústní	1
pohlaví	
muž	15
žena	15
věk	
medián	60 (43–74)
staging	
T1N0M0	22
T2N0M0	7
T3N0M0	1
grading	
1	10
2	17
3	3
hloubka invaze (mm)	
medián	4 (1–20)
resekční okraje	
těsné (< 3 mm)	7
R1	21
R2	2
elektivní krční disekce	12

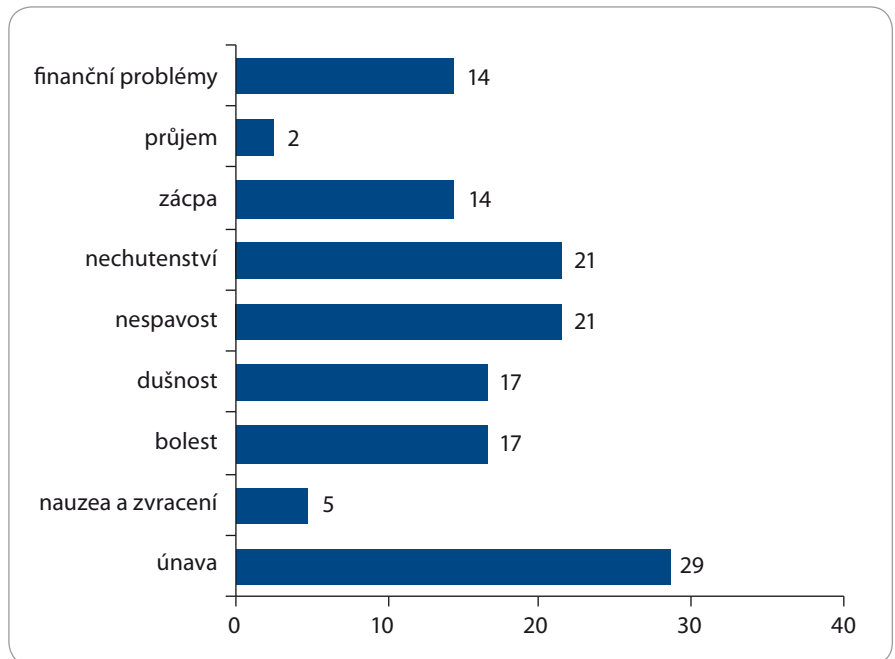


Graf 1. Funkční stupnice a celkový – EORTC QLQ-C30 verze 3.0.

s časnými nádory dutiny ústní léčených v období 2002–2013 [4]. Cílem tohoto sdělení je zhodnocení aktuální kvality života těchto pacientů.

Materiál a metody

V období 2002–2013 podstoupilo samostatnou pooperační HDR BRT bez EBRT na naší klinice celkem 30 pacientů. Charakteristika pacientů je uvedena v tab. 1. HDR BRT byla provedena technikou plastických trubiček. Dávková distribuce byla do roku 2004 kalkulována plánovacím systémem Abacus (Nordion, Germany), poté systémem Brachyvision (Varian, Spojené státy) na základě CT snímků. Všichni pacienti obdrželi dávku 18 x 3 Gy 2x denně. Pacienti byli kontrolováni první 2 měsíce každých 14 dní, poté každé 3 měsíce po dobu 3 let a později v 6měsíčních intervalech. Součástí vyšetření byla anamnéza, klinické vy-



Graf 2. Symptomatické stupnice – EORTC QLQ-C30 verze 3.0.

Tab. 2. Porovnání kvality života EORTC QLQ-C30 u HDR a LDR brachyterapie.

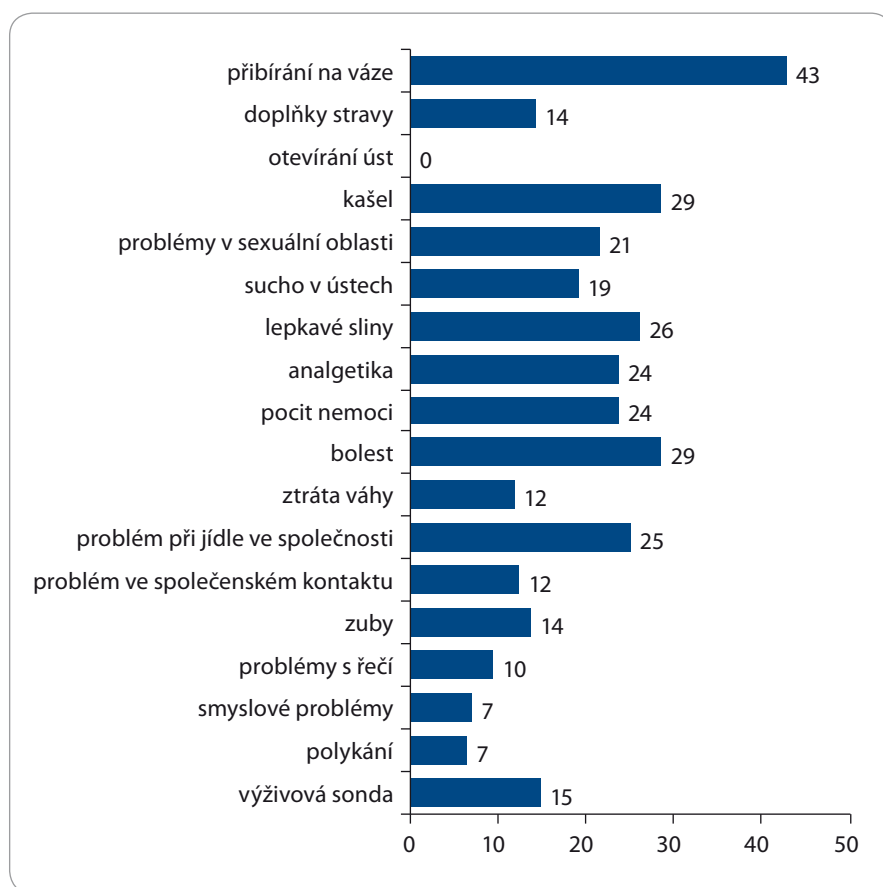
	HDR terapie	LDR terapie
celkový zdravotní stav	70	74
Funkční škály		
sociální fungování	74	90
kognitivní funkčnost	80	86
emoční funkčnost	83	94
výkon a plnění rolí	86	96
fyzická funkčnost	80	93
Symptomatické škály		
únava	29	21
nauzea a zvracení	8	1
bolest	17	11
nechutenství	21	0
průjem	2	8
zácpa	14	8
finanční problémy	14	5
dušnost	17	8

HDR – brachyterapie s vysokým dávkovým příkonem, LDR – brachyterapie s nízkým dávkovým příkonem

Tab. 3. Porovnání kvality života EORTC QLQ-H&N u HDR a LDR brachyterapie.

	HDR terapie	LDR terapie
přibírání na váze	43	47
doplňky stravy	14	16
otevírání úst	0	8
kašel	29	12
problémy v sexuální oblasti	21	28
sucho v ústech	19	25
lepkavé sliny	26	15
analgetika	24	16
bolest	29	5
ztráta váhy	12	6
problémy při jídle ve společnosti	25	5
problémy ve společenském kontaktu	12	7
problémy se zuby	14	19
problémy s řečí	10	10
smyslové problémy	7	4
polykání	7	2
výživová sonda	15	16
pocit nemoci	24	12

HDR – brachyterapie s vysokým dávkovým příkonem, LDR – brachyterapie s nízkým dávkovým příkonem



Graf 3. Výsledky dotazníku EORTC QLQ-H&N 35.

šetření, ultrazvuk krku a 1× ročně RTG plic. V případě lokální nebo uzlinové recidivy byl jako záchranná léčba použit chirurgický výkon doplněný zevním ozáření. Medián sledování byl 64 měsíců (30–169). Pravděpodobnost 5leté lokální kontroly, kontroly v krčních uzlinách, přežití bez známek onemocnění, přežití bez známek onemocnění po záchranné léčbě a celkové přežití byla 85,4; 69,2, 65,4; 75,6 a 73 %.

Hodnocení kvality života bylo provedeno u 14 pacientů z 18, u kterých se nevyskytla žádná recidiva. Pacienti podepsali informovaný souhlas s hodnocením. Zbývající 4 pacient byli sledováni na spádových onkologických nebo stomatologických odděleních a nepodařilo se zajistit vyplnění dotazníků. Data pro měření kvality života byla sbírána pomocí dotazníků EORTC QLQ-C30 verze 3.0 a EORTC QLQ-H&N 35. Minimální odstup hodnocení od léčby byl 30 měsíců.

Data získaná z dotazníků byla zaznamenána a zpracována v programu

Microsoft Office Excel 2011. Odpovědi jsou hodnoceny pomocí stupnic s rozmezím 0–100. Čím je větší hodnota u celkového zdravotního stavu, tím je lepší kvalita života. U funkčních znaků znamená vyšší hodnota lepší úroveň fungování. Naopak u příznaků znamená vyšší hodnota výraznější příznaky.

Výsledky

Výsledky hodnocení dotazníků EORTC QLQ-C30 verze 3.0 jsou prezentovány v grafech 1 a 2. Pruhový graf 1 znázorňuje výsledky hodnocení celkového stavu a funkcí, graf 2 ukazuje výsledky hodnocení symptomů. Celkový stav dosahoval v průměru 70 bodů. Nejlépe byla hodnocena oblast výkonu a plnění rolí, nejhůř oblast sociálního fungování. Nejčastěji se vyskytujícím symptomem byla únava, následovaná nespavostí a nechutenstvím, dušností a bolestí, finančními problémy a zácpou. Nejméně častými problémy byla nauzea se zvracením a průjem.

Výsledky dotazníku EORTC QLQ-H&N 35 jsou obsaženy v grafu 3. Nejvyšší míra obtíží byla zaznamenána u přibírání na váze, kašle, bolesti, lepkavých slin a problémů při jídle ve společnosti. Nejmenší obtíže byly s hubnutím, řečí, smyslovými problémy, polykáním a otvíráním úst.

Diskuze

Cílem onkologické léčby není jen záchrana života pacienta, ale jeho vyléčení se zachováním maximální kvality života. V některých situacích se v onkologické léčbě nabízejí různé metody se srovnatelnou pravděpodobností kontroly nádoru, ale liší se spektrem vedlejších účinků [5]. K vyhodnocení jejich dopadu na kvalitu života pacientů byly vypracovány parametrické dotazníky kvality života, jako je obecný EORTC QLQ-C30 a na nádory ORL oblasti zaměřený dotazník EORTC QLQ-H&N35.

V naší práci jsme se zaměřili na hodnocení kvality života u pacientů léčených HDR BRT pro nádory dutiny ústní. Jedná se o první krok v tomto směru a naše studie má podstatné limity. Je to zejména absence hodnocení kvality života pacientů před léčbou, malý soubor pacientů, nemožnost porovnání kvality života pacientů léčených HDR BRT, chirurgickou léčbou a zevním ozářením. Na druhé straně se jedná o první pokus hodnocení kvality života u pacientů léčených HDR BRT, protože neexistuje podobná studie a publikace hodnotící kvalitu života po chirurgické léčbě a zevní radioterapii se teprve začínají objevovat.

Existuje pouze jediná publikace zabývající se kvalitou života u pacientů léčených HDR BRT pro nádory dutiny ústní a jedná se o HDR BRT [6]. Hodnocení bylo provedeno 12 měsíců po léčbě. Porovnání výsledků QLQ-C30 a QLQ-H&N35 prezentují tab. 2 a 3. Celkový zdravotní stav dle EORTC QLQ-C30 je srovnatelný (70 u HDR BRT vs. 74 u HDR BRT). Pouhé numerické porovnání funkčních a symptomatologických stupnic svědčí pro vyšší kvalitu života pacientů po HDR BRT, což vyznívá ve prospěch teorie o vyšší toxicitě HDR BRT [7], ačkoliv dle publikovaných studií je riziko závažných pozdních komplikací srovnatelné (nekróza měkkých tkání, osteoradionekróza) [8].

Musíme však mít na paměti, že porovnávané malé soubory s rozdílnou dobou hodnocení od léčby a s různými potenciálními komorbiditami a absencí hodnocení kvality života našich pacientů před léčbou neumožňuje posoudit, do jaké míry BRT ovlivnila vstupní kvalitu života. Je nutné zdůraznit nápadně nízké ovlivnění otvírání úst, řeči, polykání a stavu zubů jak HDR, tak LDR BRT.

V porovnání s chirurgickou léčbou dopadají pacienti v našem souboru lépe jak v hodnocení funkčních škál a celkového zdravotního stavu, tak v hodnocení symptomatických škál dle QLQ-C30 a QLQ-H&N35 [9] a totéž platí pro porovnání našeho souboru s pacienty léčenými kombinací zevního ozáření a operace [10]. Nicméně toto pozorování je nutné vnímat s velkou rezervou, protože hodnocené soubory se liší složením pacientů, především zastoupením stadií nádoru, kdy časné tumory představují jen část hodnoceného souboru a pokročilejší stadia vyžadují agresiv-

nější léčbu s vyšším dopadem na kvalitu života pacientů.

Závěr

Hodnocení dotazníků kvality života se stává důležitým nástrojem při hodnocení efektivnosti různých léčebných metod. Naše první předběžné výsledky mohou být podkladem pro hypotézu, že HDR BRT umožňuje efektivní léčbu nádorů dutiny ústní, byť patrně s mírně horší kvalitou života, než poskytuje LDR BRT.

Bylo by žádoucí iniciovat prospektivní multicentrické multidisciplinární studie zaměřené na kvalitu života pacientů s nádory hlavy a krku

Literatura

1. Grabenbauer GG, Rödel C, Brunner T et al. Interstitial brachytherapy with Ir-192 low-dose-rate in the treatment of primary and recurrent cancer of the oral cavity and oropharynx. *Strahlenther Onkol* 2001; 177(7): 338–344.
2. Mazon JJ, Ardiet JM, Haie-Méder C et al. GEC-ESTRO recommendations for brachytherapy for head and neck squamous cell carcinomas. *Radiother Oncol* 2009; 91(2): 150–156. doi: 10.1016/j.radonc.2009.01.005.

3. Lapeyre M, Hoffstetter S, Peifert D et al. Postoperative brachytherapy alone for T1-2 NO squamous cell carcinomas of the oral tongue and floor or mouth with close or positive margins. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2000; 48(1): 37–42.
4. Petera J, Sirák I, Laco J et al. High dose rate brachytherapy in early oral cancer with close of positive margins. *Brachytherapy* 2015; 14(1): 77–83. doi: 10.1016/j.brachy.2014.08.050.
5. Malá E, Vejražková E, Bielmeierová J et al. Dlouhodobé sledování nutričního, klinického stavu a kvality života u nemocných s rakovinou hlavy a krku. *Klin Onkol* 2015; 28(3): 200–214. doi: 10.14735/amko2015200.
6. Yoshimura RI, Shibuya H, Miura M et al. Quality of life in oral cancer patients after low dose rate interstitial brachytherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2009; 73(3): 772–778.
7. Petera J, Matula P, Paluska P et al. High dose rate versus low dose rate brachytherapy in the treatment of tongue carcinoma: a radiobiology study. *Neoplasma* 2009; 56: 163–168. doi: 10.1016/j.jjrobp.2008.05.001.
8. Inoue T, Inoue T, Yoshida K et al. Phase III trial of high- vs. low-dose-rate interstitial radiotherapy for early mobile tongue cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2001; 51(1): 171–175.
9. Schliephake H, Jamil MU. Prospective evaluation of quality of life after oncologic surgery for oral cancer. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2002; 31(4): 427–433. doi: 10.1054/ijom.2001.0194.
10. Klug C, Neuburg J, Glaser C et al. Quality of life 2–10 years after combined treatment for advanced oral and oropharyngeal cancer. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2002; 31(6): 664–669. doi: 10.1054/ijom.2002.0301.

MAPK/ERK signal pathway alterations in patients with Langerhans Cell Histiocytosis

Změny v signální dráze MAPK/ERK u pacientů s histiocytózou Langerhansových buněk

Novosad O.¹, Skrypets T.¹, Pastushenko Y.¹, Titorenko I.¹, Martynchyk A.¹, Skachkova O.², Inomistova M.², Gorbach A.², Khranovska N.², Kryachok I.¹

¹Oncohematology Department, National Cancer Institute, Kiev, Ukraine

²Experimental Oncology Department, National Cancer Institute, Kiev, Ukraine

Summary

Background: Clinical outcomes of Langerhans cell histiocytosis (LCH) are highly variable. It has been suggested that mitogen-activated protein kinase (MAPK)/extracellular signal-regulated kinases (ERK) signaling pathway might be activated in LCH patients. **Materials and Methods:** We investigated *KRAS*, *BRAF* and *NRAS* mutations in patients with LCH by qPCR. **Results:** Eight adult patients with LCH were treated at the National Cancer Institute, Kiev, Ukraine. Five patients received chemo plus radiation therapy and three patients received only chemotherapy, resp. ($p < 0.05$). All patients received LCH-I study protocol, six cycles in average. A *BRAF* c.1799T > A, p. V600E mutation was detected in 25% (2/8) of cases – 1 patient had an early relapse in 6 months, and 1 patient – stable disease. We did not find any *BRAF*, *KRAS* or *NRAS* mutations in three patients with late relapses (in 15, 24 and 46 months). Notably, *KRAS* mutations were not revealed in any LCH samples. The *NRAS* c.182A > G, p. Q61R mutation was found in two cases – one patient had LCH transformed to Hodgkin's lymphoma, one patient had a refractory disease. Time to relapse rate (TTR) in patients with and without *BRAF* V600E gene mutation was 13 vs. 28 months, resp. ($p < 0.05$). TTR was 31.3 vs. 6.41 months in patients with absence and presence of *NRAS* mutation, $p < 0.05$. Multivariate analysis showed the presence of *NRAS* Q61R mutation was associated with poor event-free survival in LCH patients with HR of 6.1 (95% CI 0.2–12.6; $p = 0.008$). **Conclusion:** *BRAF* and *NRAS* mutations in LCH suggest a possibility of the disease being driven by the activation of the MAPK/ERK pathway. These oncogenic mutations provide new opportunities in understanding LCH pathogenesis and may be a potential target of therapy.

Key words

Langerhans cell histiocytosis – mutations – prognostic factors – relapse – survival

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.



Olga Novosad, MD, PhD
Oncohematology Department
National Cancer Institute
Lomonosova str. 33/43
Kiev-03022
Ukraine
e-mail: novosad.o.ua@gmail.com

Submitted/Obdrženo: 29. 6. 2017

Accepted/Přijato: 29. 12. 2017

doi: 10.14735/amko2018130

Souhrn

Úvod: Klinické výstupy histiocytózy Langerhansových buněk (Langerhans cell histiocytosis – LCH) jsou vysoce variabilní. Bylo navrženo, že u pacientů s LCH může být aktivována signální dráha proteinkinázy aktivované mitogenem (MAPK)/extracelulární signální regulační kinázy (ERK). **Materiál a metody:** Vyšetřili jsme mutace *KRAS*, *BRAF* a *NRAS* u pacientů s LCH pomocí metody kvantitativní polymerázové řetězové reakce. **Výsledky:** Osm dospělých pacientů s LCH bylo léčeno v Národním onkologickém institutu v Kyjevě na Ukrajině. Pět pacientů dostalo chemoterapii plus radiační terapii a tři pacienti dostali pouze chemoterapii ($p < 0,05$). Všichni pacienti dostávali studijní protokol LCH-I, v průměru šest cyklů. *BRAF* c.1799T> A, mutace V600E byla detekována u 25 % (2/8) případů – jeden pacient měl časný relaps po 6 měsících a jeden pacient stabilní onemocnění. U tří pacientů s pozdními relapsy (v 15, 24 a 46 měsících) jsme nenašli mutace *BRAF*, *KRAS* ani *NRAS*. Je zajímavé, že mutace *KRAS* nebyly odhaleny u žádných vzorků LCH. *NRAS* c.182A> G, mutace Q61R byla nalezena ve dvou případech – jeden pacient měl LCH transformovaný na Hodgkinův lymfom, jeden pacient měl refrakterní onemocnění. Doba relapsu (time to relapse rate – TTR) u pacientů s mutací genu *BRAF* V600E a bez mutace byla 13 oproti 28 měsícům, resp. $p < 0,05$. TTR byl 31,3 oproti 6,41 měsícům u pacientů s absencí a přítomností mutace *NRAS*, $p < 0,05$. Multivariální analýza ukázala, že přítomnost *NRAS* Q61R mutace byla spojena se špatným přežíváním bez příhody u pacientů s LCH s HR 6,1 (95% CI 0,2–12,6; $p = 0,008$). **Závěr:** Mutace *BRAF* a *NRAS* u LCH naznačují možnost, že onemocnění je řízeno aktivací cesty MAPK/ERK. Tyto onkogenní mutace poskytují nové možnosti v porozumění patogenezi LCH a mohou se stát potenciální cílovou terapií.

Klíčová slova

histiocytóza Langerhansových buněk – mutace – prognostické faktory – relaps – přežití

Introduction

Langerhans cell histiocytosis (LCH) is a rare myeloproliferative disorder of unknown etiopathogenesis. Based on modern research, LCH is a disease of the immune system with an abnormal immune response, leading to the proliferation of Langerhans cells, eosinophilic infiltration, granuloma formation, fibrosis, osteolytic lesions, etc.

The age-adjusted incidence rate of LCH is 3–5 cases in children and 1–2 cases in adults per 1,000,000 per year, with the incidence rate higher in men than in women. The sex ratio (m : f) is 2 : 1.

Clinical symptoms in LCH patients are very different – from isolated bone lesions to multisystem disease, with outcomes ranging from spontaneous remission to progression during therapy. In addition, symptoms of LCH vary depending on the organ or system involved. Rapid progressive forms are often seen in children and usually not observed in adults [1].

Regardless to similarities in histological features between LCH lesions, clinical outcomes are highly variable and range from isolated skin or bone disease to highly aggressive subtypes with life-threatening multisystem lesions, which require intensive chemotherapy.

There are different types of LCH (stratification of LCH):

1. multisystem LCH (MS-LCH) – with or without the involvement of “risk organs”;

2. single system LCH (SS-LCH) – unifocal or multifocal lesions;

3. single system LCH (SS-LCH) – with “special site” lesions

There are no universal guidelines for the diagnosis and treatment of adult LCH patients. The largest number of patients was analyzed in a retrospective pooled analysis from several national registries [2,3]. In general, physicians should have an option to choose the course of chemotherapy treatment depending on the stratification of LCH and presence of genetic mutations.

The benign morphology of LCH proliferating cells and their characteristic inflammatory infiltrates suggest that LCH may be an inflammatory disorder [4]. Dysregulated expression of inflammatory cytokines, such as interleukin-17A, has been reported [5]. However, the pathologic Langerhans cells in LCH are clonal [6]. Although clonality is an important feature of neoplasia, recurrent genomic abnormalities will be required to demonstrate that LCH is a neoplasm; until now, none of them have been reported [7].

It is known that the mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathway is constantly activated in LCH. Mutations of the downstream kinases *BRAF* and *MAP2K1* mediate this activation in a subset of LCH lesions. The most common missense mutation of *BRAF* (mainly V600E) contributes to the incidence of various

types of cancer, including LCH. *BRAF* gene located on chromosome 7q34 encodes a cytoplasmic serine-threonine kinase. This mutated *BRAF* protein constitutively activates the MAPK signaling pathway, which results in increased cell proliferation, apoptosis resistance and tumor progression [8,9].

Specific inhibition of *BRAF* signaling is effective in blocking proliferation of melanoma cells that have additional genomic abnormalities. Recent identification of cancer-associated mutation *BRAF* V600E in LCH cases provided molecular evidence of the neoplastic nature of LCH [10]. Initially *BRAF* was discovered in other types of cancer; additionally, it was found in LCH. Based on such data, it is possible to suggest that melanoma treatment approaches can be used for LCH treatment taking in consideration the expression of this gene [11]. *BRAF* mutations are usually found in tumors that have wild-type *KRAS* and *NRAS*, *KIT*, and other driver mutations.

Initially, LCH was considered as a disorder of immune regulation. Activating mutations in the proto-oncogene *BRAF*-V600E were reported in approximately 50–60% of cases; mitogen-activated protein kinase (MEK) and extracellular signal-related pathway (ERK) phosphorylation was reported in 100% of these cases. These data allow to relate LCH to a dendritic cell neoplasm with a strong inflammatory component. Current international LCH trials are focused

Tab. 1. Primer and probe sequences for analysis of qPCR mutations.

Target	Primer	Sequence
<i>KRAS</i>	common primer A	GTA CTG GTG GAG TAT TTG ATG TGT ATT AAC C
	probe 1	VIC-CTA CCA CAA GTT TAT ATT CAG TCA TTT TCA-TAMRA
	G12V	TAT CGT CAA GGC ACT CTT GCC TAC GCC TA
	G12D	TAT CGT CAA GGC ACT CTT GCC TAC GCC TT
	G12A	TAT CGT CAA GGC ACT CTT GCC TAC GCC TG
	K13A	CGT GTA TCG TCA AGG CACTCTTGC CTA CCT
	common primer B	CTC ATG AAA ATG GTC AGA GAA ACC TTT ATC
	Probe-2	6-FAM-CAA GAG TGC CTT GAC GAT ACA GCT A-TAMRA
	G12C	CTG AAT ATA AAC TTG TGG TAG TTG GAG CAT
	G12S	CTG AAT ATA AAC TTG TGG TAG TTG GAG CCA
	G12R	CTG AAT ATA AAC TTG TGG TAG TTG GAG CCC
β -actin	forward	TCA CCC ACA CTG TGC CCA TCT ACG A
	reverse	CAG CGG AAC CGC TCA TTG CCA ATG G
	probe	FAM-ATG CCC TCC CCC ATG CCA TCC TGC GT
<i>BRAF</i>	forward	CTG TTT TCC TTT ACT TAC TAC ACC TCA GAT
	reverse (mutant V600E)	CCC ACT CCA TCG AGA TTT CT
	reverse (reference)	CAA CTG TTC AAA CTG ATG GG
	probe	FAM-CAC AGT AAA AAT AGG TGA T-MGB
<i>CYP17</i>	forward	CCC TAG AGT TGC CAC AGC
	reverse	GGT AAG CAG CAA GAG AGC
	probe	VIC-CTG TCT ATC TTG CCT GCC-MGB

qPCR – quantitative polymerase chain reaction

on further improving the outcome of patients with high-risk multisystem LCH, by decreasing the reactivation rate, optimizing early salvage regimens and preventing late complications.

Somatic mutations in *ARAF* and *MAP2K1* were recently discovered; these mutations lead to activation of the RAS-RAF-MEK-ERK pathway in the setting of wild-type *BRAF*. It was also found that the activation of mutation in *MAP2K1* is relatively insensitive to MEK inhibitors. This suggests that a more detailed understanding of this pathway in LCH may be necessary for the development of more efficient targeted therapies [12].

Materials and Methods

We performed the study from February 1, 2009 to March 31, 2017 on biopsy samples received at the Department of Oncohematology of National Cancer Insti-

tute, Kiev, Ukraine. Altogether, 8 patients with LCH (6 males and 2 females; median age – 25, age range – 21–55) were included in this study. The diagnosis was based on clinical symptoms and immunohistochemistry results (CD1a+ or CD207+ and S-100+).

The study was approved by the institutional ethics committee review board at the National Cancer Institute of Ukraine.

Quantitative real-time PCR

All biomaterial was obtained before treatment. Fresh tumor samples for quantitative polymerase chain reaction (qPCR) analysis were stored in 'RNA-later' (Ambion, USA) to stabilize nucleic acids.

DNA was extracted from formalin-fixed, paraffin-embedded tissues after histological control. Genomic DNA from tumor samples was isolated using NucleoSpin Tissue Kit (Macherey-Nagel,

Germany). Primers and probes were specially engineered to determine *KRAS* tumor genotype (7 mutations located within codons 12 (6) and 13 (1)) by the multiplexed qPCR. Sequences of primers were experimentally selected with Primer Express Software v3.0 (Applied Biosystems, USA) and synthesized by Applied Biosystems, USA. All primer and probe sequences are listed in Tab. 1.

For *KRAS* mutation analysis, primers and TaqMan probes were used at 20 μ M and 5 μ M concentrations, resp. TaqMan Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems, USA). Common primer A, mutation-specific primer and probe 1 were used for *KRAS* G12V, G12D, G12A, K13A mutation analysis, common primer B, mutation-specific primer and probe 2 were used for *KRAS* G12C, G12S, G12R mutation analysis; 5–10 ng of DNA were used to prepare the reaction mix-

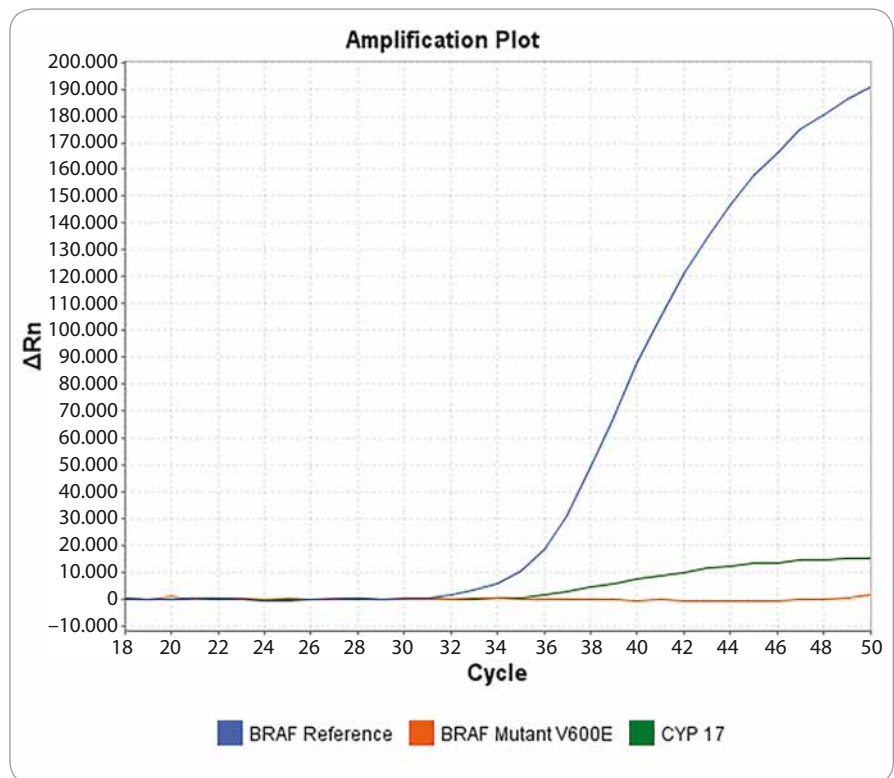
Tab. 2. Response to treatment.

Type of response	n
stable disease	5
partial response	1
complete response	1
relapse/refractory	1

ture in a total volume of 25 μ l. A total of 55 cycles of qPCR (95°C – 42 seconds, 60°C – 42 sec and 72°C – 52 sec) were run on 7,300/7,500 Real-Time PCR Systems (Applied Biosystems, USA). This assay uses six primers, two common primers, two TaqMan probes for seven different *KRAS* mutations. qPCR for an inner control β -actin was performed for each sample.

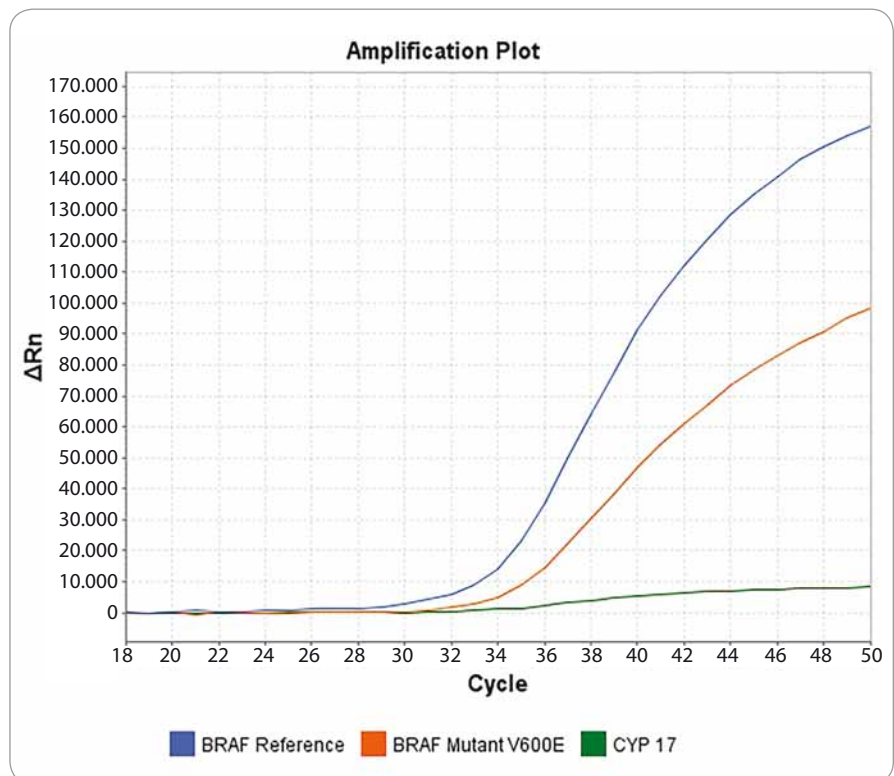
For *BRAF* mutation analysis qPCR reference PCR was performed in a 25 mkl reaction volume with 1 mkl TaqMan Universal Master Mix (Applied Biosystems, USA), 900 nmol/L of each *BRAF* mutation-unspecific primer, 100 nmol/L of the *BRAF* probe, 112.5 nmol/L of each internal control primer, 25 nmol/L of the internal control probe, and 5–10 ng of DNA of varying concentrations. Allele-specific PCRs were performed according to the same protocol but using a concentration of 450 nmol/L of allele-specific primer [13]. All real-time PCRs were performed on 7,300/7,500 Real-Time PCR Systems (Applied Biosystems, USA) under the following thermocycling conditions – 95°C for 10 min, followed by 50 cycles of 90°C for 15 sec and 60°C for 1 min. Cycle threshold (Ct) values were recorded for reference PCR and for each allele-specific PCR, and corresponding Ct values (ie, allele-specific Ct minus reference Ct) were calculated.

We also studied *KRAS* minor mutations *G13C*, *Q61R*, *Q61H*, *A146T* and *NRAS* mutations *G12V*, *G12D*, *G12C*, *G12S*, *G13V*, *G13R*, *Q61K*, *Q61L*, *Q61R*, *Q61HC*, *Q61HT* in tumor samples with TaqMan Mutation Detection Assays (Cat. #4465804, Applied Biosystems, USA) and a mutation-unspecific region was used as a reference amplicon (Cat. #4465807, Applied Biosystems, USA).



Graph 1. Case 1 SS-LCH with the involvement of bone system, identified by qPCR, no *BRAF V600E* mutation found.

SS-LCH – single system Langerhans cell histocytosis, qPCR – quantitative polymerase chain reaction



Graph 2. Case 7 MS-LCH with the involvement of “special sites”, identified by qPCR, with a *BRAF V600E* mutation.

MS-LCH – multisystem Langerhans cell histocytosis, qPCR – quantitative polymerase chain reaction

Statistical analysis

A Spearman correlation coefficient (r) test and Cox test were used to determine the relationship between two continuous measurements. We used Chi-square tests for comparison of the time to relapse (TTR); $p < 0.05$ was considered to indicate a statistically significant difference. Survival curves were generated by the Kaplan-Meier method. An overall survival (OS) was calculated from the date of pathological diagnosis to the death or to last follow-up. An event-free survival (EFS) was calculated from the first day of treatment to relapse, progression or death, or to last date of follow-up. All the analyses were carried out using Statistica 10 and MedClac Version 12.6.1.0.

Results

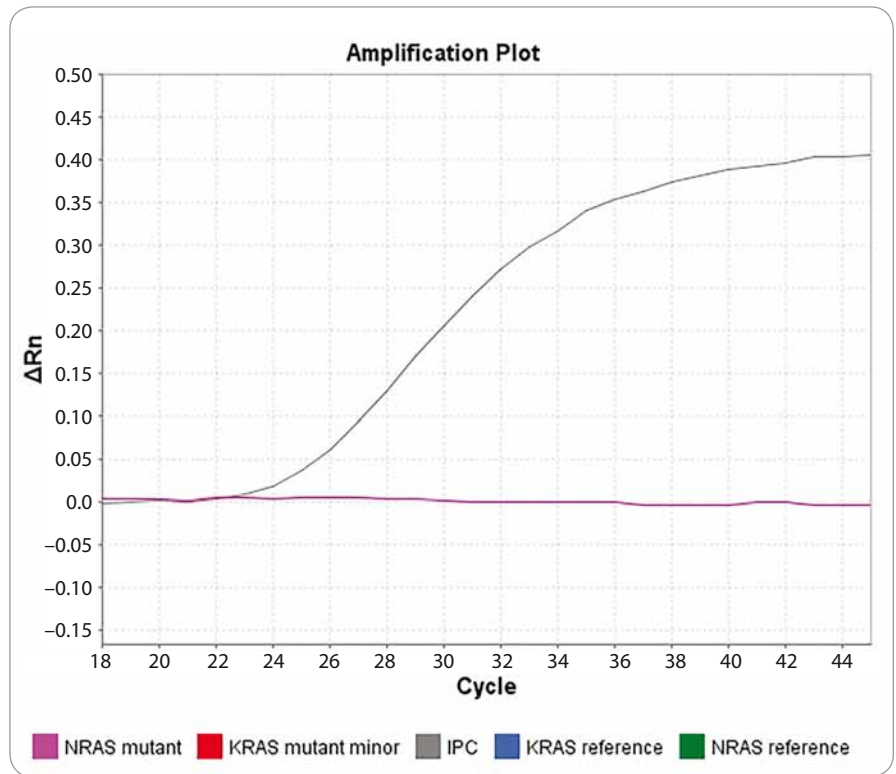
Single-system disease (SS-LCH) and multi-system LCH (MS-LCH) had 25% (2/8) and 75% (6/8) of patients, resp. ($p < 0.05$).

In two cases, SS-LCH patients had bone involvement and one patient had pulmonary system involvement. The patient with primary LCH of lungs had a long-term history of smoking (> 10 years).

Two patients had MS-LCH with the involvement of “risk organs” such as central nervous system and bone marrow, there was only one patient with the involvement of “special sites”. In addition, we diagnosed two cases of MS-LCH without the involvement of “risk organs”. In our study, the patients older than 32 (50 and 55 years old) had MS-LCH with bone involvement, while patients younger than 24 (22 years old) had their pulmonary system involvement at diagnosis. A total of 62.5% patients received chemotherapy in combination with radiation therapy, and only 1/4 of patients (37.5%) received only chemotherapy, ($p < 0.05$). All patients received chemotherapy according to LCH-I protocol, six cycles on average (range 2–8).

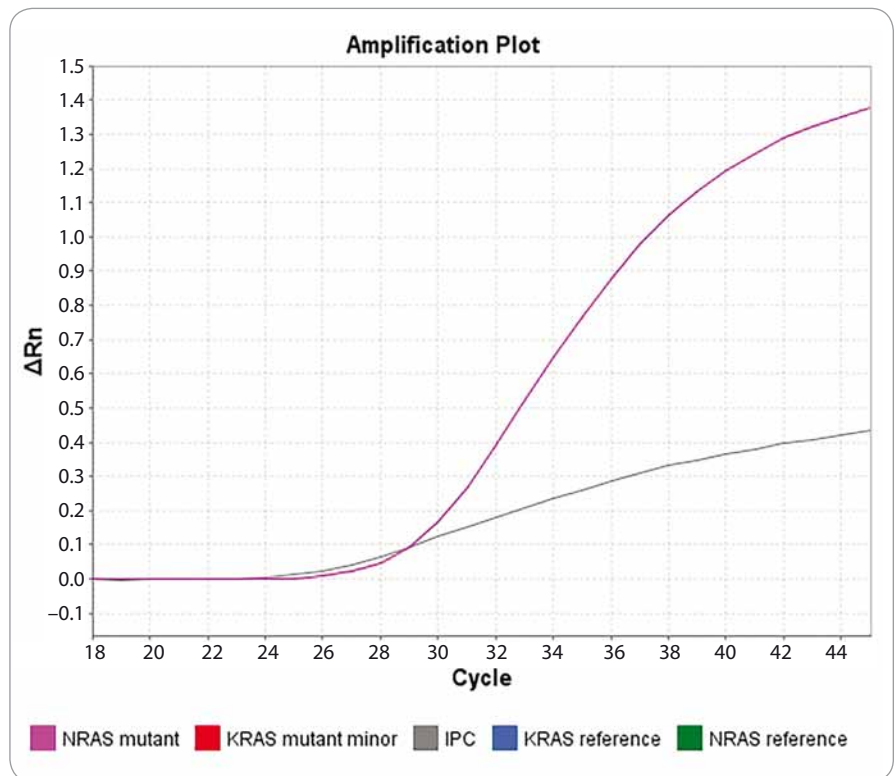
The evaluation of response was done after the second or third cycle of chemotherapy. The response to treatment was achieved in 87.5% (7/8) of cases (Tab. 2.).

The maximum follow-up period in this group of patients was 96.72 months (median 44.92 months). A total of



Graph 3. Case 2 MS-LCH, with the involvement of risk organ, identified by qPCR, no NRAS Q61R mutation found.

MS-LCH – multisystem Langerhans cell histocystis, qPCR – quantitative polymerase chain reaction



Graph 4. Case 6 MS-LCH, without the involvement of risk organ, identified by qPCR, with a NRAS Q61R mutation.

MS-LCH – multisystem Langerhans cell histocystis, qPCR – quantitative polymerase chain reaction

Tab. 3. TTR based on disease stratification and *BRAF/KRAS/NRAS* gene mutations.

LCH stratification	Patients with disease progression, n	<i>BRAF/KRAS/NRAS</i> gene mutation	TTR (month)	Relapse type	Death
SS-LCH, multifocal > 1 bone	1	<i>BRAF V600E</i>	6	early	0
MS-LCH, without the involvement of "risk organ"	1	<i>NRAS Q61R</i>	3	refractory	0
MS-LCH, with the involvement of "risk organ"	1	<i>NRAS Q61R</i>	12	late	0
MS-LSH, with the involvement of "special sites"	0	<i>BRAF V600E</i>	0	0	0

TTR – time to relaps, LCH – Langerhans cell histiocytosis, MS-LCH – multisystem LCH, SS-LCH – single system LCH

87.5% (7/8) patients is still being followed up. During the follow-up period, there was one death registered due to the progression in LCH with pulmonary involvement.

There were 2/8 patients with early relapses (in 6 months), 2/8 patients with late relapses and 1/8 patient with refractory disease. In addition, one patient had transformed LCH into Hodgkin lymphoma, which was confirmed by immunohistochemical study.

Three-year EFS was 28.3%. It was impossible to calculate the OS due to the loss to follow-up of one patient. The analysis of data for presence of MAPK/ERK pathway gene mutations did not show any *BRAF/KRAS/NRAS* mutations in 50% (4/8) of patients.

We did not find any *BRAF*, *KRAS* or *NRAS* mutations in three patients with late relapses (in 15, 24 and 46 months). Notably, *KRAS* mutations were not revealed in any LCH samples.

A *BRAF* c.1799T>A, p. V600E mutation was present only in 2 out of 8 evaluated cases (25%):

- one patient with early relapse (in 6 months after the treatment);
- one patient with stable disease (Graph. 1 and 2)

We also identified two patients with *NRAS* c. 182A>G, p. Q61R mutation:

- one patient had LCH transformed to Hodgkin's lymphoma during 12 months after treatment LCH;
- one patient had a refractory disease (Graph 3 and 4.)

Due to a small number of patients in the research group, we decided to intro-

duce TTR in months in order to be able to determine the impact of MAPK/EPK pathway mutation on relapse occurrence (Tab. 3).

We also analyzed correlation of disease response to the therapy, OS and EFS with age, sex, LCH stratification, number of cycles, response to therapy, radiation therapy, presence of gene mutations *BRAF/KRAS/NRAS*.

Unfortunately, due to a small number of patients, we did not identify a statistically significant difference of EFS in patients with or without *BRAF V600E* gene mutation. However, the comparison of patients with TTR with and without *BRAF V600E* gene mutation was significant, 13 vs. 28 months, resp.; $p < 0.05$.

In addition, TTR was 31.3 vs. 6.41 months in patients with the absence or presence of *NRAS* mutation, $p < 0.05$. Multivariate analysis confirmed that the presence of *NRAS Q61R* mutation has a significant association with shorter EFS in LCH patients with HR of 6.1 (95% CI 0.2–12.6; $p = 0.008$).

Discussion

LCH is a rare disease characterized by clonal proliferation of Langerhans cells [14]. Granuloma-like lesions of LCH have heterogeneous cellular composition. The etiology of Langerhans cell histiocytosis is largely unknown [15,16]. Recent studies have suggested that LCH is related to the clonal neoplastic proliferation of myeloid-derived precursor cells with a high frequency of somatic oncogenic *BRAF V600E* mutations in 25–60% of LCH patients [17–20]. Since the follow-up time in our study for some patients was short, the relationship of

BRAF V600E mutation to survival has not been sufficiently analyzed. Smoking is an important factor in primary LCH of lungs [20]; one patient with pulmonary disease had a long-term history of smoking in our study, which may be related to this form of LCH.

Symptoms, such as lytic bone lesions, exophthalmos, polyuria, hepatosplenomegaly, lymphadenopathy, skin rash, and hematological compromise, are most common in patients with LCH [21]. During our study, we most commonly came across such symptoms as lytic bone lesions (62.5%), lymphadenopathy (50%), polyuria (25%).

The overall 5-year survival rate of LCH patients is 88% [22]. Patients with unifocal LCH have an excellent prognosis and a high long-term survival rate (99%), may spontaneously recover or require minimal treatment [22]. In our cohort, one patient died because of pulmonary disease. The other seven patients are still alive, and further follow-up should be performed. There were no spontaneous recovery cases in our study.

The *BRAF V600E* mutation has been reported in 39–57% of Langerhans cell histiocytosis cases [17,19]. Although the pathophysiology of LCH remains unclear, activation of the MAPK/ERK signal pathway appears to play a significant role [23]. According to our data, *BRAF* gene mutation has been registered in only 25% of patients. The comparison of patients with TTR with and without *BRAF V600E* gene mutation was significant, 13 vs. 28 months, resp.; $p < 0.05$. Hypothetically, we can assume that the data analysis of a larger patient's cohort would be able to confirm the rela-

tion of the response to treatment with or without the expression of *BRAF V600E* gene mutation. *BRAF* gene can be used as a prognostic marker for the assessment of patient's response to treatment, receiving a standard chemotherapy for LCH as well as for patients participating in clinical trials.

The fact that some of LCH patients do not carry *BRAF* gene mutations prompts a possibility of other mutations that are partially or entirely related to ERK pathway and require further research. We did not find any *BRAF*, *KRAS* or *NRAS* mutations in three patients with late relapses.

Approximately 30% of LCH tumors have *MAP2K1* mutations. Somatic *MAP2K1* mutations have been identified in approximately 50% of *BRAF*- LCH samples [24]. In our study, there were also two *BRAF* patients who had a *NRASQ61K/R* somatic mutation. In addition, there are studies showing that the presence of concurrent *BRAF V600E* or *NRASQ61K/R* mutations was strongly associated with patient outcome [25]. Multivariate analysis in our cohort showed that presence *NRASQ61K/R* gene mutation has a significant association with poor clinical outcome in patients with LCH. Moreover, somatic mutations affecting other *BRAF* residues, as well as the *ARAF* gene, have recently been described [18,23].

The determination of the genetic mutation in LCH lesions has important implications for specific treatment. *BRAF* inhibitors, such as vemurafenib, have been successfully used to treat LCH patients with the V600E mutation [26]. The test for this mutation may play an important role for an individualized treatment. Additionally, a recent report on the successful use of *BRAF* protein inhibitor on refractory hairy cell leukemia [27] emphasized that LCH can potentially be treated with targeted therapy.

Conclusion

In summary, the presence or absence of one of MAPK/EPK pathway mutations, such as *BRAF*, *NRAS* or *KRAS* in a tumor, does not confirm or rule out a diagnosis of LCH. The results of these tests should be correlated with clinical findings and histopathologic features. Unfortunately, we did not find a strong significant impact of *BRAFV600E* gene mutation on clinical outcomes in patients with LCH in our study. However, our results provide evidence that *NRASQ61K/R* gene mutation can predict clinical outcome in patients with LCH and seem to be promising for the future studies.

References

- Lee JS, Ko GH, Kim HC et al. Langerhans cell sarcoma arising from Langerhans cell histiocytosis: a case report. *J Korean Med Sci* 2006; 21(3): 577–580. doi: 10.3346/jkms.2006.21.3.577.
- Arico M, Girschikofsky M, G n reau T et al. Langerhans cell histiocytosis in adults. report from the international registry of the histiocyte society. *Eur J Cancer* 2003; 39(16): 2341–2348.
- Kriachok IA, Skrypets TV, Novosad OI et al. Therapeutic approaches to the treatment of adult patients with Langerhans cell histiocytosis. *J Clin Oncol Ukraine* 2016; 1(21): 58–62.
- Broadbent V, Pritchard J, Davies EG et al. Spontaneous remission of multi-system histiocytosis X. *Lancet* 1984; 1(8371): 253–254.
- Coury F, Annels N, Rivollier A et al. Langerhans cell histiocytosis reveals a new IL-17A-dependent pathway of dendritic cell fusion. *Nat Med* 2008; 14(1): 81–87. doi: 10.1038/nm1694.
- Willman CL, Busque L, Griffith BB et al. Langerhans-cell histiocytosis (histiocytosis X): a clonal proliferative disease. *N Engl J Med* 1994; 331(3): 154–160. doi: 10.1056/NEJM199407213310303.
- da Costa CE, Szuhai K, van Eijk R et al. No genomic aberrations in Langerhans cell histiocytosis as assessed by diverse molecular technologies. *Genes Chromosomes Cancer* 2009; 48(3): 239–249. doi: 10.1002/gcc.20634.
- Cantwell-Dorris ER, O'Leary JJ, Sheils OM. *BRAFV600E*: implications for carcinogenesis and molecular therapy. *Mol Cancer Ther* 2011; 10(3): 385–394. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-10-0799.
- Badalian-Very G, Bignell GR, Cox C et al. Mutations of the *BRAF* gene in human cancer. *Nature* 2002; 417(6892): 949–954. doi: 10.1038/nature00766.
- Novosad O, Kryachok I, Khranovska N et al. The MAPK/ERK pathway activation in patients with Langerhans Cell Histiocytosis. abstr. BMS-P-3. In: 18th Meeting of the European Association for Haematopathology – EAHP. Basel, 3.–8. September 2016.
- Badalian-Very G, Vergilio JA, Degar BA. Recurrent *BRAF* mutations in Langerhans cell histiocytosis. *Blood* 2010;

- 116(11): 1919–1923. doi: 10.1182/blood-2010-04-279083.
- Abla O, Weitzman S. Treatment of Langerhans cell histiocytosis: role of *BRAF*/MAPK inhibition. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2015; 2015: 565–570. doi: 10.1182/asheducation-2015.1.565.
- Lang AL, Drexel H, Geller-Rhomberg S et al. Optimized allele-specific real-time PCR assays for the detection of common mutations in *KRAS* and *BRAF*. *J Mol Diagn* 2011; 13(1): 23–28. doi: 10.1016/j.jmoldx.2010.11.007.
- Allen CE, Li L, Peters TL et al. Cell-specific gene expression in Langerhans cell histiocytosis lesions reveals a distinct profile compared with epidermal Langerhans cells. *J Immunol* 2010; 184(8): 4557–4567. doi: 10.4049/jimmunol.0902336.
- Jaffe R, Weiss LM, Facchetti F. Tumours derived from Langerhans cells. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL (eds). *WHO classification of tumours of the haematopoietic and lymphoid tissues*. Lyon: IARC Press; 2008: 358–360.
- Paulus W, Perry A. Histiocytic tumours. In: Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD (eds). *WHO classification of tumours of the central nervous system*. Lyon: IARC Press; 2007: 193–196.
- Badalian-Very G, Vergilio JA, Degar BA et al. Recurrent *BRAF* mutations in Langerhans cell histiocytosis. *Blood* 2010; 116(11): 1919–1923. doi: 10.1182/blood-2010-04-279083.
- Satoh T, Smith A, Sarde A et al. B-RAF mutant alleles associated with Langerhans cell histiocytosis, a granulomatous pediatric disease. *PLoS One* 2012; 7(4): e33891. doi: 10.1371/journal.pone.0033891.
- Sahm F, Capper D, Preusser M et al. *BRAFV600E* mutant protein is expressed in cells of variable maturation in Langerhans cell histiocytosis. *Blood* 2012; 120(12): e28–e34. doi: 10.1182/blood-2012-06-429597.
- Roden AC, Hu X, Kip S et al. *BRAF V600E* expression in Langerhans cell histiocytosis: clinical and immunohistochemical study on 25 pulmonary and 54 extrapulmonary cases. *Am J Surg Pathol* 2014; 38(4): 548–551. doi: 10.1097/PAS.0000000000000129.
- Badalian-Very G, Vergilio JA, Fleming M et al. Pathogenesis of Langerhans cell histiocytosis. *Annu Rev Pathol* 2013; 8: 1–20. doi: 10.1146/annurev-pathol-020712-163959.
- Grana N. Langerhans cell histiocytosis. *Cancer Control* 2014; 21(4): 328–334. doi: 10.1177/107327481402100409.
- Nelson DS, van Halteren A, Quispel WT et al. *MAP2K1* and *MAP3K1* mutations in Langerhans cell histiocytosis. *Genes Chromosomes Cancer* 2015; 54(6): 361–368. doi: 10.1002/gcc.22247.
- Brown, NA, Furtado LV, Betz BL et al. High prevalence of somatic *MAP2K1* mutations in *BRAF V600E*-negative Langerhans cell histiocytosis. *Blood* 2014; 124(10): 1655–1658. doi: 10.1182/blood-2014-05-577361.
- Mourah S, How-Kit A, Meignin V et al. Recurrent *NRAS* mutations in pulmonary Langerhans cell histiocytosis. *Eur Respir J* 2016; 47(6): 1785–1796. doi: 10.1183/13993003.01677-2015.
- Haroche J, Cohen-Aubart F, Emile JF et al. Dramatic efficacy of vemurafenib in both multisystemic and refractory Erdheim-Chester disease and Langerhans cell histiocytosis harboring the *BRAF V600E* mutation. *Blood* 2013; 121(9): 1495–1500. doi: 10.1182/blood-2012-07-446286.
- Dietrich S, Glimm H, Andrusis M et al. *BRAF* inhibition in refractory hairy-cell leukemia. *N Engl J Med* 2012; 366(21): 2038–2040. doi: 10.1056/NEJMc1202124.

Recent Trends in Survival of Testicular Cancer Patients – Nation-wide Population Based Study

Súčasný trendy prežívania pacientov s nádorom testis – Národná populačná štúdia

Ondrus D.¹, Ondrusova M.², Suchansky M.²

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

² Pharm-In Ltd., Bratislava, Slovak Republic

Summary

Introduction and Aim: Survival of germ cell testicular cancer (TC) patients is better than for other malignancies and has not yet been exactly studied in the Slovak Republic. The aim of the study, based on the analyses of epidemiological data over time, was to present 5-year survival trends for germ cell TC patients. **Patients and Methods:** Survival is assessed within the framework of a nation-wide retro-prospective study among TC patients newly diagnosed between 1993–2007 (divided to three 5-year periods according to the time of diagnosis – 1993–1997, 1998–2002 and 2003–2007). Standardized 5-year survival rates were calculated and compared between the periods using a widely accepted methodology. TC patients were divided into two groups (seminomas and non-seminomas histopathologically) and to two groups according to the age at diagnosis (< 40 vs. ≥ 40 years). The demographic characteristics of TC patients were analyzed using descriptive statistics. Statistical analysis was carried out using Microsoft Excel 2013, statistical software STATISTICA and Joinpoint Regression Programme, Version 4.3.1.0. **Results:** Five-year survival of TC patients (n = 2.748) diagnosed from 1993 to 2007 was 92.21%. TC patients diagnosed between 1993 and 1997 (n = 810) reached 5-year survival at 91.23%, between years 1998 and 2002 (n = 916) at 92.14% and between years 2003 and 2007 (n = 1.022) at 93.05%. There was not a statistically significant difference in survival among these three 5-year periods. Significant difference in 5-year survival was observed between seminomas and non-seminomas in each 5-year period. Compared with younger patients (age < 40 years), there was a significantly worse survival for TC patients (age ≥ 40 years) in all groups. **Conclusion:** Moderate improvement in survival for TC patients in the Slovak Republic is probably influenced by diagnostic and therapeutic progress, including multidisciplinary care and patient's concentration in specialized centers. The long-term follow-up of TC survivors can also help to prevent late side effects of the treatment modalities and to detect second malignancies.

Key words

testicular cancer – seminoma – non-seminoma – age at diagnosis – survival

Acknowledgement

The authors thank the heads of the departments of urology, oncology and pathology in the Slovak Republic for their cooperation.

Autori ďakujú vedeniu oddelení urológie, onkológie a patológie v Slovenskej republike za ich spoluprácu.

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.



prof. Dalibor Ondrus, MD, DrSc.
1st Department of Oncology
Comenius University Faculty of Medicine
St. Elisabeth Cancer Institute in Bratislava
Heydukova 10
812 50 Bratislava
Slovak Republic
e-mail: dalibor.ondrus@ousa.sk

Submitted/Obdrženo: 20. 12. 2017

Accepted/Přijato: 23. 1. 2018

doi: 10.14735/amko2018137

Souhrn

Úvod: Prežívanie pacientov s germinatívnymi nádormi testis je lepšie ako u iných malígnych ochorení, avšak doteraz nebolo v Slovenskej republike exaktne analyzované. Táto štúdia založená na analýze epidemiologických dát prezentuje vývoj časových trendov 5-ročného prežívania pacientov s testikulárnymi nádormi. **Pacienti a metódy:** Prežívanie pacientov s nádormi testis diagnostikovanými v rokoch 1993–2007 (rozdelenými do troch období 1993–1997, 1998–2002 a 2003–2007) sa hodnotilo v rámci celonárodnej retroprospektívnej štúdie. Štandardizované 5-ročné prežívanie bolo analyzované pomocou všeobecne akceptovanej metodológie. Pacienti boli tiež rozdelení do dvoch skupín podľa histologického typu nádoru (seminómy vs. neseminómy) a na dve skupiny podľa veku v čase diagnózy nádoru (< 40 vs. ≥ 40 rokov). Demografické charakteristiky pacientov so všetkými typmi germinatívných nádorov testis (okrem spermatocytárneho seminómu) sa podrobili deskriptívnej analýze. Údaje sa analyzovali pomocou programového vybavenia Microsoft Excel 2013, STATISTICA 12, Joinpoint Regression Program, Version 4.3.1.0. **Výsledky:** Celkové 5-ročné prežívanie všetkých pacientov s testikulárnym nádorom (n = 2,748) diagnostikovaným v rokoch 1993–2007 v Slovenskej republike bolo 92,21 %. Títo pacienti boli rozdelení do troch skupín podľa 5-ročných období. Pacienti v období rokov 1993–1997 (n = 810) dosiahli 5-ročné prežívanie v 91,23 %, v období rokov 1998–2002 (n = 916) v 92,14 % a v období rokov 2003–2007 (n = 1,022) v 93,05 %. V jednotlivých 5-ročných obdobiach neboli zaznamenané štatisticky významné rozdiely v celkovom prežívaní pacientov. Štatisticky významné rozdiely v 5-ročnom prežívaní sa preukázali medzi histologickými typmi nádorov (seminóm vs. neseminóm). Vo všetkých obdobiach rokov sa prejavil štatisticky významný rozdiel v 5-ročnom prežívaní podľa veku v čase diagnózy nádoru (< 40 vs. ≥ 40 rokov) v prospech mladších pacientov. **Záver:** Mierne zlepšovanie prežívania pacientov s testikulárnym nádorom v Slovenskej republike je pravdepodobne spôsobené progresom v diagnostických a liečebných postupoch, vrátane multidisciplinárnej starostlivosti, a tiež koncentrácia pacientov do špecializovaných centier. Dlhodobé sledovanie prežívajúcich pacientov môže ovplyvniť rozsah neskorých vedľajších účinkov liečby a detegovať sekundárne malignity.

Kľúčové slová

nádor testis – seminóm – neseminomatózny nádor – vek v čase diagnózy – prežívanie

Introduction

Testicular cancer (TC) offers challenges due to its unique descriptive epidemiology and unknown etiology. Despite its relatively rare occurrence and high curability, it is the most commonly diagnosed malignancy among males aged 15–44 in developed countries. Moreover, its incidence has been increasing to epidemic proportions while mortality is decreasing in many countries [1,2]. Information on survival of cancer patients is an important indicator of cancer control. Survival information is needed for estimating how many cancer survivors are alive at any time in order to plan health services [3]. Survival for TC patients is better than for all other malignant diseases (excluding non-melanoma skin cancers), but significant differences worldwide have been documented [4].

With modern therapeutic approaches, 5-year survival after diagnosis of TC exceed 90% in many European countries [5].

The survival for TC patients in the Slovak Republic has not yet been particularly and exactly studied. Therefore, this nation-wide study, based on the analyses of epidemiological data over time presents 5-year survivals. In addition, this paper discusses possible factors accounting for these trends and compares national data to the international context.

Patients and Methods

Study design and data collection

Survival is assessed within the framework of a nation-wide retro-prospective study among patients with germ cell TC diagnosed between 1993–2007 (divided to three periods of diagnosis 1993–1997, 1998–2002 and 2003–2007). There were analyzed data from the medical records of patients with newly diagnosed germ cell TC, where the histology of the removed testis was primarily evaluated, consulted or revised by the only pathologist, specialist in the morphology of TC in the Slovak Republic. Patients with non-germ cell TC and with spermatocytic seminoma were not included in this study. TC patients were divided into seminomas and non-seminomas histologically and to two groups according the age at diagnosis (< 40 vs. ≥ 40 years). The analyzed database of germ cell TC comprised 2,748 of all 2,978 TC cases. The newly diagnosed cases in the database are fully representative as a national source of incidence data of TC in the Slovak Republic [6,7]. The database contains personal data on patients, data describing cancer and other diagnostic and histopathologic findings, basic data on patient's treatment, as well as data on post-treatment follow-up. The starting point of the evaluation of survival time was defined as the date of the first diagnosis

(morphological verification of germ cell TC); the closing date was defined as the date of the end of follow-up (December 15, 2017) or the date of patient's death.

Statistical analysis

Standardized 5-year relative survival rates were calculated on the basis of a widely accepted methodology, using computer program package Microsoft Excel 2013, STATISTICA 12 (data analysis software system) (Stat Soft, Inc.) [8] and Joinpoint Regression Program, Version 4.3.1.0. Recently proposed period analysis was applied to calculate survival in the latest period with accessible data [9].

The demographic characteristics of all patients were analyzed using descriptive statistics. Survival curves were generated using the method of Kaplan and Meier. The multiple-sample test implemented in Survival Analysis is an extension (or generalization) of Gehan's generalized Wilcoxon test, Peto and Peto's generalized Wilcoxon test, and the log-rank test. By this method, a score is first assigned to each survival time using Mantel's procedure. Next, a Chi-square value is computed based on the sums (for each group) of this score. If only two groups are specified, then this test is equivalent to Gehan's generalized Wilcoxon test, and the computations will default to that test in this case. All statistical tests were

two-sided, and statistical significance was set at a $p < 0.05$. Mann Whitney U Test was used for comparing median age of two main histological types of TC (seminoma vs. non-seminoma).

Results

The median age of all 2.748 germ cell TC patients in the period of 1993–2007 at the time of diagnosis was 31.97 years (95% CI 32.47–33.21; interquartile range (IQR) 26.13–38.80; standard deviation (SD) 9.83). Average annual percentage change (AAPC) of the median age at the time of diagnosis was not significantly different (increase from 31.38 years (1993) to 32.79 years (2007)) ($p > 0.05$), it was + 0.08% (difference between 1993 and 2007 was + 4.48%), SD increased from 9.37 (1993) to 10.42 (2007).

The median age of 1.213 patients with pure seminoma testis was 35.83 years (95% CI 36.34–37.36; IQR 30.37–42.26; SD 9.08). The median age of 1.535 patients with non-seminoma testis was 28.46 years (95% CI 29.22–30.15; IQR 23.45–34.79; SD 9.22). Significant difference was observed between the age of patients with pure seminoma testis vs. non-seminoma testis ($p < 0.001$) (Tab. 1).

Five-year overall survival (OS) for all 2.748 germ cell TC patients diagnosed in the period of 1993–2007 reached 92.21% (95% CI 91.21–93.22). Five-year survival of TC patients diagnosed between years 1993–1997 ($n = 810$) reached 91.23% (95% CI 89.28–93.19), between years 1998–2002 ($n = 916$) it reached 92.14% (95% CI 90.39–93.89) and between years 2003–2007 ($n = 1.022$) reached 93.05% (95% CI 91.49–94.61). The difference in survival between 5-year periods was not statistically significant ($p > 0.05$) (Tab. 2).

Compared with younger patients (age < 40 years), higher diagnostic age (≥ 40 years) was associated with declined 5-year survival for TC patients (93.70 vs. 86.78%) in the time period of 1993–2007 (Tab. 3, Graph 1).

Five-year survival for patients with non-seminoma testis from the cohort of years 1993–1997 ($n = 438$) reached 89.50% (95% CI 86.62–92.38), from the cohort of years 1998–2002 ($n = 538$) reached 89.41% (95% CI 86.80–92.01) and from the cohort of years 2003–

Tab. 1. Age difference of patients at the TC diagnosis according to the histological types (seminoma, non-seminoma).

Period	Mean	95% CI	Median	IQR	p
1993–2007					
non-seminoma	26.68	29.22–30.15	28.46	23.45–34.79	$p < 0.001$
seminoma	36.85	36.34–37.36	35.83	30.37–42.26	

TC – testicular cancer, IQR – interquartile range

Tab. 2. Five-year survival for TC patients by year periods and histological type.

	1993–1997	1998–2002	2003–2007	1993–2007
germ cell TC	91 (89–93)	92 (91–94)	93 (91–94)	92 (91–93)
seminoma	93 (91–94)	96 (94–97)	96 (95–97)	95 (93–96)
non-seminoma	90 (87–92)	90 (87–92)	90 (88–93)	90 (88–91)

TC – testicular cancer

Data are % relative survival (95% CI).

Tab. 3. Five-year survival for TC patients by age groups and year periods.

Periods	Survival of patients in the age < 40 years		Survival of patients in the age ≥ 40 years		p
1993–1997	612/658	93.01%	127/152	83.55%	< 0.001
1998–2002	688/730	94.25%	156/186	83.87%	< 0.00001
2003–2007	722/770	93.77%	229/252	90.87%	> 0.05
1993–2007	2,022/2,158	93.70%	512/590	86.78%	< 0.00001

TC – testicular cancer

2007 ($n = 559$) reached 90.16% (95% CI 87.68–92.64). The difference in survival between these cohorts was not statistically significant ($p > 0.05$) (Graph 2).

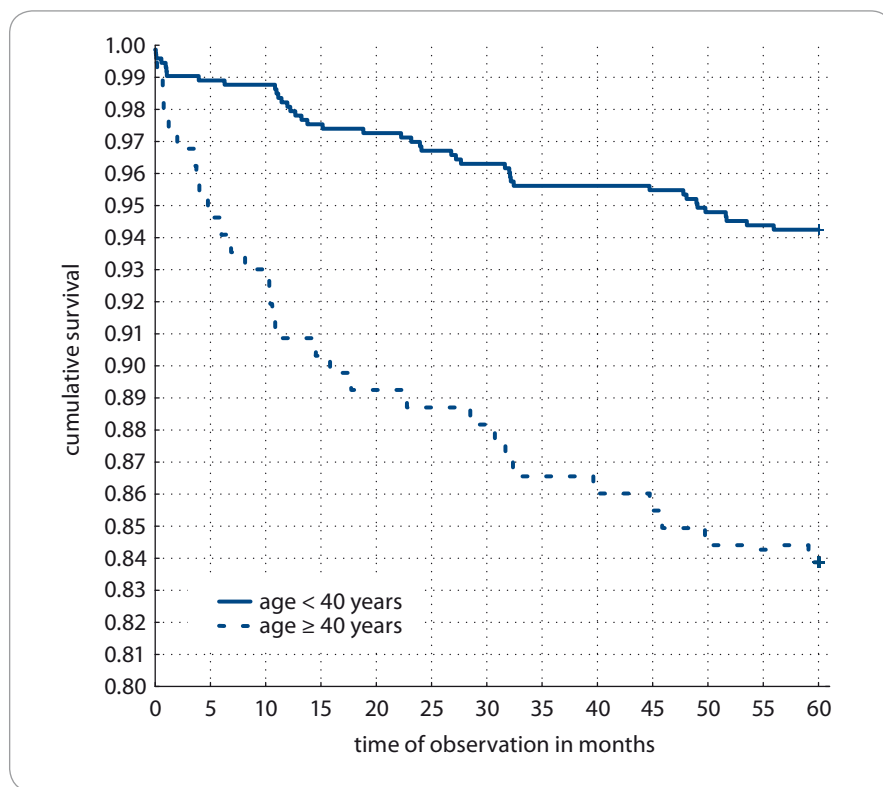
Five-year survival for patients with seminoma testis from the 1993–1997 cohort ($n = 372$) reached 93.28% (95% CI 90.72–95.84), from the 1998–2002 cohort ($n = 363$) it reached 96.03% (95% CI 94.05–98.01) and for the 2003–2007 cohort ($n = 463$) it reached 96.54% (95% CI 94.87–98.21). The difference in survival between these cohorts was not statistically significant ($p > 0.05$) (Graph 3).

Five-year survival was in these three cohorts higher for seminoma testis (93.28, 96.03 and 96.54%, resp.) than for non-seminoma testis (89.50, 89.41 and

90.16%, resp.). There was a statistically significant difference in survival between histological types in years 1993–2007 ($p < 0.05$) (Graph 4).

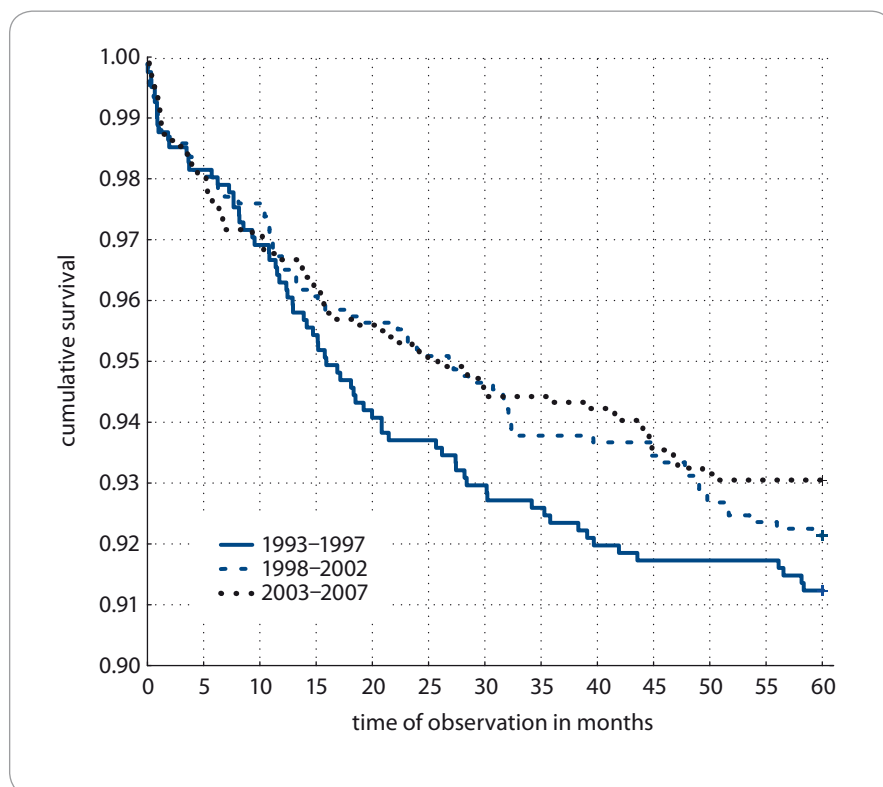
Discussion

Survival of patients having (not only) TC depends on multiple factors, such as the effectiveness of treatment, diagnostic practice, follow-up of the patients, methods of data collection and analysis, characteristics of patients (such as age, comorbidity) and cancer (such as clinical stage, histologic type). The increase in survival and the decrease in mortality are attributed to the introduction of cisplatin-containing chemotherapy, which has proven to be the most effective



Graph 1. Five-year survival for TC patients by age groups.

TC – testicular cancer



Graph 2. Five-year survival for TC patients according to year periods.

TC – testicular cancer

treatment for non-seminomas [10]. Improved survival is also the result of the use of more effective imaging techniques, the introduction of appropriate serum tumor markers (STM), which allow for careful follow-up, and modification of surgical techniques [11]. Another explanation of the improved survival is a shift toward seminomas, which have a better prognosis than non-seminomas. Prognosis is also influenced by stage and age at diagnosis, with younger patients exhibiting better survival than older patients [12,13].

Areleid et al. [11] described the results of EUROCORE-2 study, where 5-year relative survival for TC diagnosed in 1985–1989 was between 90–95%, which were observed in most participating countries of Northern, Western, Central and Southern Europe, and the United Kingdom. Five-year survival rate under 90% was seen in France (87%), Slovenia (88%), Poland (83%), Slovakia (82%) and Estonia (51%). Rates in Poland, Slovakia and Estonia were significantly lower than the summary rate for Europe ($p < 0.05$). From 1978–1980 to 1987–1989, the 5-year relative survival rate for Europe increased from 79 to 93% ($p < 0.05$).

According to EUROCORE-3 [14], the European 5-year relative survival for TC diagnosed in 1990–1994 was 93%. Survival differences across Europe were striking, with Estonia standing out for its exceptionally low age-standardized survival (71% at 5 years). Poland, Slovakia, Spain and Wales had survival just under the European mean (82–89%), while other countries had 5-year survival $> 93%$. Survival for TC decreases noticeably with advancing age. For patients aged 15–44 (age of the greatest incidence), 5-year relative survival was 94%, whereas for patients aged 65–74, 5-year survival was only 40%. The main explanation for the differences in survival for TC across Europe is probably poor access to care of sufficient quality in low survival areas, resulting also in advanced stage at diagnosis. Survival for TC increased in most western European countries over the entire EUROCORE study period – from 1983–1985 to 1992–1994 – European 5-year relative survival improved from 89 to 95%. While major

improvements in chemotherapy or radiotherapy for TC have not been seen since cisplatin therapy was introduced at the end of the 70s, the use of STM has made treatment monitoring and follow-up more precise.

According to EUROCARE-4 study in the period of 1995–1999, European 5-year standardized relative survival for TC was 90% with generally small variation between countries [5].

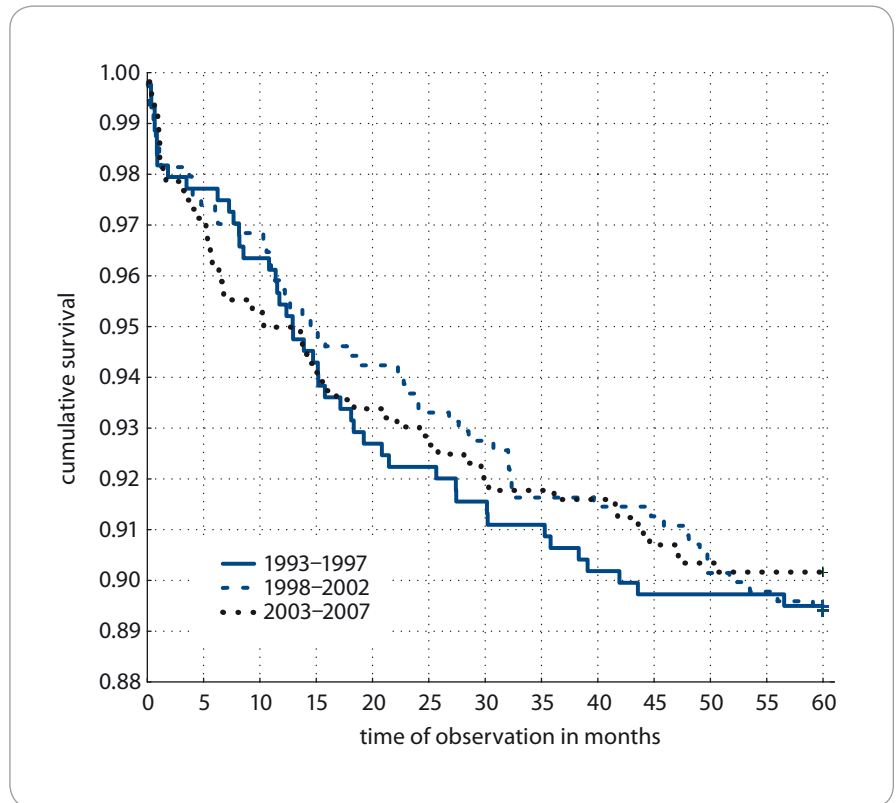
Matsuda et al. [15] suggested an improvement in TC 5-year survival also in Japan from 89.6% (1993–1996) to 92% (1997–1999).

Results of EUROCARE-5 population-based study [16] showed that the European mean age-standardized 5-year relative survival for TC (in patients aged 15–99 years) recorded in 2000–2007 was 88.6%. Age standardized 5-year relative survival was 92.8% for TC patients from Northern Europe, 91.8% for those from Ireland/UK and from Central Europe, 89.1% for patients from Southern and 80.1% for patients from Eastern Europe. Age standardized 5-year relative survival was highest for patients from Sweden (94.6%) and The Netherlands (93.5%) and lowest for those from Bulgaria (71.7%) and Lithuania (67.1%). According to EUROCARE-5, age standardized relative survival for TC patients from the Czech Republic was 84.1% and from the Slovak Republic 90.7%.

Our present study (1993–2007) showed better 5-year OS of germ cell TC patients – 92.21% compared with European mean [16]. Improvement of 5-year survival is shown between 1993 and 1997 (91.23%), 1998–2002 (92.14%) and 2002–2007 (93.05%). It shows a clearly upward trend, and thus its total value in the Slovak Republic ranks it among the developed countries in Europe.

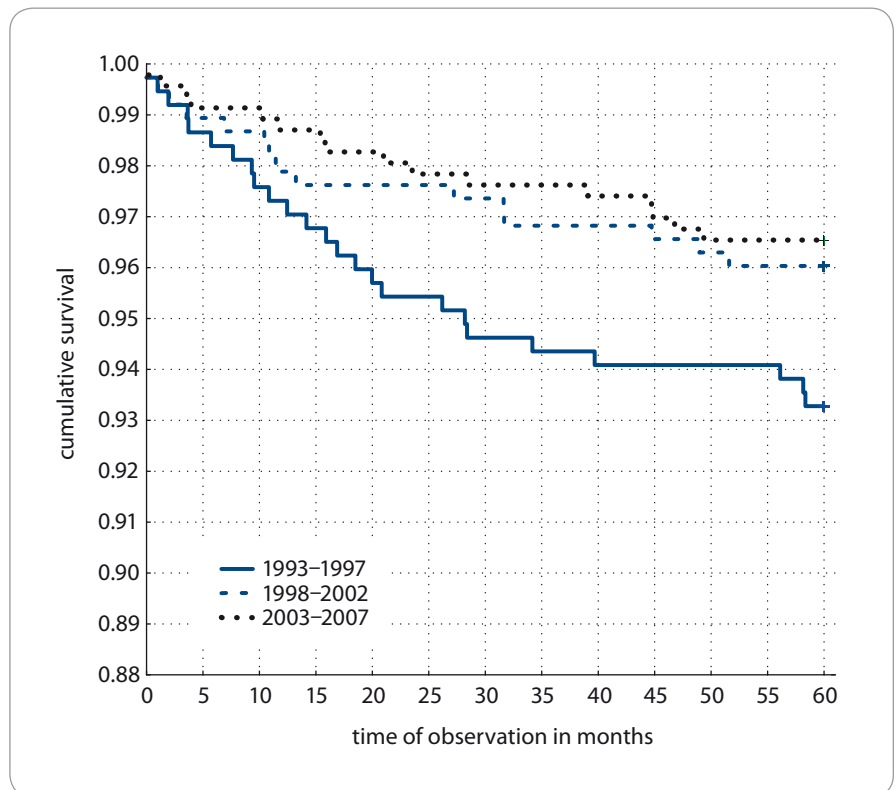
However, in some Baltic countries, the results were poorer, e.g. in Lithuania, it was only 71.2% in the same time-period [17]. Even despite the significant improvement in survival recorded in Estonia, the values of the 5-year relative survival in 2000–2004 are at a relatively low level, 74.5% [18].

Worst trends of survival of TC patients in several countries of Europe (for example even in southern Portugal) may be



Graph 3. Five-year survival for patients with seminoma.

TC – testicular cancer



Graph 4. Five-year survival for patients with non-seminoma.

TC – testicular cancer

dependent especially on TC diagnosis delay [19].

According to a Nordic study [20], the relative 5-year survival of TC patients in 1999–2003 is ranging from 88% in Finland to 94% in Sweden.

The recent Czech analysis showed a statistically significant improvement in the stage-adjusted relative survival of all TC patients between 2000–2004 (92.4%) and 2005–2008 (94.4%) [21]. Moreover, age standardized 5-year relative survival between time periods 2001–2005 (91.2%) and 2006–2010 (92.7%) improved as well [22].

According to published results of the framework of the EUNICE Survival Working Group [23], projections for 2005–2009 suggest that 5-year relative survival will reach 90% in all cancer registries in Europe except Estonia, where survival is projected to be 82%.

In the USA, the 5-year relative survival rate in whites, for all stages, was 95.8% for patients diagnosed 1992–1999, in blacks it was 86.9% [24].

Verhoeven et al. [25] observed improvement in relative survival rate in the Netherlands. TC 5-year survival improved from 95% in 1989–1993 to 98% in 2004–2009.

Potential explanations for the age dependency of prognosis are reduced treatment intensity combined with increased therapy – related toxicity among older men [3,26]. In Germany, worse age specific 5-year relative survival for older patients with non-seminomas was observed (15–24 years 97.1%, 45+ years 86.6%) [3].

Compared with younger patients (age < 40 years) diagnostic age (≥ 40 years) was associated with declined 5-year OS for TC in our study (93.7 vs. 86.8%) between 1993 and 2007.

Conclusion

The main factors contributing to survival improvement of TC patients are – interdisciplinary management involving staging (advances in diagnostic imaging), early treatment, attentive follow-

-up and use of salvage treatments with concentration of TC patients in specialized centers [16]. An increasing concern is the observation that, life threatening conditions such as second malignancy and cardiovascular disease, occur more frequently in TC patients than in the general population. Long-term monitoring of TC survivors is necessary for possibility of the development of late side effects of the treatment modalities [27,28].

References

- Purdue MP, Devessa SS, Sigurdson AJ et al. International patterns and trends in testis cancer incidence. *Int J Cancer* 2005; 115(5): 822–827. doi: 10.1002/ijc.20931.
- Tamini R, Adami HO. Testicular cancer. In: Adami HO, Hunter D, Trichopoulos D (eds). *Textbook of cancer epidemiology*. New York: Oxford University Press Inc; 2002: 429–445.
- Stang A, Jansen L, Trabert B et al. Survival after a diagnosis of testicular germ cell cancers in Germany and the United States, 2002–2006: A high resolution study by histology and age. *Cancer Epidemiol* 2013; 37(4): 492–497. doi: 10.1016/j.canep.2013.03.017.
- Berrino F, De Angelis R, Sant M et al. Survival for eight major cancers and all cancers combined for European adults diagnosed in 1995–99: results of the EURO-CARE-4 study. *Lancet Oncol* 2007; 8(9): 773–783. doi: 10.1016/S1470-2045(07)70245-0.
- Sant M, Allemani C, Santaquilani M et al. EURO-CARE-4. Survival of cancer patients diagnosed in 1995–1999. Results and commentary. *Eur J Cancer* 2009; 45(6): 931–991. doi: 10.1016/j.ejca.2008.11.018.
- Ondrus D, Ondrusova M, Dusek L. Recent patterns in testicular cancer incidence, mortality and survival in the Slovak Republic with reference to international comparison. *Cancer Invest* 2012; 30(8): 545–551. doi: 10.3109/07357907.2012.700984.
- Safaei-Diba C, Plesko I, Hlava P (eds). *Cancer incidence in the Slovak Republic 2007*. Bratislava: National Cancer Registry of Slovakia, National Health Information Center; 2012. 135.
- Hakulinen T, Abeywickrama KH. A computer program package for relative survival analysis. *Comp Progr Biomed* 1985; 19(2–3): 197–207.
- Brenner H, Gefeller O, Hakulinen T. Period analysis for up-to-date cancer survival data: Theory, empirical evaluation, computational realization and applications. *Eur J Cancer* 2004; 40(3): 326–335.
- Verhoeven R, Houterman S, Kiemeny B et al. Testicular cancer: marked birth cohort effects on incidence and a decline in mortality in southern Netherlands since 1970. *Int J Cancer* 2008; 122(3): 639–642. doi: 10.1002/ijc.23061.
- Aareleid T, Sant M, Hédelin G. Improved survival for patients with testicular cancer in Europe since 1978. *Eur J Cancer* 1998; 34(14 Spec. No): 2236–2240.
- Sant M, Aareleid T, Artioli ME et al. Ten-year survival and risk of relapse for testicular cancer: a EURO-CARE high resolution study. *Eur J Cancer* 2007; 43(3): 585–592. doi: 10.1016/j.ejca.2006.11.006.
- Karim-Kos HE, De Vries E, Soerjomataram I et al. Recent trends of cancer in Europe: a combined approach of

incidence, survival and mortality for 17 cancer sites since the 1990s. *Eur J Cancer* 2008; 44(10): 1345–1389. doi: 10.1016/j.ejca.2007.12.015.

14. Sant M, Aareleid T, Berrino F et al. EURO-CARE-3: Survival of cancer patients diagnosed 1990–94 – results and commentary. *Ann Oncol* 2003; 13 (Suppl 5): v61–v118.

15. Matsuda T, Ajiki W, Marugame T et al. Population-based survival of cancer patients diagnosed between 1993 and 1999 in Japan: A chronological and international comparative study. *Jpn J Clin Oncol* 2011; 41(1): 40–51. doi: 10.1093/jjco/hyq167.

16. Trama A, Foschi R, Larrañaga N et al. Survival of male genital cancers (prostate, testis and penis) in Europe 1999–2007. Results from the EURO-CARE-5 study. *Eur J Cancer* 2015; 51(15): 2206–2216. doi: 10.1016/j.ejca.2015.07.027.

17. Juška A, Ulys A, Kairevičė L et al. Survival of patients with testicular cancer in Lithuania during 1999–2002. *Medicina* 2011; 47(1): 52–56.

18. Aareleid T, Gondos A, Brenner H et al. Testicular cancer survival in Estonia; improving but still relatively low. *Acta Oncol* 2011; 50(1): 99–105. doi: 10.3109/0284186X.2010.480981.

19. Passos-Coelho JL, Castro Ribeiro M, Santos E et al. Suboptimal survival of male germ-cell tumors in southern Portugal – a population-based retrospective study for cases diagnosed in 1999 and 2000. *Ann Oncol* 2011; 22(5): 1215–1220. doi: 10.1093/annonc/mdq551.

20. Bray F, Klint A, Gislum M et al. Trends in survival of patients with male genital cancers in the Nordic countries 1964–2003 followed up until the end of 2006. *Acta Oncol* 2010; 49(5): 644–654. doi: 10.3109/02841860903575315.

21. Pavlik T, Majek O, Büchler T et al. Trends in stage-specific population-based survival of cancer patients in the Czech Republic in the period 2000–2008. *Cancer Epidemiol* 2014; 38(1): 28–34. doi: 10.1016/j.canep.2013.11.002.

22. Uher M, Pavlik T, Majek O et al. On the importance of standardization in the assessment of population-based cancer patient survival in the Czech Republic – methodology and results from the Czech National Cancer Registry. *Klin Onkol* 2014; 27(2): 127–135. doi: 10.14735/amko2014127.

23. Gondos A, Bray F, Hakulinen T et al. Trends in cancer survival in 11 European populations from 1990 to 2009: a model-based analysis. *Ann Oncol* 2009; 20(3): 564–573. doi: 10.1093/annonc/mdn639.

24. Biggs ML, Schwartz SM. Differences in testis cancer survival by race and ethnicity: a population-based study, 1973–1999 (United States). *Cancer Causes Control* 2004; 15(5): 437–444. doi: 10.1023/B:CACO.0000036443.95995.40.

25. Verhoeven RH, Karim-Kos HE, Coebergh JW et al. Markedly increased incidence and improved survival of testicular cancer in the Netherlands. *Acta Oncol* 2014; 53(3): 342–350. doi: 10.3109/0284186X.2013.819992.

26. Fossa SD, Cvancarova M, Chen L et al. Adverse prognostic factors for testicular cancer –specific survival: A population-based study of 27,948 patients. *J Clin Oncol* 2011; 29(8): 963–970. doi: 10.1200/JCO.2010.32.3204.

27. Ondrus D, Ondrusova M, Friedova L. Second malignancies in long-term testicular cancer survivors. *Int Urol Nephrol* 2014; 46(4): 749–756. doi: 10.1007/s11255-013-0554-4.

28. Kvamner Ø, Myklebust TÅ, Solberg A et al. Long-term relative survival after diagnosis of testicular germ cell tumor. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2016; 25(5): 773–779. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-15-1153.

Cutaneous and Subcutaneous Metastases of Adenocarcinoma as a Dominant Clinical Manifestation of Malignancy of Unknown Origin – a Case Report

Kožné a podkožné metastázy adenokarcinómu ako dominujúca klinická manifestácia malignity neznámeho pôvodu – opis prípadu

Bartoš V.¹, Hamarová K.²

¹ Department of Pathology, Faculty Hospital with polyclinic Žilina, Slovakia

² Department of Surgery, Faculty Hospital with polyclinic Žilina, Slovakia

Summary

Background: Cutaneous metastases occur in 0.6–10.4% of all patients with underlying malignancy. Among them, the site of origin remains unknown in 4.4–14.5% of all cases. **Case:** The authors describe a 68-year-old man with widespread skin and soft tissue metastases appearing as the first and dominant clinical manifestation of oncologic disease. Physical examination and CT scans revealed multiple cutaneous and subcutaneous tumor nodules arising in the neck, chest, abdomen, lumbar region and right forearm, as well as in the gluteal and iliocostalis muscles and in the proximal part of the left thigh. Light microscopy confirmed a metastasis of adenocarcinoma exhibiting a tubuloglandular pattern and a slight mucin production. It was immunoreactive for cytokeratin 7 and carcinoembryonic antigen and negative for cytokeratin 20, CDX-2, TTF-1 and prostatic specific antigen. Based upon the histomorphology and immunophenotype, the pathologist suggested a primary tumor in the stomach or biliopancreatic tract. However, further clinical workup did not clearly identify a primary lesion. **Conclusion:** Determining the origin of cutaneous metastases might be a challenging issue for both clinicians and pathologists. The case we describe is uncommon because widespread skin and subcutaneous metastases appeared as the first and dominant clinical sign of adenocarcinoma, the origin of which has not been established. This unusual tumor behavior may suggest that a spreading and colonization of metastatic cancer cells in the skin and soft tissue may be a specific biologic process.

Key words

skin metastases – malignancy of unknown origin – adenocarcinoma

The authors would like to thank to all the doctors in the Faculty Hospital in Žilina, who participated in diagnostic and therapeutic process of the present patient.

Autoři děkují všem lékařům z Fakultní nemocnice s poliklinikou Žilina, kteří se podíleli na procesu diagnostiky a terapie uvedených pacientů.

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.



MUDr. PhDr. Vladimír Bartoš, PhD.
Faculty Hospital with polyclinic
Žilina
Vojtecha Spanyola 43
012 07 Žilina
Slovakia
e-mail: vladim.bartos@gmail.com

Submitted/Obdrženo: 18. 8. 2017

Accepted/Přijato: 25. 10. 2017

doi: 10.14735/amko2018143

Súhrn

Východiská: Kožné metastázy postihujú 0,6–10,4 % všetkých pacientov s malígnym nádorovým ochorením. Približne u 4,4–14,5% z nich ostane primárne origo neobjasnené. **Prípad:** Autori opisujú prípad 68-ročného muža s rozsiahlymi nádorovými metastázami v koži a mäkkých tkanivách, ktoré predstavovali prvú a dominujúcu klinickú manifestáciu neznámeho onkologického ochorenia. Fyzikálne a CT zobrazovacie vyšetrenia potvrdili mnohopočetné kožné a podkožné uzly na krku, hrudníku, bruchu, drierkovej oblasti a pravom predlakti, ako aj v sedacom a bedrovom svale a mäkkých tkanivách proximálnej časti ľavého stehna. Mikroskopické vyšetrenie odhalilo metastázu adenokarcinómu rastúceho v tubuloglandulárnych formáciách s ľahkým stupňom hlienoprodukcie. Imunohistochemicky bol pozitívny na cytokeratín 7 a karcinoembryonálny antigén a negatívny na cytokeratín 20, CDX-2, TTF-1 a prostatický špecifický antigén. Na základe histomorfológie a imunofenotypu patológ zvažoval origo v žalúdku alebo biliopankreatickom trakte. Ďalšími vyšetreniami sa však primárnu léziu nepodarilo jednoznačne identifikovať. **Záver:** Stanovenie origa kožných metastáz môže byť náročnou problematikou pre klinikov aj patológov. Nami opisovaný prípad je nezvyčajný, nakoľko rozsiahle kožné a podkožné metastázy predstavovali prvú a dominujúcu klinický prejav adenokarcinómu, ktorého origo ostalo neobjasnené. Toto zvláštne správanie nádoru môže napovedať, že šírenie a kolonizácia metastatických karcinómových buniek do kože a mäkkých tkanív môže byť špecifický biologický proces.

Kľúčové slová

kožné metastázy – malignita neznámeho pôvodu – adenokarcinóm

Introduction

Cutaneous metastases occur in 0.6–10.4% of all patients with underlying malignant neoplasm [1–3]. However, an accurate evaluation of the prevalence is difficult, because it requires a long follow-up period, which is not possible in many oncologic patients. In theory, any malignant tumor can spread to the skin, but it is quite a rare finding in a routine clinical practice [4,5]. Grossly, the skin metastases do not have a uniformly characteristic appearance, which may vary depending on the histologic type and location of origin-

ing malignancy [1,4–7]. They usually manifest as a firm, painless and sometimes ulcerated cutaneous or subcutaneous nodule(s) of various size and color [4,5]. However, the clinical presentation may be highly variable and can often mimic other nosologic entities [4–9], leading to incorrect initial treatment and management. Most cutaneous metastases (73–88%) are found in patients with a known primary origin [3,6]. Occasionally, this may be also the first clinical manifestation of an occult primary malignancy [3,6,9,10]. Such cases comprise approximately 12–26.8%

of all individuals with cutaneous metastases [3,6]. In some instances, the site of origin remains uncertain despite extensive clinical workup [3,6,7,11]. These cases represent a substantial diagnostic challenge for clinicians and pathologists. In the Czechoslovak medical literature, a few case reports dealing with skin metastases [8–10,12,13] have been published so far. Herein, we describe an additional new case of a patient with multiple cutaneous and subcutaneous metastases of adenocarcinoma as a dominant clinical manifestation of malignancy, the origin of which has remained unknown.

Case presentation

A 68-year-old man (casus socialis) was admitted (September, 2016) to the Neurology Department for intense back pain in the lumbosacral region, irradiating to the left lower limb. Clinical anamnesis revealed a history of previously treated chronic duodenal ulcer and pulmonary tuberculosis, as well as chronic ethylism and nicotinism. No oncologic disease was known until that time. On initial physical examination, multiple cutaneous and subcutaneous nodosities of various size were visible in the neck, chest, abdominal wall, lumbar region and in the right forearm. The patient claimed the lesions have been present for the last 3–4 months and grew progressively. They were painless with a slightly brown-reddish color. At the first glance, they appeared like inflamed



Fig. 1. Resection specimen with a visible large tumor mass (post fixation in formalin).

atheromas. The size of the lesions varied from about 1–8 cm in the largest diameter. The biggest one (7 × 7 × 5 cm) arose in the right lumbar region. It was fixed by touch with a livid surface, surrounded by erythematous skin. On computed tomography (CT), the lesion was oval, well demarcated and located in the paravertebral subcutaneous soft tissue in the vicinity of L3. Based on CT scan findings and locality, the clinical impression was a neurofibroma. With respect to pronounced symptomatology and unclear etiology of disease, a biopsy was indicated. The presumptive clinical diagnoses were as follows: subcutaneous atheromas or abscesses, multiple tumor metastases of unknown origin or secondary tuberculosis infiltrates (as the patient suffered from lung tuberculosis in the past). A probatory biopsy of the lesion arising in the right lumbar region was done, and the sample was sent for histopathology.

Grossly, the resection specimen consisted of the skin and subcutis with a visible superficial „bulge“ covered by intact epidermis. Longitudinal section revealed a well-circumscribed white-yellowish tumor mass measuring 42 mm (Fig. 1). Light microscopy confirmed a metastatic adenocarcinoma exhibiting a tubuloglandular microarchitecture (Fig. 2, Fig. 3). The tumor was centered in the dermis and subcutis without an epidermal involvement. There was a typical narrow zone of unaffected papillary dermis separating the tumor structures from the epidermis (so-called *grenz zone*). Immunohistochemically, the neoplastic cells were strongly reactive for cytokeratin 7 (Fig. 4) and carcinoembryonic antigen. The other markers we investigated (i.e. cytokeratin 20, CDX-2, TTF-1 and prostatic specific antigen) were negative. There was a slight intracellular and intraluminal mucin production (Fig. 5). The origin of adenocarcinoma was not possible to define, but based upon the histomorphology and immunophenotype, the pathologist suggested a primary in the stomach or biliopancreatic tract.

Subsequently, the patient underwent further clinical and imaging examinations. New CT scans showed other

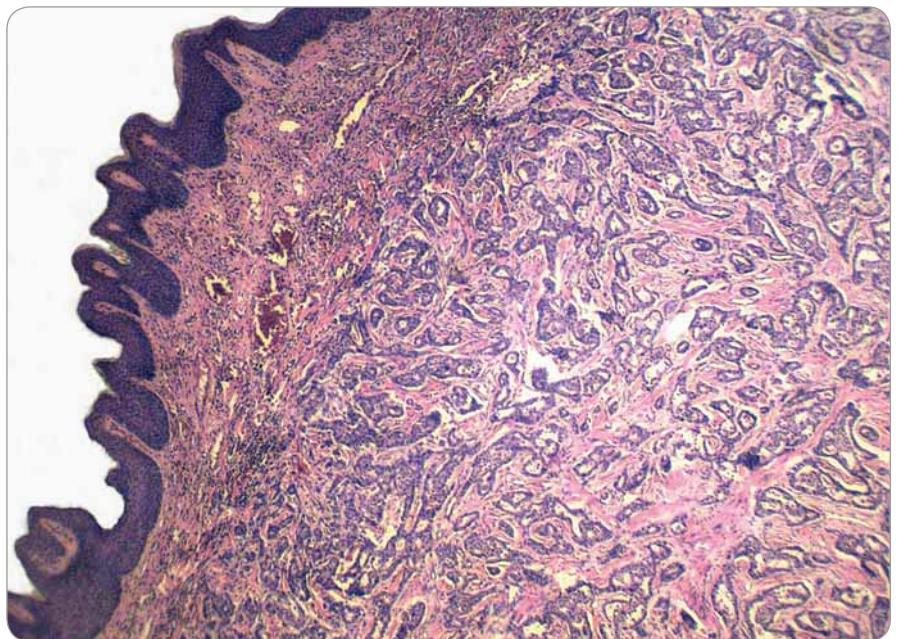


Fig. 2. Metastatic infiltration of the dermis, while the epidermis is intact (hematoxylin and eosin, magnification 40×).

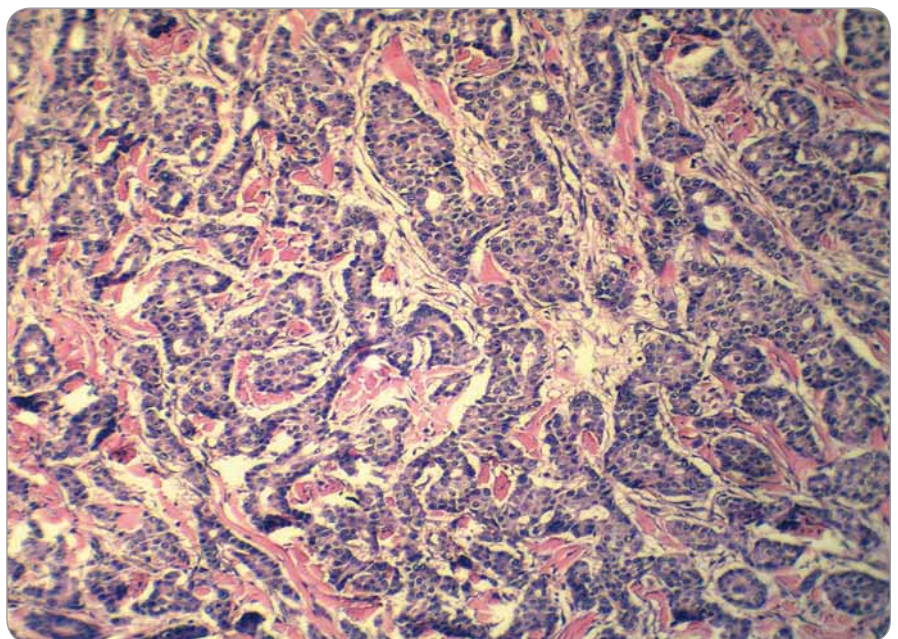


Fig. 3. Detail on tubuloglandular microarchitecture of adenocarcinoma (hematoxylin and eosin, magnification 200×).

tumor lesions in the skin and underlying soft tissues. One of the largest one was found in the left gluteal muscle, it measured 7 × 2.6 cm and began to erode the iliac crest. The other lesions were present in the left iliac muscle, around inferior ramus of the pubic bone and in the proximal part of the left thigh, accompanied by destruction

of the edge of femur. Probably these tumor masses resulted in lumbosacral pain, irradiating to the lower extremity. In both lungs, there were emphysema and post-inflammatory fibroadhesive changes with sporadic calcifications. In addition, two subpleural nodules with a diameter of 9 mm and 8 mm were visible in the right and left lung,

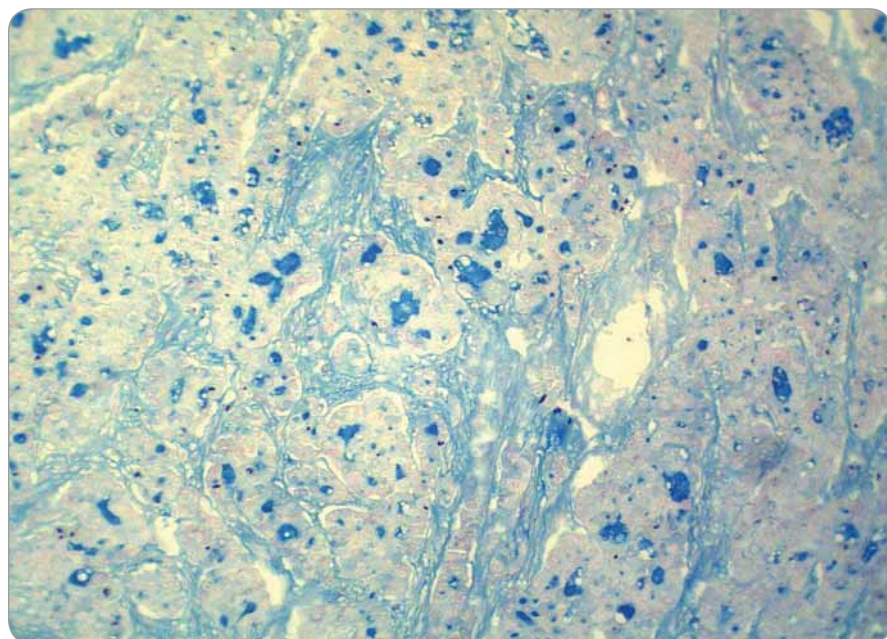


Fig. 4. Intraluminal mucin production within tumor tissue (alcian blue, magnification 200x).

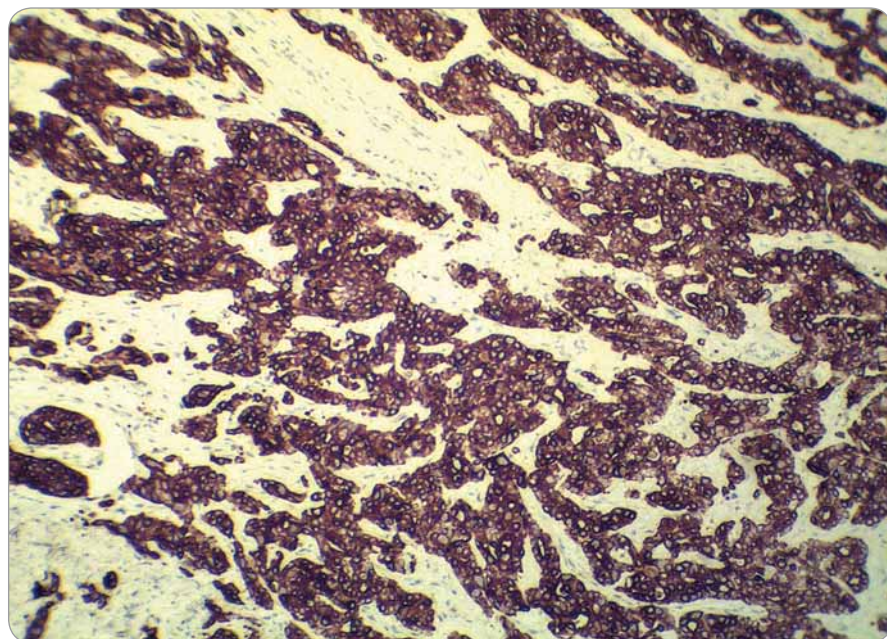


Fig. 5. Strong immunoreactivity of adenocarcinoma for cytokeratin 7 (clone OV-TL 12/30, Dako, magnification 200x).

resp. The liver, gallbladder, extrahepatic biliary ducts, stomach, spleen and adrenals were without noticeable tumor deposits. In the left kidney, a solitary hyperdense nodule (18mm in diameter) was found. The posterior wall of urinary bladder was thickened and exhibited a superficial tumor mass (up to 3.6 cm), which has propagated into the lumen.

Transurethral resection of the bladder was performed and histopathology showed a typical „high-grade“ non-invasive papillary urothelial carcinoma. Thus, this tumor did not correspond to metastases. Endoscopy of the esophagus, stomach and duodenum did not reveal persuasive tumor changes. Nevertheless, biopsy samples were

obtained from these organs for histopathology. A light microscopy confirmed a mild antral gastritis with no intestinal metaplasia or dysplasia.

During a stay in the hospital, cutaneous and subcutaneous tumor masses progressed and some became ulcerated. Systemic chemotherapy (CDDP + gemcitabine) was started. However, the situation was complicated by an accidental fall to the ground with a subtrochanteric fracture of the left femur. Since then, the patient's health condition rapidly worsened and he died a few days after initiation of the first cycle of chemotherapy. As the clinical workup did not clearly explore a primary tumor, it was classified as generalized metastatic adenocarcinoma of unknown origin. Autopsy was not performed.

Discussion

Cutaneous metastases from visceral malignancies are important challenge in clinicopathologic practice for many reasons. Because of their variable clinical appearance and manifestation, frequent delays and failure in correct diagnosis do occur. This mainly happens in a situation when skin metastasis is the first apparent symptom of clinically silent visceral cancer. Even after exploring a biopsy-proven diagnosis, a wide spectrum of various internal malignancies come into consideration. A disclosure of primary lesion is often problematic and requires a comprehensive differential diagnostic approach. The relative frequencies of metastatic skin disease tend to correlate with the frequency of the different types of primary cancer in each gender [4,5]. Thus, the most common primary site of cutaneous metastases is the breast cancer in females and the lung and colonic carcinomas in males [3,4,6,7]. However, despite careful clinical and laboratory exams, it is not possible to identify a primary tumor in certain individuals. Such cases account for 4.4–14.5% of all patients with cutaneous metastases [3,6,7,11]. Our present case may be included into that category, as we were not able to establish clearly the origin of malignancy. In particular, an interesting feature was the prevailing skin manifestation of disease with

rapidly growing cutaneous and subcutaneous tumor masses arising throughout the body.

The mechanisms that predispose certain internal neoplasms to metastasize to the skin and soft tissue have not been fully elucidated. It is possible that the skin may provide a favorable microenvironment for the colonization and survival of only certain types of cancer cells, which preferentially metastasize to this organ [2]. The interactions between neoplastic cells and certain factors secreted from the skin or subcutaneous tissue components may play a crucial role in the skin homing mechanism of metastatic cells [2].

From a practical point of view, it should be noted that clinical manifestation of cutaneous metastases may be variable and the lesions can closely simulate not only various primary skin tumors, but even benign skin conditions, such as rash, erythema, edema or induration [4–9]. In this regard, interesting case reports have been published by Czech [9] and Slovak authors [8]. Dedková and Pock [9] described an old woman with massive cutaneous erythema from metastatic gastric adenocarcinoma, which had been the first sign of this malignancy. Initially, the lesion was considered and treated as mycotic skin infection. Mego et al [8] reported a 55-year-old man with lung adenocarcinoma who

had developed inflammatory skin metastases as the first sign of disease progression after previous response to chemotherapy. He experienced erythematous lesion in the left arm, which had also been initially diagnosed and treated as local cutaneous infection. In our present case, several clinical diagnoses were considered, although one of the most probable seemed to be an oncologic disease.

From a clinical perspective, cutaneous metastases generally herald a poor prognosis [1,4,5]. The average survival time of the patients is only a few months after diagnosis [1,4], which was also documented in our present case. These data indicate they are a hallmark of aggressive and widespread malignancy, often in terminal stage of the disease.

In conclusion, determining the origin of cutaneous metastases might be a challenging issue for both, clinicians and pathologists, especially when there is no primary history. The case we describe is uncommon because widespread skin and subcutaneous metastases appeared as the first and dominant clinical sign of adenocarcinoma, the origin of which has not been established. This unusual tumor behavior may suggest that a spreading and colonization of metastatic cancer cells in the skin and soft tissue may be a specific biologic process, determined

by unique molecular epithelial-mesenchymal interactions.

References

- Alcaraz I, Cerroni L, Rütten A et al. Cutaneous metastases from internal malignancies: a clinicopathologic and immunohistochemical review. *Am J Dermatopathol* 2012; 34(4): 347–393. doi: 10.1097/DAD.0b013e31823069cf.
- Zaky AH, El-Wanis ME, Hamza H et al. Cutaneous metastases from different internal malignancies in Egypt. *Middle East J Cancer* 2010; 1(3): 135–139.
- Handa U, Kundu K, Dimri K. Cutaneous metastasis: a study of 138 cases diagnosed by fine-needle aspiration cytology. *Acta Cytol* 2017; 61(1): 47–54. doi: 10.1159/000453252.
- Pizinger K. Kožní metastázy. *Onkologie* 2010; 4(4): 237–240.
- Pizinger K. Kožní projevy onkologických nemocí. In: Cetková P, Pizinger K, Štork J. *Kožní změny u interních onemocnění*. 1 vydání. Praha: GRADA 2010: 181–195.
- Sariya D, Ruth K, Addams-McDonnell R et al. Clinicopathologic correlation of cutaneous metastases: experience from a cancer center. *Arch Dermatol* 2007; 143(5): 613–620. doi: 10.1001/archderm.143.5.613.
- Sittart JA, Senise M. Cutaneous metastasis from internal carcinomas: a review of 45 years. *An Bras Dermatol* 2013; 88(4): 541–544. doi: 10.1590/abd1806-4841.20131165.
- Mego M, Sycova-Mila Z, Martanovic P et al. Inflammatory skin metastasis as a first sign of progression of lung cancer – a case report. *Klin Onkol* 2010; 23(6): 449–451.
- Dedková V, Pock L. Kožní metastázy karcinomu žaludku. *Dermatol Praxi* 2014; 8(1): 26–28.
- Kuklová M, Urbanček S, Menšíková J et al. Kožné metastázy ako iniciálny prejav karcinómu z buniek obličky. *Čes-slov Derm* 2009; 84(5): 271–274.
- Azoulay S, Adem C, Pelletier FL et al. Skin metastases from unknown origin: role of immunohistochemistry in the evaluation of cutaneous metastases of carcinoma of unknown origin. *J Cutan Pathol* 2005; 32(8): 561–566. doi: 10.1111/j.0303-6987.2005.00386.x.
- Duranovič A, Tatarková I, Pizinger K. Kožní metastázy karcinomu ovária. *Onkologie* 2010; 4(4): 241–242.
- Diamantová D. Sekundární lymfedém a kožní metastázy karcinomu prsu. *Remedia* 2010; 20(4): 248–249.

Informace z České onkologické společnosti

Zápis ze schůze výboru České onkologické společnosti konané 27. 2. 2018 ve FN Motol v Praze naleznete na www.linkos.cz.

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 2018.
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.

VYHLÁŠENÍ VÝSLEDKŮ ZA ROK 2017

Vítězným autorským týmem je:

Ondrušová M., Waczulíková I., Lehotská V., Zelený T., Ondruš D.

**Management of clinical stage I nonseminomatous germ cell testicular tumors.
A 25-year single center experience**

Clinical Genitourinary Cancer 2017; 15(6): e1015–e1019.

citovaná práce z Klinické onkologie

Pokrivčák T., Lakomý R., Vyzula R.

News in adjuvant therapy of non-seminomatous germ cell testicular tumors of stage I
Klin Onkol 2016; 29(2): 107–110.

Redakce bude kontaktovat korespondenčního autora článku. Blahopřejeme!

**KLINICKÁ
ONKOLOGIE**


ambit media®

Aktuality z odborného tisku

Extended Adjuvant Intermittent Letrozole Versus Continuous Letrozole in Postmenopausal Women with Breast Cancer (SOLE): A Multicentre, Open-label, Randomised, Phase 3 Trial

Colleoni M, Luo W, Karlsson P et al.

Lancet Oncol 2018; 19(1): 127–138. doi: 10.1016/S1470-2045(17)30715-5.



U zvířecích modelů karcinomu prsu může být rezistence k nepřetržitému užívání letrozolu zvrácena jeho intermitentním podáváním. Prodloužené přerušované užívání adjuvantního letrozolu by mohlo zlepšit výsledný efekt léčby karcinomu prsu ve srovnání s kontinuálním užíváním letrozolu u postmenopauzálních žen. Do multicentrické, otevřené, randomizované paralelní studie SOLE fáze III, prováděné ve 22 zemích bylo zařazeno v období 2007–2012 4 884 postmenopauzálních žen s karcinomem prsu s pozitivními hormonálními receptory, pozitivními lymfatickými uzlinami, které byly léčeny lokální terapií (operace s radioterapií nebo bez ní) a dokončily 4–6 let adjuvantní endokrinní terapie. Náhodně byly rozděleny 1 : 1 do skupiny buď kontinuálního užívání letrozolu (2,5 mg perorálně po dobu 5 let) nebo intermitentního užívání letrozolu (2,5 mg/den po dobu 9 měsíců, po kterých následuje 3měsíční pauza v letech 1–4 a pak 2,5 mg/den během všech 12 měsíců roku 5). Celkem bylo hodnoceno 4 851 žen – ve skupině intermitentního užívání letrozolu 2 425, s kontinuálním použitím letrozolu 2 426 pacientek. Po mediánu follow-up 60 měsíců bylo přežití bez známek onemocnění 85,8 % (95% CI 84,2–87,2) ve skupině s intermitentním letrozolem ve srovnání s 87,5 % (86,0–88,8) ve skupině s kontinuálním letrozolem (HR 1,08; 95% CI 0,93–1,26; p = 0,31). Nežádoucí účinky byly hlášeny podle očekávání a byly podobné mezi oběma skupinami. Nejčastějšími nežádoucími účinky byly hypertenze (584 (24 %) z 2 417 v intermitentní skupině s letrozolem proti 517 (21 %) z 2 411 u kontinuální skupiny) a artralgie (136 (6 %) vs. 151 (6 %)). Celkem 54 pacientů (24 (1 %) v intermitentní skupině a 30 (1 %) u letrozolové skupiny s nepřetržitým užíváním) prodělalo cerebrovaskulární ischemii, 16 (9 (< 1 %) vs. 7 (< 1 %)) utrpělo hemoragii do CNS a u 40 (19 (1 %) vs. 21 (1 %)) pacientek byla diagnostikována srdeční ischemie. Celkem 23 (< 1 %) z 4 851 pacientek zemřelo během studie (13 (< 1 %) z 2 417 pacientek ve skupině s intermitentním letrozolem a 10 (< 1 %) z 2 411 žen skupiny s kontinuálním podáváním letrozolu). U postmenopauzálních žen s karcinomem prsu a pozitivními hormonálními receptory nezlepšilo intermitentní podávání letrozolu přežití bez onemocnění ve srovnání s jeho kontinuálním užíváním. Alternativní schéma rozšířené adjuvantní endokrinní léčby letrozolem však může být akceptovatelné. Výsledky studie SOLE tak podporují bezpečnost dočasných léčebných přestávek u vybraných pacientů.

Radical Prostatectomy, External Beam Radiotherapy, or External Beam Radiotherapy With Brachytherapy Boost and Disease Progression and Mortality in Patients with Gleason Score 9–10 Prostate Cancer

Kishan AU, Cook RR, Ciezki JP et al.

JAMA 2018; 319(9): 896–905. doi: 10.1001/jama.2018.0587.



Optimální léčba lokalizovaného karcinomu prostaty Gleason skóre 9–10 zatím není známa. Cílem následující studie bylo porovnat klinické výsledky pacientů s karcinomem prostaty Gleason skóre 9–10 po definitivní léčbě, radikální prostatektomií (RP), zevní radioterapií (EBRT) s terapií androgenní deprivací nebo EBRT plus brachyterapie (EBRT + BT) společně s androgenní deprivací. Z celkového počtu 1 809 mužů, 639 absolvovalo RP, 734 nemocných bylo léčeno EBRT a 436 kombinací EBRT + BT. Medián věku byl 61 let, medián follow-up 4,2; 5,1 a 6,3 let, resp. V průběhu následujících 10 let zemřelo 91 pacientů, kteří podstoupili RP, 186 mužů po EBRT a 90 po kombinaci terapií EBRT + BT. Pětiletá úmrtnost na karcinom prostaty byla po provedení RP 12 % (95% CI 8–17 %); EBRT 13 % (95% CI 8–19 %) a EBRT + BT 3 % (95% CI 1–5 %). Kombinační léčba EBRT + BT byla spojena s významně nižší mortalitou na karcinom prostaty než RP nebo EBRT. Pětiletá incidence vzdálených metastáz byla u mužů, kteří absolvovali RP 24 % (95% CI 19–30 %); u pacientů po EBRT 24 % (95% CI 20–28 %); a u nemocných po kombinační léčbě EBRT + BT 8 % (95% CI 5–11 %). EBRT + BT tak byl spojen se signifikantně nižším vznikem vzdálených metastáz. U pacientů s lokalizovaným karcinomem prostaty Gleason skóre 9–10 byla kombinační léčba EBRT + BT s androgen deprivací spojena se signifikantně lepší mortalitou specifickou pro karcinom prostaty a delším časem do vzniku vzdálených metastáz ve srovnání s EBRT v kombinaci s hormonální léčbou nebo s radikální prostatektomií.

Increased Reporting of Fatal Immune Checkpoint Inhibitor-associated Myocarditis

Moslehi JJ, Salem JE, Sosman JA et al.

Lancet 2018; 391(10124): 933. doi: 10.1016/S0140-6736(18)30533-6.



Checkpoint inhibitory významně zlepšily klinické výsledky u různých typů zhoubných nádorů a stále více se používají i v kombinaci. Mohou však vést k závažným nežádoucím účinkům. Byly hlášeny případy fulminantních příznaků myokarditidy související s touto imunoterapií. Autoři pátrali v databázích VigiBase, databáze WHO o individuálních případech závažných nežádoucích účinků, a v nich našli 101 případů závažné myokarditidy po léčbě checkpoint inhibitory. Tito nemocní měli medián věku 69 let (rozmezí 20–90 let), převážně se jednalo o pacienty s maligním melanomem a zhoubnými nádory plic. U 3/4 pacientů nebylo hlášeno, že by užívaly souběžně kardiovaskulární nebo antidiabetické léky. Celkem 58 (57 %) ze 101 pacientů bylo léčeno monoterapií anti-PD-1, zatímco 27 (27 %) dostávalo kombinovanou léčbu anti-PD-1 nebo PD-L1 + anti-CTLA-4. Informace o dávkování byly k dispozici pouze u 59 pacientů, 38 (64 %) z těchto pacientů dostalo pouze jednu nebo dvě dávky před nástupem myokarditidy. Medián nástupu myokarditidy byl 27 dní (rozmezí 5–155 dní), u 25 (76 %) případů došlo k projevu kardiální toxicity v prvních 6 týdnech léčby. Navíc se souběžně objevila i těžká imunitní reakce u 42 (42 %) ze 101 pacientů, nejčastěji v podobě myozitidy (n = 25) a myasthenie gravis (n = 11). Ze všech případů závažné myokarditidy došlo k úmrtí u 46 (46 %) ze 101 pacientů. Míra úmrtnosti byla vyšší u kombinace anti-PD-1 nebo PD-L1 + anti-CTLA-4 než v případě monoterapie anti-PD-1 nebo PD-L1 (67 vs. 36 %; p = 0,008). Úmrtí se vyskytla také u 60 % pacientů s myokarditidou související s monoterapií ipilimumabem. Pozoruhodně došlo také k podstatnému nárůstu výskytu hlášení těchto nežádoucích účinků v čase (76 %, n = 77 v roce 2017), které je dáno zvýšeným používáním checkpoint inhibitorů.

Durable Clinical Benefit with Nivolumab Plus Ipilimumab in DNA Mismatch Repair-Deficient/Microsatellite Instability-high Metastatic Colorectal Cancer

Overman MJ, Lonardi S, Wong KYM et al.

J Clin Oncol 2018; 36(8): 773–779. doi: 10.1200/JCO.2017.76.9901.



Nivolumab ve studiích prokázal efektivitu u pacientů s dMMR/s vysokou mikrosatelitovou nestabilitou (MSI-H) metastatickým kolorektálním karcinomem (mCRC); nivolumab a ipilimumab by pak mohly tyto výsledky ještě zlepšit. Ve studii CheckMate-142 byla podávána kombinace nivolumab + ipilimumab, v dávce nivolumab 3 mg/kg a ipilimumab 1 mg/kg 1× za 3 týdny (4 aplikace) a následně nivolumabem 3 mg/kg 1× za 2 týdny. Primárním cílem byla celková odpověď na terapii. U 119 pacientů bylo 76 % léčeno ≥ dvěma liniemi předchozí systémové terapie. Při mediánu sledování po 13,4 měsících byla celková odpověď 55 % (95% CI 45,2–63,8) a míra kontroly nemoci ≥ 12 týdnů byla 80 %. Střední doba trvání odpovědi nebyla dosažena. Míry přežití bez progresu byly 76 % (9 měsíců) a 71 % (12 měsíců); celkové přežití za stejnou dobu bylo 87 a 85 %. Nežádoucí příhody související s léčbou stupně 3 a 4 se vyskytly u 32 % pacientů a byly zvládnutelné. Nivolumab a ipilimumab prokázali v této studii vysokou míru odpovědi, přežití bez progresu onemocnění a zvládnutelnou toxicitu. Nepřímá srovnání naznačují, že kombinovaná léčba poskytuje lepší účinnost oproti monoterapii a má příznivý profil přínosu a rizika. Nivolumab + ipilimumab jsou slibné nové možnosti léčby u pacientů s mCRC dMMR/MSI-H.

Články vybrala a komentovala

MUDr. Jana Halámková, Ph.D.

Klinika komplexní onkologické péče, Masarykův onkologický ústav, Brno

Vyhlášení výsledků soutěže

O NEJLEPŠÍ PRÁCI V ROCE 2017

publikovanou v časopise **Klinická onkologie**

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

Vítězi soutěže se stali

v kategorii **Původní práce**

Houdova Megova M., Drabek J., Dwight Z., Trojanec R., Koudelakova V., Vrbkova J., Kalita O., Mlcochova S., Rabcanova M., Hajduch M.

za práci

Isocitrate Dehydrogenase Mutations are Better Prognostic Marker than O6-methylguanine-DNA Methyltransferase Promoter Methylation in Glioblastomas – a Retrospective, Single-centre Molecular Genetics Study of Gliomas

Klin Onkol 2017; 30(5): 361–371

v kategorii **Přehled**

Ryška A., Horký O., Berkovcová J., Tichá I., Kalinová M., Matějčková M., Bóday A., Drábek J., Martínek P., Šimová J., Siegllová K., Vošmiková H.

za práci

Maligní melanom – od klasické histologie k molekulárně genetickému testování

Klin Onkol 2017; 30(3): 182–189

a v kategorii **Kazuistika**

Špótová A., Husáková K., Hrašková A., Mikesková M., Puškáčová J., Hederová S., Jamárik M., Rabenseifertová E., Jalovecká Z., Kolenova A., Šubová Z.

za práci

Odmietnutie liečby v detskej onkológii

Klin Onkol 2017; 30(5): 380–385

Redakce bude kontaktovat první autory.

Ceny budou předány na slavnostním večeru, který se bude konat při příležitosti pořádání XLII. Brněnských onkologických dnů a XXXII. Konference pro nelékařské zdravotnické pracovníky dne 17. 5. 2018.

Vítězům blahopřejeme!

Partner v roce 2018



Diagnostic, Prognostic and Predictive Immunohistochemistry in Malignant Melanoma of the Skin

Diagnostická, prognostická a prediktivní imunohistochemie při maligním melanomu kůže

Roncati L.

Department of Diagnostic and Clinical Medicine and of Public Health, Institute of Pathology, University of Modena and Reggio Emilia, Modena, Italy

Immunohistochemistry (IHC) is an excellent technique for labeling detection of selected cell proteins, which exploits the principle of antigen-antibody specific binding in biological tissues [1]. First implemented by Albert Coons in 1941 [2], over time it had achieved great success for diagnostic purposes (diagnostic IHC), then for prognostic ones (prognostic IHC) [3]. Several molecular pathways are altered in skin melanoma and non-melanoma skin cancers and some of these can be targeted in oncotherapy [1]. Therefore, IHC application has increased and can predict those tumors which are likely to respond to targeted cancer therapy (predictive IHC), by detecting the presence or high expression levels of altered gene products.

Diagnostic IHC

Among the most used diagnostic markers for melanoma cells, there are: anti-S100, anti-MelanA, anti-MITF (microphthalmia transcription factor), anti-Sox10 (sry-related hmg-box 10), anti-Melanosome and melanoma cocktail. Quite similar to calmodulin, S100 protein is a low-molecular weight protein characterized by two calcium-binding sites in a „helix-loop-helix“ conformation [4]. It in fact plays crucial roles in calcium homeostasis, cytoskeleton dynamics, protein phosphorylation, cell growth,

cell differentiation and inflammatory response [5]. It is soluble in 100% ammonium sulphate at neutral pH, hence its acronym [4]. S100 protein is not specific for the melanocyte lineage, being present in all cells derived from the neural crest [6]. MelanA protein, also known as MART1 (melanoma antigen recognized by T cells 1), is a transmembrane protein made up by 118 amino acids; its fragment consisting of nine amino acids (27–35) is bound by MHC (major histocompatibility complex) class I molecules, which present it to cytotoxic T-lymphocytes on the cell surface [7]. The MelanA antigen is more specific for the melanocyte lineage than S100, and its diagnostic utility resides in staining melanoma cells in a homogeneous manner from the epidermis downward, allowing easy recognition of lentiginous or pagetoid diffusion and sub-epidermal foci of microinvasion [1]. MelanA expression is regulated by MITF, which is a basic “helix-loop-helix” leucine zipper transcription factor involved in lineage-specific regulation pathways of many cell types, melanocytes included [8]. In humans, mutations of *MITF* can lead to melanoma, Waardenburg syndrome and Tietz syndrome [9]. MITF IHC is sensitive but not specific since it can be expressed also by osteoclasts and mast cells [10]. In melanocytic cells, there is

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

Autor deklaruje, že v souvislosti s předmětem studie nemá 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.



Dr. Luca Roncati, MD, PhD
Department of Diagnostic and Clinical Medicine and of Public Health
Institute of Pathology
University of Modena and Reggio Emilia
Policlinico Hospital
I-41124 Modena (MO), Italy
e-mail: emailmedical@gmail.com

Submitted/Obdrženo: 25. 12. 2017

Accepted/Přijato: 4. 1. 2018

doi: 10.14735/amko2018152

evidence that *MITF* may also regulate the *SOX10* gene expression and, therefore, *SOX10* IHC has been recently introduced for diagnostic purposes [11]. Melanosomes are cell organelles deputy to synthesis and storage of melanin in normal melanocytes and melanoma

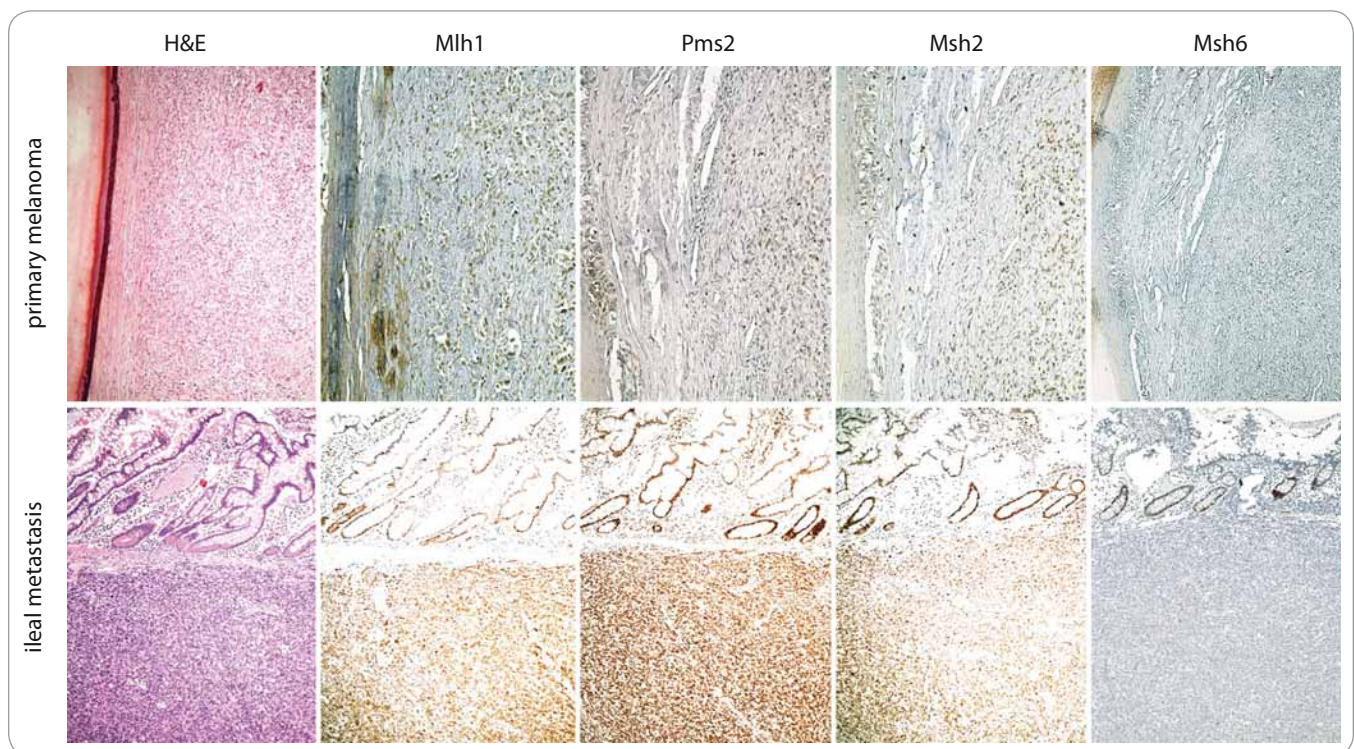


Fig. 1. Subungual melanoma with metastatic spreading to brain and ileum in a middle aged female patient treated with significant benefit by pembrolizumab – if compared to Mlh1, Pms2 and Msh2 status, an exclusive loss of IHC expression for Msh6 protein has been ascertained. The ileal metastasis, here illustrated, and the brain one show the same IHC profile of the primary melanoma; they are in fact characterized by an exclusive loss of IHC expression for Msh6 protein, if compared to Mlh1, Pms2 and Msh2 status. At present, the patient is still alive and in complete response with a progression free survival and an overall survival of 956 days and 2546 days, resp. (H&E – hematoxylin and eosin; Mlh1 – clone M1, Ventana; Pms2 – clone EPR3947, Ventana; Msh2 – clone G219-1129, Ventana; Msh6 – clone 44, Ventana; chromogen – 3,3' diaminobenzidine tetrahydrochloride hydrate; original magnification – 10×).

cells, from which melanin can be released to adjacent keratinocytes [12]. Hmb45 (human melanoma black 45) is the monoclonal antibody which reacts precisely against melanosomes [13], its staining pattern is usually zonal/shallow in nevus and diffuse/deep in melanoma, making differential diagnosis easier [13]. Inside melanosomes, the melanin production is catalyzed by the rate-limiting oxidative enzyme tyrosinase – for this reason, the anti-Tyrosinase monoclonal antibody is one of the melanoma cocktail components, together with Mart1 and Hmb45 [14].

Prognostic IHC

IHC has a limited value in determining the prognosis of skin melanoma, which is in fact related to microstaging attributes, such as Breslow's depth, Clark's level, ulceration, regression, mitotic hot-spot, growth phase, lymphovascular invasion and tumor-infiltrat-

ing lymphocytes [15–23]. The current AJCC (American Joint Committee on Cancer) staging system uses Breslow's depth and ulceration as main prognostic determinants [24–26]. In this context, IHC can facilitate a better definition of the abovementioned histopathological attributes; for example, juxtaposing the labeling index of Ki67 proliferative antigen to the mitotic count [1], or disclosing the type of growth phase by evaluating the expression of the anti-apoptotic molecule cyclin D1 [1,27–30], or identifying the subtypes and rates of lymphocytes around and inside the tumor, with particular reference to CD4–CD8+ T-killer lymphocytes [31–34], or highlighting the hematic and lymphatic endothelia of the capillaries involved by neoplastic spread [35]. To reach this last goal, anti-Pecam1 (platelet endothelial cell adhesion molecule 1) or anti-Podoplanin antibodies can be used, resp. [36]. Among the tumor

suppressor genes, *CDKN2A* encodes for p16ink4a protein, which plays an important role in cell cycle regulation by inhibiting cell cycle progression from G1 to S phase [37]. The *CDKN2A* gene is frequently altered in malignant melanoma; therefore, IHC for the mutant form of p16ink4a can be used in the diagnosis of microinvasive melanoma, in order to distinguish it from *in situ* melanoma or dysplastic nevus, both characterized by a lower immunolabeling and an indolent course [1].

Predictive IHC

Today, the main genes involved in melanoma genesis susceptible to predictive IHC investigation are – *BRAF*, *NRAS*, *CDK4*, *KIT* [38]. Mutations in *BRAF* and *NRAS* are responsible for 50% and 20% of all melanomas [39]. Vemurafenib and dabrafenib are V600 mutant B-Raf inhibitors approved for the treatment of late-stage melanoma [40]. The

growth signal transduction triggered by V600 mutant B-Raf can be also mitigated inhibiting MEK (MAPK/ERK kinase) proteins, members of MAPK (mitogen-activated protein kinase) signaling cascade, thus favoring cell cycle block and apoptosis [40]. The most known MEK inhibitors used in the treatment of metastatic melanoma are trametinib and cobimetinib [41]. Binimetinib, another MEK inhibitor, has been tested in a randomized phase III clinical trial for N-Ras Q61 mutant melanoma, becoming the first molecularly targeted therapy for *NRAS* mutant patients [42]. Palbociclib and ribociclib are Cdk4 inhibitors that are under study for melanoma and other drug resistant tumors, such as estrogen receptor positive breast cancer [43,44]. Imatinib and nilotinib are Kit inhibitors available if necessary; the former is active when the mutation occurs in exon 11 of *KIT*, while the latter when it occurs in exon 17 [45]. More recently, a lot of attention has been paid to melanoma immunotherapy, it is a type of passive immunotherapy aimed to enhance preexisting anti-tumor responses of the organism [46]. In this regard, two molecules, Ctl4 and PD1, have attracted interest of many researchers [47]. Ctl4 is a surface receptor expressed by activated T-lymphocytes, able to transmit an inhibitory signal of self-tolerance to T-lymphocytes, functioning as an immune checkpoint for normal and neoplastic cells [48]. Ipilimumab is the monoclonal antibody developed to stop the above-mentioned inhibitory signal by binding to Ctl4. This event is preliminary to melanoma cell destruction by cytotoxic T-lymphocytes [49]. PD1 is a surface receptor of activated T-lymphocytes, which plays an important role in down-regulation of the immune system and promoting self-tolerance [50]. Its ligand, known by the acronym PD-L1 (programmed death-ligand 1), is highly expressed in 40–50% of melanoma and, hence, the role of PD1 in melanoma immune evasion is now well established [51]. Nivolumab and pembrolizumab are anti-PD1 human monoclonal immunoglobulin G4 capable to block the interaction between PD1 and PD-L1 (immune checkpoint

blockade), favoring the melanoma cell attack by T-cells [52]. In 2017, the Food and Drug Administration has approved the use of pembrolizumab also for unresectable or metastatic solid tumors with mismatch repair deficiency or microsatellite instability [53]. Strong evidence showed that microsatellite instability is a frequent condition in malignant melanoma, as well [54]. In line with what has been recently hypothesized by other authors [55,56], my working group has noticed, in daily clinical practice, that the best therapeutic results of pembrolizumab occur in those patients affected by melanomas with mismatch repair deficiency (Fig. 1). Therefore, before choosing the most suitable treatment, the biopsic specimen should be also tested for *Mlh1*, *Msh2*, *Msh6* and *Pms1* [57], the well-known DNA mismatch repair proteins in humans.

Acknowledgements

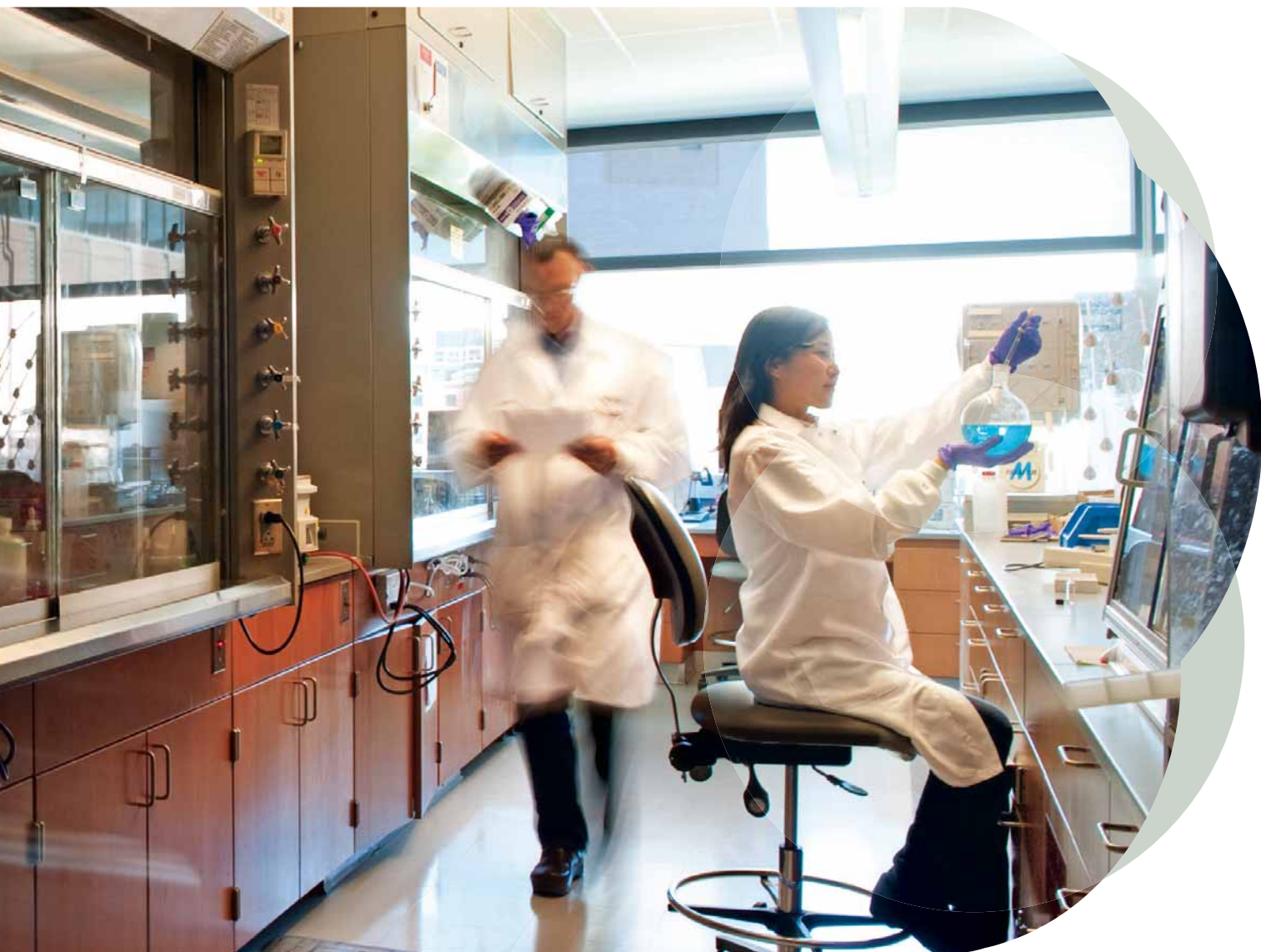
The author would express his thanks to Mrs. Paola Manni for her technical and support.

References

- Roncati L, Piscioli F, Pusioli T et al. Microinvasive radial growth phase of cutaneous melanoma: a histopathological and immunohistochemical study with diagnostic implications. *Acta Dermatovenerol Croat* 2017; 25(1): 39–45.
- Coons AH, Creech HJ, Jones RN. Immunological properties of an antibody containing a fluorescent group. *Proc Soc Exp Biol Med* 1941; 47: 200–202.
- Roncati L, Manenti A, Sighinolfi P. Immunohistochemical improvement in the analysis of the lymphatic metastases from lung carcinoma. *Ann Thorac Surg* 2014; 97(1): 380–381. doi: 10.1016/j.jathoracsur.2013.06.072.
- Marenholz I, Heizmann CW, Fritz G. S100 proteins in mouse and man: from evolution to function and pathology (including an update of the nomenclature). *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 322(4): 1111–1122. doi: 10.1016/j.bbrc.2004.07.096.
- Donato R. Intracellular and extracellular roles of S100 proteins. *Microsc Res Tech* 2003; 60(6): 540–551. doi: 10.1002/jemt.10296.
- Nonaka D, Chiriboga L, Rubin BP. Differential expression of S100 protein subtypes in malignant melanoma, and benign and malignant peripheral nerve sheath tumors. *J Cutan Pathol* 2008; 35(11): 1014–1019. doi: 10.1111/j.1600-0560.2007.00953.x.
- Bioley G, Jandus C, Tuyaerts S et al. Melan-A/MART-1-specific CD4 T cells in melanoma patients: identification of new epitopes and ex vivo visualization of specific T cells by MHC class II tetramers. *J Immunol* 2006; 177(10): 6769–6779. doi: 10.1111/j.1600-0560.2007.00953.x.
- Du J, Miller AJ, Widlund HR et al. MLANA/MART1 and SILV/PMEL17/GP100 are transcriptionally regulated by MITF in melanocytes and melanoma. *Am J Pathol* 2003; 163(1): 333–343. doi: 10.1016/S0002-9440(10)63657-7.
- Léger S, Balguerie X, Goldenberg A et al. Novel and recurrent non-truncating mutations of the MITF basic domain: genotypic and phenotypic variations in

- Waardenburg and Tietz syndromes. *Eur J Hum Genet* 2012; 20(5): 584–587. doi: 10.1038/ejhg.2011.234.
- Hershey CL, Fisher DE. Mitf and Tfe3: members of a b-HLH-ZIP transcription factor family essential for osteoclast development and function. *Bone* 2004; 34(4): 689–696. doi: 10.1016/j.bone.2003.08.014.
 - Tudrej KB, Czepielewska E, Kozłowska-Wojciechowska M. SOX10-MITF pathway activity in melanoma cells. *Arch Med Sci* 2017; 13(6): 1493–1503. doi: 10.5114/aoms.2016.60655.
 - Wasmeier C, Hume AN, Bolasco G et al. Melanosomes at a glance. *J Cell Sci* 2008; 121(24): 3995–3999. doi: 10.1242/jcs.040667.
 - Kapur RP, Bigler SA, Skelly M et al. Anti-melanoma monoclonal antibody HMB45 identifies an oncofetal glycoconjugate associated with immature melanosomes. *J Histochem Cytochem* 1992; 40(2): 207–212. doi: 10.1177/40.2.1552165.
 - Clarkson KS, Sturdess IC, Molyneux AJ. The usefulness of tyrosinase in the immunohistochemical assessment of melanocytic lesions: a comparison of the novel T311 antibody (anti-tyrosinase) with S-100, HMB45, and A103 (anti-melan-A). *J Clin Pathol* 2001; 54(3): 196–200.
 - Roncati L, Piscioli F, Pusioli T. The significance of regression in thin melanoma of the skin. *Ir J Med Sci* 2017; 187(1): 95–96. doi: 10.1007/s11845-017-1612-1.
 - Roncati L, Vergari B, Del Gaudio A. The ‘all-or-none law’ applied to the vertical growth phase of cutaneous malignant melanoma. *Chonnam Med J* 2017; 53(3): 234–235. doi: 10.4068/cmj.2017.53.3.234.
 - Roncati L, Pusioli T, Piscioli F. Prognostic predictors of thin melanoma in clinico-pathological practice. *Acta Dermatovenerol Croat* 2017; 25(2): 159–160.
 - Roncati L, Piscioli F, Pusioli T. Clinical application of the unifying concept of cutaneous melanoma. *Chonnam Med J* 2017; 53(1): 78–80. doi: 10.4068/cmj.2017.53.1.78.
 - Piscioli F, Pusioli T, Roncati L. Wisely choosing thin melanomas for sentinel lymph node biopsy. *J Am Acad Dermatol* 2017; 76(1): e25. doi: 10.1016/j.jaad.2016.08.069.
 - Roncati L, Piscioli F, Pusioli T. SAMPUS, MELTUMP and THIMUMP – Diagnostic categories characterized by uncertain biological behavior. *Klin Onkol* 2017; 30(3): 221–223. doi: 10.14735/amko2017221.
 - Piscioli F, Pusioli T, Roncati L. Histopathological determination of thin melanomas at risk for metastasis. *Melanoma Res* 2016; 26(6): 635. doi: 10.1097/CMR.0000000000000288.
 - Piscioli F, Pusioli T, Roncati L. Nowadays a histological sub-typing of thin melanoma is demanded for a proper patient management. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2016; 69(11): 1563–1564. doi: 10.1016/j.bjps.2016.08.026.
 - Pusioli T, Piscioli F, Speziali L et al. Clinical features, dermoscopic patterns, and histological diagnostic model for melanocytic tumors of uncertain malignant potential (MELTUMP). *Acta Dermatovenerol Croat* 2015; 23(3): 185–194.
 - Piscioli F, Pusioli T, Roncati L. Thin melanoma subtyping fits well with the American Joint Committee on Cancer staging system. *Melanoma Res* 2016; 26(6): 636. doi: 10.1097/CMR.0000000000000301.
 - Piscioli F, Pusioli T, Roncati L. Critical points of T1 stage in primary melanoma. *Melanoma Res* 2017; 27(4): 399. doi: 10.1097/CMR.0000000000000357.
 - Roncati L, Pusioli T, Piscioli F. Up-to-date proposal for a histologic subcategorization of thin melanomas. *Adv Anat Pathol* 2017. doi:10.1097/PAP.0000000000000148.
 - Roncati L, Piscioli F, Pusioli T. The importance of mitotic rate reporting in primary cutaneous melanoma. *J Surg Oncol* 2017; 116(7): 958–959. doi: 10.1002/jso.24738.
 - Roncati L, Piscioli F, Pusioli T. Surgical outcomes reflect the histological types of cutaneous malignant melanoma. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2017; 31(6): e279–e280. doi: 10.1111/jdv.14023.

29. Roncati L, Pisciole F, Pusiol T. Sentinel lymph node in thin and thick melanoma. *Klin Onkol* 2016; 29(5): 393–394.
30. Roncati L, Pisciole F, Pusiol T. Current controversies on sentinel node biopsy in thin and thick cutaneous melanoma. *Eur J Surg Oncol* 2017; 43(2): 506–507. doi: 10.1016/j.ejso.2016.09.014.
31. Roncati L, Manenti A, Pisciole F et al. The immune score as a further prognostic indicator in carcinoid tumors. *Chest* 2017; 151(5): 1186. doi: 10.1016/j.chest.2016.10.032.
32. Roncati L, Manenti A, Pisciole F et al. Immunoscoring the lymphocytic infiltration in carcinoid tumours. *Histopathology* 2017; 70(7): 1175–1177. doi: 10.1111/his.13168.
33. Roncati L, Manenti A, Farinetti A et al. The association between tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) and metastatic course in neuroendocrine neoplasms. *Surgery* 2016; 160(6): 1709. doi: 10.1016/j.surg.2015.12.030.
34. Roncati L, Barbolini G, Piacentini F et al. Prognostic factors for breast cancer: an immunomorphological update. *Pathol Oncol Res* 2016; 22(3): 449–452. doi: 10.1007/s12253-015-0024-7.
35. Pisciole F, Pusiol T, Roncati L. Diagnostic disputes regarding atypical melanocytic lesions can be solved by using the term MELTUMP. *Türk Patoloji Derg* 2016; 32(1): 63–64. doi: 10.5146/tjpath.2015.01330.
36. Pisciole F, Pusiol T, Roncati L. Diagnostic approach to melanocytic lesion of unknown malignant potential. *Melanoma Res* 2016; 26(1): 91–92. doi: 10.1097/CMR.0000000000000215.
37. Roncati L, Barbolini G, Sartori G et al. Loss of CDKN2A promoter methylation coincides with the epigenetic transdifferentiation of uterine myosarcomatous cells. *Int J Gynecol Pathol* 2016; 35(4): 309–315. doi: 10.1097/PGP.0000000000000181.
38. Zhang D, Zhu R, Zhang H et al. MGDB: a comprehensive database of genes involved in melanoma. *Database (Oxford)* 2015; 2015: pii: bav097. doi: 10.1093/database/bav097.
39. Lovly CM, Dahlman KB, Fohn LE et al. Routine multiplex mutational profiling of melanomas enables enrollment in genotype-driven therapeutic trials. *PLoS One* 2012; 7(4): e35309. doi: 10.1371/journal.pone.0035309.
40. Wong DJ, Ribas A. Targeted therapy for melanoma. *Cancer Treat Res* 2016; 167: 251–262. doi: 10.1007/978-3-319-22539-5_10.
41. Lulli D, Carbone ML, Pastore S. The MEK inhibitors trametinib and cobimetinib induce a type I interferon response in human keratinocytes. *Int J Mol Sci* 2017; 18(10). doi:10.3390/ijms18102227.
42. Queirolo P, Spagnolo F. Binimetinib for the treatment of NRAS-mutant melanoma. *Expert Rev Anticancer Ther* 2017; 17(11): 985–990. doi: 10.1080/14737140.2017.1374177.
43. Costa R, Costa RB, Talamantes SM et al. Meta-analysis of selected toxicity endpoints of CDK4/6 inhibitors: palbociclib and ribociclib. *Breast* 2017; 35: 1–7. doi: 10.1016/j.breast.2017.05.016.
44. Roncati L, Barbolini G, Gatti AM et al. The uncontrolled sialylation is related to chemoresistant metastatic breast cancer. *Pathol Oncol Res* 2016; 22(4): 869–873. doi: 10.1007/s12253-016-0057-6.
45. Murer C, Kränzlin-Stieger P, French LE et al. Successful treatment with imatinib after nilotinib and ipilimumab in a c-kit-mutated advanced melanoma patient: a case report. *Melanoma Res* 2017; 27(4): 396–398. doi: 10.1097/CMR.0000000000000358.
46. Najem A, Krayem M, Perdrix A et al. New drug combination strategies in melanoma: current status and future directions. *Anticancer Res* 2017; 37(11): 5941–5953. doi: 10.21873/anticancer.12041.
47. Karlsson AK, Saleh SN. Checkpoint inhibitors for malignant melanoma: a systematic review and meta-analysis. *Clin Cosmet Investig Dermatol* 2017; 10: 325–339. doi: 10.2147/CCID.S120877.
48. Walunas TL, Lenschow DJ, Bakker CY et al. CTLA-4 can function as a negative regulator of T cell activation. *Immunity* 1994; 1(5): 405–413.
49. Letendre P, Monga V, Milhem M et al. Ipilimumab: from preclinical development to future clinical perspectives in melanoma. *Future Oncol* 2017; 13(7): 625–636. doi: 10.2217/fon-2016-0385.
50. Francisco LM, Sage PT, Sharpe AH. The PD-1 pathway in tolerance and autoimmunity. *Immunol Rev* 2010; 236: 219–242. doi: 10.1111/j.1600-065X.2010.00923.x.
51. Wang X, Teng F, Kong L et al. PD-L1 expression in human cancers and its association with clinical outcomes. *Onco Targets Ther* 2016; 9: 5023–5039. doi: 10.2147/OTT.S105862.
52. Prasad V, Kaestner V. Nivolumab and pembrolizumab: monoclonal antibodies against programmed cell death-1 (PD-1) that are interchangeable. *Semin Oncol* 2017; 44(2): 132–135. doi: 10.1053/j.seminoncol.2017.06.007.
53. Syn NL, Teng MWL, Mok TSK et al. De-novo and acquired resistance to immune checkpoint targeting. *Lancet Oncol* 2017; 18(12): e731–e741. doi: 10.1016/S1470-2045(17)30607-1.
54. Kubeček O, Kopecký J. Microsatellite instability in melanoma: a comprehensive review. *Melanoma Res* 2016; 26(6): 545–550. doi: 10.1097/CMR.0000000000000298.
55. Kim ST, Klempner SJ, Park SH et al. Correlating programmed death ligand 1 (PD-L1) expression, mismatch repair deficiency, and outcomes across tumor types: implications for immunotherapy. *Oncotarget* 2017; 8(44): 77415–77423. doi: 10.18632/oncotarget.20492.
56. Kubecek O, Trojanova P, Molnarova V et al. Microsatellite instability as a predictive factor for immunotherapy in malignant melanoma. *Med Hypotheses* 2016; 93: 74–76. doi: 10.1016/j.mehy.2016.05.023.
57. Roncati L, Manenti A, Pusiol T et al. Testosterone aromatization to estradiol in course of ovarian functioning Brenner tumor associated with endometrial carcinoma and endometriosis (Roncati-Manenti triad). *Int J Gynecol Cancer* 2016; 26(8): 1461–1464. doi: 10.1097/IGC.0000000000000779.



PŘEV RATNÉ OBJEVY NOVÝCH LÉKŮ VZNIK AJÍ 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. Stejně 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



O dalších 5 let později

prof. MUDr. Jitka Abrahámová, DrSc., se dožívá významného životního jubilea

Před 5 lety jsme s prof. Abrahámovou uzavřeli dohodu, že si napíšeme vzájemné laudatio k životnímu jubileu, které bylo v roce 2013 a které máme společně i letos. Jsme stejně staří, studovali jsme na stejné univerzitě lékařskou fakultu a stále pracujeme ve stejném oboru. Nechtěl bych opakovat vše, co jsem před lety napsal.

Pouze pro připomenutí. Promovala v roce 1966, pracovala rok na onkologii v nemocnici Trutnov, poté 24 let na onkologii ve VFN v Praze. Jejím doslova mateřským pracovištěm se stala Thomayerova nemocnice v Krči. Onkologii zde vybudovala a během 25 let dovedla do pozice špičkového a všeobecně uznávaného pracoviště. Atestovala z radioterapie I. stupně, II. stupně klinické onkologie, byl jí udělen titul CSc., poté DrSc. a na základě habilitačního řízení v roce 2006 byla jmenována profesorkou pro obor klinická onkologie. Stala se místopředsedkyní výboru České onkologické společnosti JEP, členkou Evropské asociace pro výzkum rakoviny, Evropské společnosti mastologie, Evropské společnosti pro paliativní péči, MASCC (Multinational Association of Supportive Care in Cancer), EBMT (The European Group for Blood and Marrow Transplantation), České společnosti pro komplexní onkologickou péči, české sekce evropské koalice Europa Donna. Stála v čele vědeckých grantů, které úspěšně řešila (7×). Jako hlavní investigátor se podílela na 35 klinických studiích. Byla členkou komise pro onkologii v rámci Interní grantové agentury Ministerstva zdravotnictví (IGA MZ) ČR. V rámci fakulty se podílela na pedagogické činnosti (stáže, přednášky, examinační) nejen pro naše mediky, ale též pro zahraniční studenty. Významnou roli sehrála i v postgraduální

výchově (přednášky, stáže, kurzy.) Stala se odbornou spolupracovnicí a autorkou mnoha vědeckých a zdravotně výchovných filmů (11×). Její práce byla oceněna předáním řady cen (7×). Její publikační činnost dokladuje bohatá rešerše (kolem 100 citací) v našem i zahraničním písemnictví. Je autorkou nebo spoluautorkou 10 monografií. Každoročně pořádala onkologická sympozia s celostátní působností.

A především pracovala jako klinický doktor (na oddělení, na ambulanci, v mnoha pracovních týmech). O jejich kvalitách mohou hovořit její kolegové, o skutečné empatii a důsledné starostlivosti její pacienti.

Je středa večer 17. 1. 2018. Na Žofíně pořádá Nadační fond onkologie pro 21. století 24. společenský večer „Sebevědomí pro každý den“. Úvodní slovo patří předsedkyni správní rady Nadačního fondu a jeho zakladatelce prof. MUDr. Jitce Abrahámové, DrSc. Pak již přicházejí krásné manekýnky, které jsou zároveň pacientkami krčské onkologie.

Sebevědomí paní profesorce nikdy nechybělo. Protože jsem více než 20 let pracoval na stejné klinice, mohu vyprávět. Pro nás (sekundáře) to byl hlavní důvod její kritiky. Dnes, po letech, to vidím trochu jinak. Spíš bych to nazval zdravým ceněním sebe sama (to, čeho se nám obecně nedostává). Před 5 lety stát na stejné „startovní čáře“ nebylo tak obtížné. Dnes mi již tak trochu dochází dech a běh zpomaluji. Ne však Jitka. Dále pracovala na klinice, přednášela, učila, publikovala. Stala se vedoucím pražského Komplexního onkologického centra. Nadále působila jako předsedkyně správní rady Nadačního fondu onkologie pro 21. století. Organizovala svá



každoroční setkání onkologů z celé republiky – onkologická sympozia s urologickou a mamologickou tematikou. Nikdy nechyběl společenský večer v zajímavém, atraktivním prostředí s přítomností renomovaných moderátorů a špičkových umělců. Při oslavách státního svátku 28. 9. (na svátek sv. Václava) byly její zásluhy oceněny stříbrnou medailí Senátu ČR za přínos onkologii. Být v TV pořadu Gen můžeme považovat za mimořádné. O prof. Abrahámové byl tento medailon vloni natočen.

Přestože onkologické pracoviště založila a doslova vypiplala, v tomto roce se s prof. Abrahámovou loučí. Ona zde zanechává 26 let života a majetek Nadačního fondu v hodnotě mnoha milionů korun. Víím, že čas běží a stavět překážky přirozenému běhu nelze, ale přesto osobně považuji takováto rozhodnutí managementu za problematičtější.

Do další etapy Tvého plodného profesního života Ti osobně já a zajisté i další přejeme hodně úspěchů a málo zklamání.

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

KLINICKÁ ONKOLOGIE

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

REDAKČNÍ RADA

Výkonná redakční rada (Brno)

vedoucí redaktor

doc. MUDr. Vuk Fait, CSc.

MUDr. Petr Čoupek
doc. MUDr. Lenka Foretová, Ph.D.
prof. MUDr. Martin Klabusay, Ph.D.

výkonný redaktor

doc. MUDr. Marek Svoboda, 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, Ph.D., 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. Luboš 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, Ph.D., Bratislava
assoc. prof. Jeong Eon Lee, M.D., Ph.D., Seoul
prof. MUDr. Jiří Mayer, CSc., Brno
prof. MUDr. Michal Mego, DrSc., Bratislava
prof. MUDr. Bohuslav Melichar, Ph.D., Olomouc
prof. MUDr. Beata Mladosičová, CSc., Bratislava
doc. MUDr. Jan Novotný, Ph.D., Praha
prof. MUDr. Dalibor Ondruš, DrSc., Bratislava
doc. RNDr. Martina Ondrušová, Ph.D., 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 Skříčková, CSc., Brno
prof. MUDr. Martin Smrčka, Ph.D., Brno
MUDr. Tomáš Svoboda, Ph.D., Plzeň
MUDr. Tomáš Šálek, Bratislava
prof. MUDr. Jaroslav Štěrba, Ph.D., Brno
doc. MUDr. Dalibor Valík, Ph.D., Brno
prof. MUDr. Anna Vašků, CSc., Brno
prof. MUDr. 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. Ludovít 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 Kozá, DrSc., Bratislava

doc. MUDr. Jozef Mardiak, CSc., Bratislava
prof. MUDr. Zdeněk Mechl, CSc., Brno
MUDr. Jaroslav Němec, CSc., Brno
MUDr. Viliam Ujházy, DrSc., Bratislava

© Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně, Praha 2018

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. Veronika Hrabalová, e-mail: veronika.hrabalova@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 2017 činí 540 Kč (22 eur).

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

Informace o podmínkách inzerce poskytuje a objednávky přijímá: Pavel Doležal, e-mail: pavel.dolezal@ambitmedia.cz, tel.: +420 602 632 349.

Rukopisy vkládejte do redakčního systému: <http://redakce.ambitmedia.cz/ko>; případně 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 13. 4. 2018.

OPDIVO® dává šanci více pacientům

OPDIVO® (nivolumab)



pacientům s pokročilým maligním melanomem^{1,2,3}



předlěčeným pacientům s pokročilým NSCLC^{3,4,5}



předlěčeným pacientům s pokročilým renálním karcinomem^{3,6}



pacientům s recidivujícím nebo rezistentním Hodgkinovým lymfomem po předchozí léčbě (ASCT a brentuximab vedotin)^{3,7,8}



pacientům se SCCHN, kteří progredují při nebo po předchozí léčbě platinovými deriváty^{3,9}



pacientům s pokročilým nebo metastazujícím uroteliálním karcinomem po selhání léčby platinovými deriváty^{3,10}

▼ 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/kombinaci s ipilimumabem u pokročilého (neresekovatelného nebo metastatického) melanomu u dospělých. Nematobuněčný karcinom plic (NSCLC): monoterapie lokálně pokročilého nebo metastatického NSCLC po předchozí chemoterapii u dospělých. Renální karcinom (RCC): monoterapie pokročilého RCC po předchozí terapii u dospělých. Klasický Hodgkinův lymfom (cHL): monoterapie recidivujícího nebo rezistentního cHL po autologní transplantaci kmenových buněk (ASCT) a léčbě brentuximab vedotinem. Skvamózní karcinom hlavy a krku (SCCHN): monoterapie SCCHN progredujícího při nebo po léčbě platinovými deriváty u dospělých. Uroteliální karcinom (UC): monoterapie lokálně pokročilého neresekovatelného nebo metastazujícího UC u dospělých po selhání léčby platinovými deriváty. **Dávkování:*** Monoterapie: dávka 3 mg/iv. infuzí (60 minut) každé 2 týdny; kombinace s ipilimumabem: 1 mg/kg nivolumabu iv. infuzí (60 minut) s ipilimumabem 3 mg/kg iv. infuzí (90 minut) každé 3 týdny u prvních 4 dávek, dále nivolumab iv. infuzí (60 minut), první dávka za 3 týdny, a pak dále každé 2 týdny. Léčba pokračuje, dokud je pozorován klinický přínos nebo dokud ji pacient snáší. Způsob podání: Pouze k iv. podání, jako iv. infuze (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 se nivolumab vysadí a podají se kortikosteroidy. Po zlepšení se musí dávka kortikosteroidů snižovat postupně po dobu min. 1 měsíce. V případě závažných, opakujících se nebo jakýchkoli život ohrožujících imunitně podmíněných NÚ musí být nivolumab trvale vysazen. U pacientů s výchozím ECOG ≥ 2 , s aktivními mozgovými 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, a nepředpokládá se, že inhibice nebo indukce enzymů cytochromu P450 (CYP) nebo jiných enzymů metabolizujících léky současně podávanými přípravky bude mít dopad na jeho farmakokinetiku. Vzhledem k potenciální interferenci systémových kortikosteroidů nebo jiných imunosupresiv s farmakodynamikou nivolumabu je třeba se jejich podávání na počátku, před zahájením léčby, vyhnout. Lze je nicméně použít k léčbě imunitně podmíněných nežádoucích účinků. **Těhotenství a kojení:** Nivolumab se nedoporučuje během těhotenství a fertilitním ženám, které nepoužívají účinnou antikoncepci, pokud klinický přínos nepřevyšuje možné riziko. Není známo, zda se nivolumab vylučuje do mateřského mléka. **Nežádoucí účinky:*** **Velmi časté:** neutropenie, únava, vyrážka, svědění, průjem a nauzea, zvýšení AST, ALT, alkalické fosfatázy, lipázy, amylázy, kreatininu, hyperglykemie, hypokalcémie, lymfopenie, leukopenie, trombocytopenie, anemie, hyperkalcemie, hyperkalemie, hypokalemie, hypomagnezemie, hyponatremie, u kombinace s ipilimumabem i hypotyreóza, bolest hlavy, dyspnoe, kolitida, zvracení, bolest břicha, artralgie, horečka, hypoglykemie a zvýšený celkový bilirubin. Další podrobnosti k NÚ, zvláště imunitně podmíněným, viz SPC. **Předávkování:** Pacienti musí být pečlivě monitorováni s ohledem na příznaky nežádoucích účinků a zahájena 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 koncentráty v 10ml injekční lahvičce s uzávěrem a tmavě modrým, resp. šedým odklápacím uzávěrem. **Velikost balení:** 1 injekční lahvička. **Držitel rozhodnutí o registraci:** Bristol-Myers Squibb EEIG, Bristol-Myers Squibb House, Uxbridge Business Park, Sanderson Road, Uxbridge, Middlesex UB8 1DH, Velká Británie. **Registrační číslo:** EU/1/15/1014/001-002. **Datum první registrace:** 19. 6. 2015. **Datum poslední revize textu:** březen 2018.

Výdej léčivého přípravku je vázán na lékařský předpis. Přípravek je hrazen z veřejného zdravotního pojištění u indikací pokročilý maligní melanom v monoterapii, pokročilý renální karcinom a s účinností od 1. 4. 2018 také u indikací skvamózní nematobuněčný karcinom plic. Podrobné informace o tomto přípravku jsou dostupné na adrese zástupce držitele rozhodnutí o registraci v ČR: Bristol-Myers Squibb spol. s r.o., Budejovická 778/3, 140 00 Praha 4, www.b-ms.cz. Před předepsáním se seznáme s úplnou informací o přípravku.

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

1. Weber JS, 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. Opdivo® Souhrn údajů o přípravku, 2017. 4. 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. 5. Borghaei H, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Non-Squamous Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 2015;373(17):1627-39. 6. Motzer JR, et al. Nivolumab versus Everolimus in Advanced Renal-Cell Carcinoma. *N Engl J Med* 2015;373:1803-1813. 7. Ansell SM, et al. PD-1 blockade with nivolumab in relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma. *NEJM* 2015;372(4):311-9. 8. Younes A, et al. Nivolumab for classical Hodgkin's lymphoma after failure of both autologous stem-cell transplantation and brentuximab vedotin: a multicenter, multicohort, single-arm phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2016;17(9):1283-94. 9. Ferris RL, Blumenschein Jr, Fayette J, et al. Nivolumab for Recurrent Squamous-Cell Carcinoma of the Head and Neck. *NEJM* 2016;375(19):1856-1867. 10. Sharma P, et al. Nivolumab in metastatic urothelial carcinoma after platinum therapy (CheckMate 275): a multicenter single-arm, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2017;18:312-22.

KEYTRUDA

je v monoterapii u dospělých pacientů indikována k léčbě:¹

- pokročilého (neresekovatelného nebo metastazujícího) **melanomu**
- v první linii metastazujícího **NSCLC*** bez pozitivních nádorových mutací EGFR a ALK a s PD-L1 expresí s TPS ≥ 50 % a v dalších liniích** lokálně pokročilého nebo metastazujícího NSCLC* s pozitivní expresí PD-L1 (TPS ≥ 1 %) ¹
- klasického Hodgkinova lymfomu
- uroteliálního karcinomu

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: 1. v monoterapii indikován k léčbě pokročilého (neresekovatelného nebo metastazujícího) melanomu u dospělých; *2. v monoterapii indikován v první linii k léčbě metastazujícího nemalobuněčného karcinomu plic (non-small cell lung carcinoma - NSCLC) u dospělých, jejichž nádory exprimují PD-L1, se skóre nádorového podílu (tumor proportion score - TPS) ≥ 50 % bez pozitivních nádorových mutací EGFR nebo ALK; 3. v monoterapii indikován k léčbě lokálně pokročilého nebo metastazujícího NSCLC u dospělých, jejichž nádory exprimují PD-L1 s TPS ≥ 1 %, a kteří již byli léčeni nejméně jedním chemoterapeutickým režimem. Pacienti s pozitivními nádorovými mutacemi EGFR nebo ALK musí být také předtím, než dostanou přípravek KEYTRUDA, léčeni cílenou terapií; *4. v monoterapii indikován k léčbě dospělých pacientů s relabujícími nebo refrakterním klasickým Hodgkinovým lymfomem (cHL), u nichž selhala autogenní transplantace kmenových buněk (ASCT) a brentuximab vedotin (BV), nebo u kterých transplantace není vhodná a BV u nich selhal; 5. v monoterapii indikován k léčbě lokálně pokročilého nebo metastazujícího uroteliálního karcinomu u dospělých, kteří již byli léčeni chemoterapií obsahující platinu 6. v monoterapii indikován k léčbě lokálně pokročilého nebo metastazujícího uroteliálního karcinomu u dospělých, u kterých není chemoterapie obsahující platinu vhodná. ***Dávkování a způsob podání:** KEYTRUDA se podává intravenózně po dobu 30 minut každé 3 týdny. Doporučená dávka je 200 mg při NSCLC, jež dosud nebyl léčen chemoterapií, nebo při cHL nebo při uroteliálním karcinomu; u pacientů s předléčeným NSCLC a melanomem pak 2 mg/kg. Přípravek nesmí být podán jako nitrožilní bolus nebo bolusová injekce. Léčba probíhá do progresse 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 pacienti s počátečními známkami progresse nemoci se doporučuje léčit dál, dokud se progresse 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:** Mohou se vyskytnout imunitně zprostředkované nežádoucí účinky postihující současně více tělesných systémů. * Pokud se s léčbou související toxicita do 12 týdnů po poslední dávce přípravku KEYTRUDA nezlepší na stupeň 0 až 1 nebo pokud během 12 týdnů nelze dávkování kortikosteroidu snížit na ≤ 10 mg predniszonu nebo jeho ekvivalentu za den, je nutno přípravek KEYTRUDA trvale vysadit; než se nežádoucí účinky zlepšší na stupeň 0 - 1. Bezpečnost opětovného zahájení léčby pembrolizumabem u pacientů, u nichž se objevila imunitně zprostředkovaná myokarditida, není známa. Přípravek KEYTRUDA je nutno trvale vysadit při nežádoucích účincích stupně 4 nebo recidivujících nežádoucích účincích stupně 3, pokud není v SmPC uvedeno jinak. Při hematologické toxicitě stupně 4, pouze u pacientů s cHL, se přípravek KEYTRUDA musí vysadit do zlepšení nežádoucích účinků na stupeň 0 až 1. * Léčba pembrolizumabem může u příjemců transplantovaných solidních orgánů zvýšit riziko rejekce; je nutné zvážit benefit/risk. **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 ($\geq 1/10$): průjem, nauzea, vyrážka, pruritus, únava. Časté ($\geq 1/100$ až $1/10$): anémie, reakce spojená s infúzí, hypertenze, hypotenze, snížená chuť k jídlu, bolest hlavy, závrať, dysgezie, suché oko, pneumonitida, dyspnoe, kašel, kolitida, zvracení, bříšní bolest, zácpa, suchá ústa, těžké kožní reakce, vitiligo, suchá kůže, erytém, ekzém, artralgie, myozitida, muskuloskeletální bolest, bolest v končetině, artritida, astenie, edém, pyrexie, onemocnění podobající se chřipce, třesavka, zvýšená AST, ALT, ALP, zvýšený kreatinin. 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, nesmí být zmrazen a fyzikální a chemická stabilita po otevření byla prokázána při teplotě 2 - 8 °C maximálně po dobu 24 hodin od naražení. Až 6 hodin z tohoto 24 hodinového limitu je možné přípravek uchovávat při pokojové teplotě (≤ 25 °C) **Balení:** 15ml injekční lahvička a 50 mg pembrolizumabum. **Držitel rozhodnutí o registraci:** Merck Sharp & Dohme Limited, Herford Road, Horddesdon, Hertfordshire EN11 9BU, Velká Británie. Kontaktní e-mail: dpoc_czechslovak@merck.com. **Registrační číslo:** EU/1/15/1024/001. **Datum poslední revize textu:** 08.12.2017. **Způsob výdeje:** Vázán na lékařský předpis. **Způsob úhrady:** Léčivý přípravek je hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění.

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

Reference: 1. SPC LP Keytruda 2017.

* nemalobuněčný karcinom plic

**pacienti předléčení chemoterapií a příslušným tyrozinkinázovým inhibítorem u nádorových mutací EGFR nebo ALK

▽ 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., Na Valentince 3336/4, Smíchov, 150 00 Praha 5
Tel.: +420 233 010 111, E-mail: dpoc_czechslovak@merck.com, www.msd.cz

ONCO-1243294-0000

MSD Oncology