

KLINICKÁ ONKOLOGIE

Z obsahu:

Oligometastatický karcinom prostaty

Gastrointestinální stromální tumory rekta – hodnocení dat národního registru s ohledem na využití v klinické praxi

Gorlinov-Goltzov syndróm



BOJUJEME S NÁDOROVÝMI ONEMOCNĚNÍMI

Pacienti jsou v centru
všeho, co děláme.
Inspirují nás.
Motivují nás.



Bristol-Myers Squibb je globální biofarmaceutická společnost zaměřující se na vývoj inovativních způsobů léčby a podporu biofarmaceutického výzkumu.

Naším posláním je objevovat, vyvíjet a dodávat moderní léky, které pomáhají pacientům zvítězit nad nádorovými onemocněními.

Náš závazek vyvíjet inovativní léky je tak silný jako vůle pacientů bojovat proti závažným onemocněním. Naši vědci se snaží objevit nový typ léků, které dají pacientům naději. Nakonec bude náš úspěch měřen jedinou věcí: jak dokážeme změnit životy pacientů.

Když pomáháme imunitnímu systému

Současný pokrok ve výzkumu zhoubných nádorů a vývoj moderních terapií významně posunul léčebné možnosti tohoto závažného onemocnění. Úspěchu bylo dosaženo dokonce u těch malignit, které jsme ještě nedávno považovali za neovlivnitelné systémovou terapií. Prognóza onkologických pacientů se tedy zlepšuje, a to vč. těch s metastatickým onemocněním, přičemž logickým cílem klinického výzkumu je transformace disseminovaného onemocnění z kategorie chorob smrtelných do skupiny onemocnění chronických. Za tímto pokrokem a touto ambicí si lze představit především uplatňování principu tzv. precizní onkologie a používání protinádorové imunoterapie.

Jestliže první z přístupů cílí na vlastní nádor, a to především s ohledem na racionální, a tedy efektivní indikaci léčby na základě detailní molekulární charakterizace individuálního nádorového genomu, přístup druhý je zaměřen na imunitní systém hostitele s cílem jeho aktivace a specifického nasměrování proti nádoru.

Stejně jako jakákoliv jiná buňka našeho organismu nechce být celkem přirozeně nádorová buňka imunitním systémem rozpoznána a zlikvidována jako cizorodá. Disponuje za tímto účelem celým arzenálem biologických nástrojů. Může se maskovat (kamuflovat) nebo může aktivně tlumit imunitní odpověď (sabotáž). Zaměříme-li se na imunoterapii, současná onkologie pracuje se dvěma základními modalitami, které jsou schválené v různých indikacích. První z nich je založena na specifickém zacílení a efektivní eliminaci nádorových buněk pomocí T lymfocytů s chimérickým anti-

genním receptorem (chimeric antigen receptor – CAR), připravených pomocí ex vivo genové modifikace T lymfocytů získaných leukaferézou. Tato modifikace představuje něco jako trénink k zabíjení nádorových buněk. Druhý přístup vede k nespecifickému odblokování tzv. kontrolních bodů imunitního systému, které jsou v řady nádorových onemocnění účinně blokovány např. pomocí receptoru CTLA-4 nebo dráhy PD-1/PD-L1. Odblokovat je lze pomocí monoklonálních protilátek s funkcí inhibitorů kontrolních bodů (anti-CTLA4 – ipilimumab, anti-PD1 – nivolumab, pembrolizumab, anti-PD-L1 – atezolizumab).

Oba dva přístupy jsou z hlediska mechanismu svého působení spojeny s rozdílným spektrem toxických efektů. První z nich, autologní T lymfocyty s CAR, likvidují nádorové buňky tak efektivně, dosud nejvíce ze všech imunoterapeutických přístupů, že jejich aplikaci doprovází tzv. syndrom z uvolnění cytokinů, a to především IL-6, který je produkován jak umírajícími nádorovými buňkami, tak makrofágy, které je odklízejí. Tento druh toxicity, pokud je závažný, lze účinně dostat pod kontrolu protizánětlivou protilátkou proti receptoru pro IL-6, tocilizumabem. Abychom uhasili požár, který jsme vyvolali. Zadarmo to zrovna není, ale to je dobře, inovativní farmaceutický průmysl máme rádi, takže prozánětlivý, pak protizánětlivý... Že se nejedná o snadné počítání, dokazuje skutečnost, že CD19-specifické CAR modifikované T lymfocyty (tisagenlecleucel) představují největší pokrok v léčbě refrakterních non-hodgkinských B lymfomů a dětské B buněčné akutní lymfoblastické leukemie za mnoho let.

V případě checkpoint inhibitorů je konkrétní, s imunitou související toxicita (hepatotoxicita, plicní toxicita, toxicita centrálního nervového systému) velice těžko predikovatelná (vyšší u anti-CTLA-4 než anti-PD-1/L1) a souvisí vždy s celou řadou faktorů – počínaje prahovou hodnotou nastavení naší nespecifické imunity, mírou její dráždivosti (např. vrozené varianty DNA v genech inflamačního komplexu), konče latentním subklinickým zánětem probíhajícím na úrovni našich orgánů, který můžeme odblokováním checkpointů nastartovat více, než bychom chtěli. V tomto případě bude kontrola toxicity vždy individuální a vysoce komplexní.

Ať se nám to líbí nebo ne, nádor je „náš“, a s postupem času mu náš imunitní systém prostě přestane věnovat dostatečnou pozornost. Chceme-li imunitě pomoci rozpoznat a eradikovat „náš“ tumor, což s úspěchem činíme, můžeme jí bohužel napomoci také k destrukci něčeho jiného co je „naše“, a co bychom si rádi ponechali tak, jak to je. Je zřejmé, že náš imunitní systém v principu ví, co, kdy a jak moc má udělat. Když mu tedy chceme pomáhat v boji s nádorem, měli bychom vědět nejen, že opravdu pomůžeme, ale také že neuškodíme. Na rozdíl od predikce účinnosti (imunohistochemická detekce PD-L1, mutační nálož, zánětlivé mikroprostředí) je totiž předpověď toxicity poměrně zanedbaným aspektem současné protinádorové imunoterapie.

*prof. RNDr. Ondřej Slabý, Ph.D.
Oddělení molekulární patologie,
Ústav patologie, FN Brno
Klinika komplexní onkologické péče,
Masarykův onkologický ústav, Brno*

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 2019.
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 2018

Vítězným autorským týmem je:

Kazda T., Misove A., Burkon P., Pospisil P., Hynkova L., Selingerova I., Dziacky A., Belanova R., Bulik M.,
Rehak Z., Poprach A., Slama O., Slampa P., Slaby O., Jancalek R., Lakomy R.

Incidence of Hippocampal Metastases: Laterality and Implications for Unilateral Hippocampal Avoiding Whole Brain Radiotherapy

Biomed Res Int 2018; 2018: 2459608.

citovaná práce z Klinické onkologie

Balentova S., Hajtmanova E., Filova B., Borbelyova V., Lehotsky J.

Effect of Fractionated Irradiation on the Hippocampus in an Experimental Model

Klin Onkol 2015; 28(3): 191–199.

Redakce bude kontaktovat korespondenčního autora článku. Blahopřejeme!

**KLINICKÁ
ONKOLOGIE**


ambit media®

Obsah | Contents

Editorial

Když pomáháme imunitnímu systému 85

PŘEHLEDY | REVIEWS

Léčba relabující/refrakterní akutní lymfoblastické leukemie dnes a zítra 90

Therapy of Relapsed/Refractory Acute Lymphoblastic Leukemia Today and Tomorrow
Hrabovský Š., Folber F., Doubek M.

Oligometastatický karcinom prostaty 97

Oligometastatic Prostate Cancer
Navrátil J., Poprach A., Lakomý R., Kocák I., Vašina J., Krupa P., Vyzula R.

Chromotripse – rozsáhlé chromozomové přestavby a jejich význam u onkologických onemocnění 101

Chromothripsis – Extensive Chromosomal Rearrangements and Their Significance in Cancer
Závacká K., Plevová K., Jarošová M., Pospíšilová Š.

PŮVODNÍ PRÁCE | ORIGINAL ARTICLES

High Level of Circulating Microparticles in Patients with *BCR/ABL* Negative Myeloproliferative Neoplasm – a Pilot Study 109

Vysoká hladina cirkulujících mikroparticulí u pacientů s *BCR/ABL* negativními myeloproliferativními chorobami – pilotní studie
Aswad M. H., Kissova J., Rihova L., Zavrelva J., Ovesna P., Penka M.

Gastrointestinální stromální tumory rektu – hodnocení dat národního registru s ohledem na využití v klinické praxi 117

Gastrointestinal Stromal Tumours of the Rectum – Evaluating the National Registry Data with Respect to its Use in Clinical Practice
Svatoň R., Kala Z., Kysela P., Procházka V., Eid M., Andrašina T., Poredská K., Strenková J., Chloupková R., Kunovský L.

KAZUISTIKY | CASE REPORTS

Gorlinov-Goltzov syndróm 124

Gorlin-Goltz syndrome
Bartoš V., Kullová M., Adamicová K., Paučinová I.

Clinical Management and Outcome in Extreme Retroperitoneal Growing Teratoma Syndrome of Testicular Origin – Clinical Management and Effect of the Treatment 129

Extrémny prípad syndrómu rastúceho teratómu retroperitonea testikulárneho pôvodu – klinický management a efekt liečby
Hulova S., Aziri R., Chovanec M., Mardiak J., Mego M., Pindak D.

Hepatic Injury Induced by a Single Dose of Nivolumab – a Case Report and Literature Review 133

Postižení jater po jedné dávce nivolumabu – kazuistika a přehled literatury
Kopecky J., Kubecek O., Geryk T., Podhola M., Ziaran M., Priester P., Hanisova M., Borilova S.

Leptomeningeal Metastasis in a Breast Cancer Treated with Two Lines of Intrathecal Chemotherapy – a Case Report	139
Leptomeningeálne metastázy karcinómu prsníka liečené dvoma líniami intratekálnej chemoterapie – kazuistika Mikudova V., Rejlekova K., Gyarfás J., Oravcova I., Chovanec M., Mardiak J., Mego M.	
IgG4 sklerozujúci cholangitída – záněť imitující nádor hlavy pankreatu a cholangiokarcinom	143
IgG4 Sclerosing Cholangitis – an Inflammation Imitating Tumour of the Pancreas and Biliary Tract Peňázová P., Andrašina T., Novotný I., Trna J., Hemmelová B., Kunovský L., Procházka V., Kala Z.	
AKTUALITY Z ODBORNÉHO TISKU REPORTS FROM THE LITERATURE	153
DOPIS REDAKCI LETTER TO THE EDITOR	
The International Classification of Diseases for Oncology Integrated with the Melanoma Histogenetic Model	155
Mezinárodní klasifikace nemocí pro onkologii integrovaná s histogenetickým modelem melanomu Roncati L., Pisciolli F.	
Tailoring Nutritional Interventions with Molecular Pathophysiology of Cancer Cachexia – a Possible Solution to an Old Problem	157
Přizpůsobení nutričních intervencí molekulární patofyziologii nádorové kachexie – jak vyřešit dlouhodobý problém Mortazavi H.	
RŮZNÉ VARIOUS	
Onkologie v obrazech	159
Radiodermatitis necrotica, akutní či chronický postradiační vřed Čoupek P.	

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 2019.
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 1/2020.

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 chechoslovaca.

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!

Léčba relabující/refrakterní akutní lymfoblastické leukemie dnes a zítra

Therapy of Relapsed/Refractory Acute Lymphoblastic Leukemia Today and Tomorrow

Hrabovský Š.¹, Folber F.¹, Doubek M.^{1,2}

¹ Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

² CEITEC – Středoevropský technologický institut, Masarykova univerzita, Brno

Souhrn

Východiska: V posledních letech dochází k řadě pokroků v diagnostice a léčbě relabující a refrakterní akutní lymfoblastické leukemie (ALL), objevu nových léků a jejich postupnému zavádění do denní praxe. Nové monoklonální protilátky a imunokonjugáty proti antigenům CD19 a CD22 vykazují v porovnání se standardními cytostatiky vysokou účinnost a výhodu nižší toxicity. Do klinického používání v indikaci relabované/refrakterní ALL se již dostaly dva léky z této skupiny – blinatumomab a inotuzumab ozogamicin. Díky ponatinibu a dalším tyrozinkinázovým inhibitorům vyšších generací je možné u Ph- pozitivní ALL redukovat dávky cytostatik intenzivních chemoterapeutických režimů, dokonce svojí účinností začínají pomalu zastiňovat význam alogenní transplantace hematopoetických buněk. Zatím je jejich indikace stále omezena na relabovanou/refrakterní ALL, v rámci klinických studií je však lze použít i v primoléčbě. Do klinického užití se dostává zcela nová skupina „živých“ léků v podobě T lymfocytů s chimérickým receptorem vytvořených genetickou manipulací nativních lidských buněk. Tyto lymfocyty jsou v podstatě *in vitro* trénovanými zabijáky leukemických blastů. Jejich účinnost je na poli léčby relabované/refrakterní ALL sice dosud nevídaná, zato ale vykoupená značnou toxicitou, především syndromem z uvolnění cytokinů. Ruxolitinib, mTOR inhibitory, bortezomib a další léky pro tzv. cílenou terapii ALL jsou ve fázi klinického hodnocení. **Cíl:** Tento článek přináší souhrn novinek v léčbě relabující a refrakterní ALL.

Klíčová slova

akutní lymfoblastická leukemie – relaps – monoklonální protilátky – CART lymfocyty – tyrozinkinázové inhibitory – nelarabin

Summary

Background: New diagnostics and treatments, including the use of new drugs, have advanced considerably the treatment of acute lymphoblastic leukemia (ALL) in the past few years. Monoclonal antibodies and immunoconjugates targeting antigens CD19 and CD22 show greater efficacy and more favourable toxicity profiles than standard salvage chemotherapeutic protocols. Two of these drugs – blinatumomab and inotuzumab ozogamicin – have already made their way into clinical practice. Ponatinib and other new generation tyrosine kinase inhibitors allow dose reduction of intensive cytostatic regimens in Ph-positive ALL patients and slowly start to overshadow the importance of allogeneic hematopoietic cell transplants. For the time being, their use is reserved for relapsed/refractory ALL, but they are already available as a first line therapy in clinical trials. An entirely new group of living drugs is emerging for the treatment of ALL – chimeric antigen receptor T-cells produced by genetic modification of native human cells. Chimeric antigen receptor T-cells can be looked upon as *in vitro* trained professional blast killers. They show an efficacy never seen before for the treatment of relapsed/refractory ALL. On the other hand, this treatment still presents significant risks, mainly due to cytokine release syndrome. Ruxolitinib, mTOR inhibitors, bortezomib, and other drugs for targeted treatment of ALL are currently being evaluated in clinical trials. **Purpose:** The article focuses on current options and news in the field of relapsed and refractory ALL treatment.

Key words

acute lymphoblastic leukemia – relapse – monoclonal antibodies – CART-cells – tyrosine kinase inhibitors – nelarabine

Tato práce vznikla na Masarykově univerzitě v rámci projektu „Nové přístupy ve výzkumu, diagnostice a terapii hematologických malignit VI“, číslo MUNI/A/1105/2018 podpořeného z prostředků účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum, kterou poskytlo MŠMT v roce 2019.

This work was created at Masaryk University as part of the project “New Approaches in Research, Diagnostics and Therapy of Hematological Malignancies VI”, number MUNI/A/1105/2018, supported by Czech Ministry of Education, Youth and Sports in 2019.

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. Štěpán Hrabovský
Interní hematologická
a onkologická klinika
LF MU a FN Brno
Jihlavská 20
625 00 Brno
e-mail: hrabovsky.stepan@fnbrno.cz

Obdrženo/Submitted: 28. 8. 2018

Přijato/Accepted: 10. 1. 2019

doi: 10.14735/amko201990

Úvod

Akutní lymfoblastická leukemie (ALL) je maligní klonální onemocnění krve tvorby vycházející z prekurzorových buněk B lymfoidní (B-ALL) nebo T lymfoidní (T-ALL) řady, B-ALL je přitom asi 3× častější než T-ALL. Jedná se o nej-

častější onkologické onemocnění v dětském věku s incidencí 3–4/100 000 dětí ročně a maximem výskytu ve věku 2–5 let. U dospělých se toto onemocnění řadí mezi vzácné malignity, ve věkové skupině > 18 let postihne asi 1,0–1,6/100 000 obyvatel ročně [1,2].

Výsledky současné léčby dětských pacientů s ALL se řadí mezi největší úspěchy na poli onkologie vůbec. Za posledních 50 let se tak z prakticky infaustního onemocnění postupně stala jedna z nejlépe léčitelných dětských malignit. Současnou indukční terapií dosa-

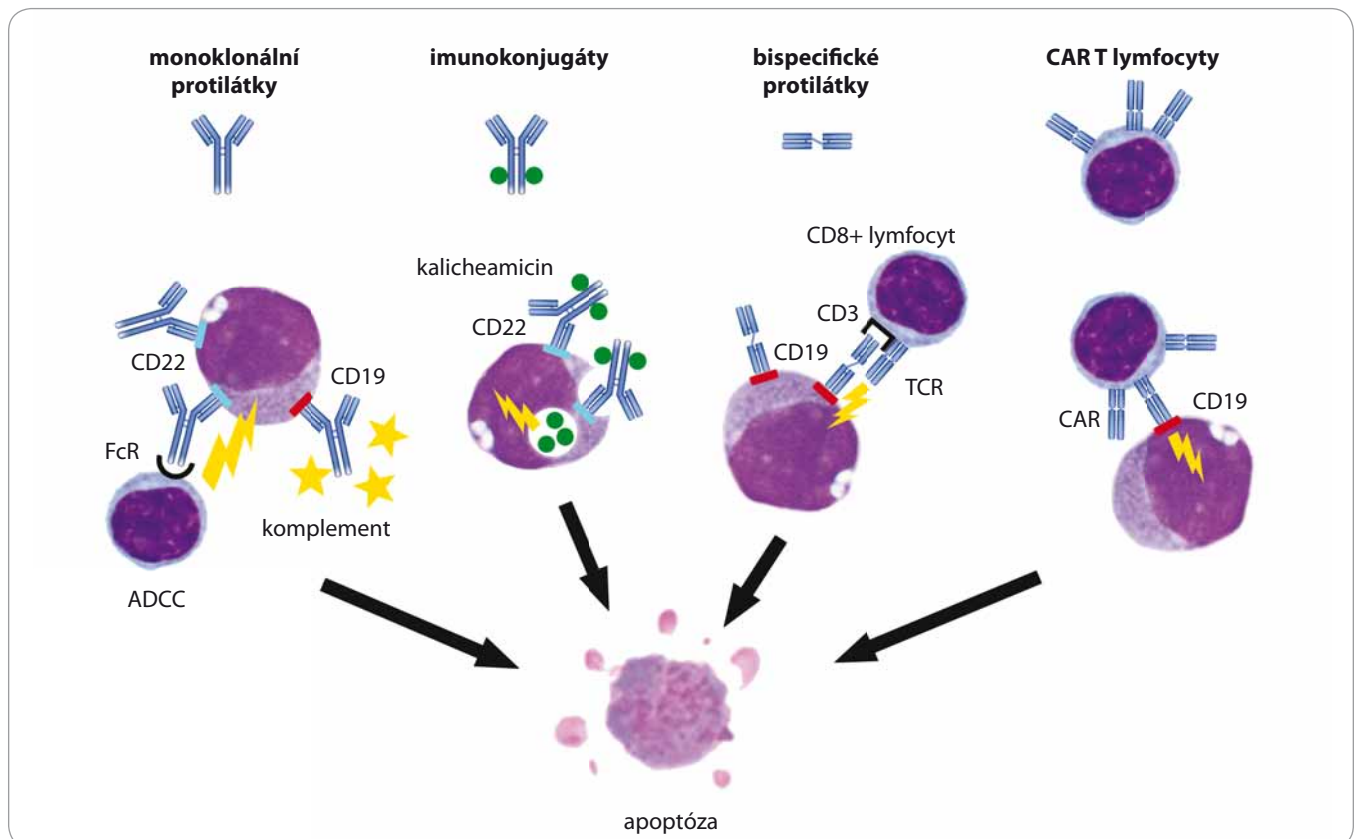


Schéma 1. Principy imunoterapie B-ALL.

B-ALL – akutní lymfoblastická leukemie vycházející z prekurzorových buněk B lymfoidní řady, ADCC – na protilátkách závislá buněčná cytotoxicita, FcR – fludarabin, cyklofosamid, rituximab, TCR – T buněčný receptor, CAR – chimerický antigenní receptor

Tab. 1. Povrchové antigeny blastů B-ALL využitelné pro cílenou terapii.

	Exprese	Funkce	Protilátka
CD20	20–80 % B-ALL, zvyšuje se s maturací, up-regulována indukční terapií	kalciový kanál, podílí se na diferenciaci a buněčném cyklu B lymfocytů	rituximab ofatumumab obinutuzumab
CD22	80–90 % B-ALL	adhezní molekula, rychlá internalizace po navázání ligandu, down-regulace receptoru B buněk a exprese CD19	epratuzumab inotuzumab
CD52	Zralé B i T lymfocyty, monocyty, makrofágy a buňky většiny maligní lymfoproliferací	kostimulační molekula regulačních T lymfocytů	alemtuzumab
CD19	přetrvává po celou dobu maturace B lymfocytů již od brzkých stadií	koreceptor receptoru B buněk, aktivace a vývoj B lymfocytů	blinatumomab CART lymfocyty

B-ALL – akutní lymfoblastická leukemie vycházející z prekurzorových buněk B lymfoidní řady, CAR – chimerický antigenní receptor

huje kompletní hematologické remise (complete remission – CR) 99 % pediatrických pacientů a jejich celkové dlouhodobé přežití (overall survival – OS) je 85–90 % [3,4].

Léčba ALL dospělých je oproti tomu mnohem svízelnější. Se zavedením moderních léčebných protokolů inspirovaných pediatrickými režimy sice prognóza dospělých pacientů zaznamenala výrazné zlepšení, výsledky jsou však i přesto stále neuspokojivé. Z pacientů ve věku 18–55 let dosáhne po indukci CR asi 90 %, ale jen 55 % se dožívá 5 let od stanovení diagnózy. Nemocní ve věkové skupině 55–70 let dosahují při léčbě klasickou chemoterapií (CHT) 3letého OS ve 20 % a pacienti léčení paliativně mají velmi špatnou prognózu s OS v řádu týdnů až několika málo měsíců [5–7].

Léčba relapsu ALL

Relaps ALL je hlavní příčinou rozdílu mezi relativně vysokým procentem iniciálně dosažených CR a nízkým procentem dlouhodobě přežívajících dospělých pacientů. Relaps postihne ve věkové skupině > 18 let až polovinu nemocných, onemocnění primárně refrakterní na indukční léčbu má asi 5 % pacientů [5–7].

Jedinou léčebnou možností pro tyto pacienty byl až do nedávna jeden ze záchranných chemoterapeutických režimů následovaný u mladších nemocných < 65 let věku alogenní transplantací krvetvorných buněk (allogeneic hematopoietic cell transplantation – allo-HCT). Ta je v případě relapsu ALL dospělých stále považována za jedinou léčebnou modalitu s kurativním potenciálem. Podmínkou účinné transplantace je ale předchozí navození druhé CR nemoci. Klasické záchranné režimy však mají značnou toxicitu a část pacientů umírá na komplikace této léčby. Seniorům a některým starším dospělým lze pak ze standardní CHT nabídnout jen paliativní režimy.

Východiskem v této situaci může být tzv. cílená terapie (targeted therapy) monoklonálními protilátkami a jejich konjugáty, inhibitory kináz či zcela novými postupy adoptivní imunity založenými na genetické manipulaci pacientových T lymfocytů (schéma 1). Na povrchu lymfoblastů je několik antigenů, které lze

dobře využít jako cíle monoklonálních protilátek (tab. 1). Léčba monoklonálními protilátkami má navíc oproti léčbě standardními cytostatiky zpravidla nižší toxicitu.

Monoklonální protilátky

Jedním z nových léků pro ALL je bispecifický monoklonální protilátkový konstrukt blinatumomab. Tato molekula se jedním epitopem váže na antigen CD19 leukemické buňky a druhým na CD3 (koreceptor T buněčného receptoru) T lymfocytu. T lymfocyt poté spustí proces apoptózy cílené buňky. Jeden takto aktivovaný T lymfocyt může zničit postupně i několik leukemických blastů. Navíc lék navozuje proliferaci a aktivaci dalších CD4⁺ i CD8⁺ T lymfocytů [8].

Registrační studie fáze III srovnávala monoterapii blinatumomabem oproti standardní CHT u pacientů s Ph-negativní R/R ALL. CR bylo dosaženo ve 44 vs. 25 % a medián OS byl 7,7 vs. 4,0 měsíce. Velká část těchto pacientů dosáhla i eradikace minimální zbytkové choroby (minimal residual disease – MRD) (76 vs. 48 %) [9]. MRD je přítom u ALL hlavním prediktorem prognózy konkrétního pacienta. Byla provedena i jednoramenná studie fáze II s Ph-positivními pacienty rezistentními na alespoň 2 linie tyrozin-kinázových inhibitorů (TKI), blinatumomab dosáhl podobných výsledků jako u pacientů Ph-negativních (38 % CR a medián OS 7,1 měsíce) [10].

Blinatumomab je v ČR dostupný od roku 2016, jeho indikací je léčba dospělých pacientů s Ph-negativní a CD19-positivní R/R ALL. Specifickými nežádoucími účinky léku jsou syndrom z uvolnění cytokinů (4,9 %), reverzibilní neurotoxicita s nejrůznějšími lokálními i celkovými projevy (9,4 %) a deplece zdravých B lymfocytů s nutností substituce imunoglobulinů. Infekční komplikace jsou méně časté než při CHT (34 vs. 52 %) [9].

V současnosti probíhají i studie fáze II a III hodnotící účinnost blinatumomabu v léčbě 1. linie jak u dospělých, tak pediatrických pacientů.

Epratuzumab je humanizovanou monoklonální protilátkou anti-CD22. Ve studii fáze II s dětskými ALL pacienty sice nezvýšil počet dosažených CR, ale zvýšilo

se procento eradikace MRD [11]. Ve studii fáze II s relabovnými dospělými pacienty prokázalo přidání epratuzumabu k CHT zvýšení počtu CR oproti historické kontrole (52 vs. 17 %) [12]. V současnosti probíhá s tímto lékem randomizovaná studie fáze III mezinárodní skupiny Int-ReALL s nově diagnostikovanými pediatrickými pacienty [13].

Další bispecifické anti-CD19/anti-CD3 monoklonální protilátky testované u ALL v nižších fázích klinického hodnocení jsou např. duvortuzumab a AFM-11.

Imunokonjugáty

Inotuzumab ozogamicin je imunokonjugát humanizované monoklonální protilátky anti-CD22 a cytostatika kalicheamicinu. Po navázání této molekuly na antigen dojde k internalizaci celého komplexu a jinak velmi toxické cytostatikum po uvolnění vazby s protilátkou působí jen uvnitř cílové buňky.

Randomizovaná studie fáze III srovnávající monoterapii tímto lékem se standardní záchrannou CHT přinesla u dospělých pacientů s Ph-negativní i Ph-positivní R/R ALL povzbuzující výsledky. Mezi pacienty, kteří dosáhli CR (81 vs. 29 %), bylo i vysoké procento dosažených MRD negativit (78 vs. 28 %). Rozdíl 2letého OS byl sice dle vytyčených cílů studie statisticky nesignifikantní, ale počet dlouhodobě přeživších pacientů byl v rameni s inotuzumabem ozogamicinem oproti rameni s CHT více než dvojnásobný (23 vs. 10 %, $p = 0,02$) [14]. Přidání nízké intenzivní CHT k inotuzumabu ozogamicinu ještě dále zvýšilo počet dosažených CR [15].

Probíhá i hodnocení efektu inotuzumabu ozogamicinu v primoléčbě ALL. Studie fáze II testovala kombinaci inotuzumabu ozogamicinu s redukovanou CHT u pacientů s věkem > 65 let. Pacienti dosáhli 3letého OS v 56 %, což je výsledek v této věkové skupině dosud neznamenatelný [16]. Nedávno zahájená studie fáze III má za cíl zhodnotit účinnost přidání inotuzumabu ozogamicinu k intenzivní CHT u nově diagnostikovaných mladých dospělých.

Inotuzumab ozogamicin je v ČR dostupný od roku 2017. Dle indikačních kritérií jej lze použít k léčbě Ph-negativní

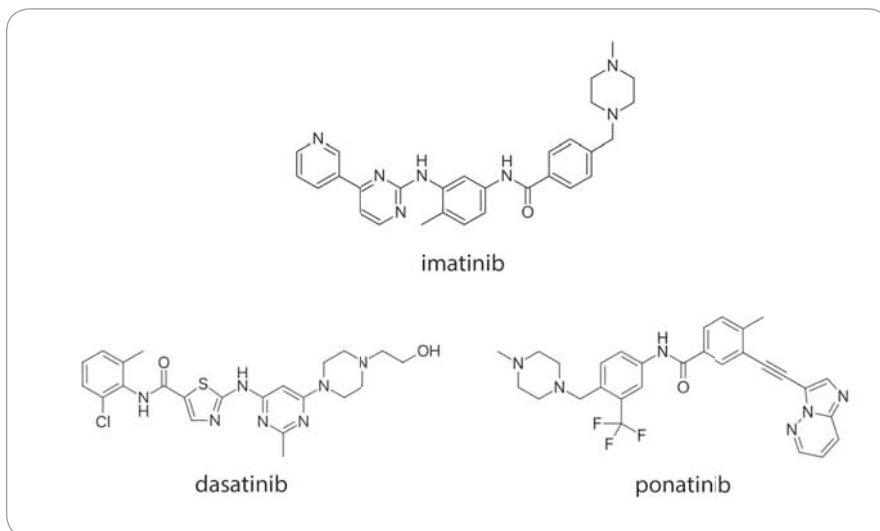


Schéma 2. Tyrozinkinázoové inhibitory v léčbě Ph+ akutní lymfoblastické leukemie.

i Ph-pozitivní R/R ALL dospělých. Mezi specifické nežádoucí účinky této léčby patří elevace bilirubinu (15 %), jaterních transamináz (20 %) a venózní okluzivní choroba jater (11 %) [14].

Další z imunokonjugátů pro léčbu ALL hodnocených v klinických studiích nižších fází jsou např. moxetumomab pasudotox (imunokonjugát anti-CD22 s navázaným fragmentem exotoxinu A bakterie *Pseudomonas aeruginosa*), denintuzumab mafodotin (imunokonjugát anti-CD19 s mikrotubulovým toxinem monometyl auristatinem F), Combotox (směs imunokonjugátů anti-CD19 a anti-CD22 s deglykosylovaným ricinem A) a ADCT-402 (imunokonjugát anti-CD19 s navázaným cytostatikem pyrolobenzodiazepinem).

Adoptivní imunoterapie

Novým krokem tzv. „T-cell engaging“ strategie v léčbě nejen ALL, ale i jiných malignit, jsou T lymfocyty s chimérickým receptorem (chimeric antigen receptor – CAR). Jedná se o lymfocyty odebrané z periferní krve pacienta, do kterých je *in vitro* (nejčastěji pomocí virového vektoru) vpraven gen pro chimérický T buněčný receptor se specificitou proti definovanému povrchovému antigenu nádorové buňky, u B-ALL většinou CD19. Po kultivaci jsou takto modifikované CAR T lymfocyty infuzí aplikovány nemocnému. V těle pacienta dojde k proliferaci CAR T lymfocytů a imunitní reakci namířené proti nádorové buněčné po-

puhaci. Testovány jsou i metodiky výroby alogenních CAR T lymfocytů z buněk odebraných od zdravého dárce [13].

Jednotlivé pracovní skupiny již vyvinuly několik postupů výroby těchto modifikovaných T lymfocytů, ty se liší jak stavbou samotného chimérického receptoru a jeho kostimulačních domén, tak způsobem přenosu kódujícího genu do T lymfocytů. Vektorem přenosu genu je nejčastěji gamaretrovirus a lentivirus, zkoušeny jsou i alternativní postupy jako přenesení CAR genu syntetickým transpozonom (technologie Sleeping Beauty) nebo přímá elektroporace RNA do T lymfocytů [17,18].

Druhá generace CAR T lymfocytů disponuje kostimulační doménou CD28 nebo 4-1BB, třetí generace kombinací více kostimulačních domén s efektem zvýšení protinádorové aktivity [19]. Čtvrtá generace, tzv. TRUCK (T-cell Redirected Universal Cytokine Killing), dokáže pomocí sekrece vlastních transgenických cytokinů (např. IL-12) ovlivňovat nádorové stroma a zvýšit migraci jiných naivních imunitních buněk do oblasti nádoru [20]. Pro léčbu malignit jsou zkoumány i možnosti zapojení *in vitro* modifikovaných NK (natural killer) buněk [21].

Mezi hlavní projevy toxicity léčby CAR T lymfocytů patří podobně jako u blinatumomabu syndrom z uvolnění cytokinů, zde ale obecně s těžším průběhem nezřídka vyústujícím v multiorganové selhání. Dalšími komplikacemi jsou neu-

rotoxicita, deplece zdravých B lymfocytů s hypogamaglobulinemií a infekční komplikace. Výsledky léčby jsou ale i přes vysokou toxicitu motivující, již několik na sobě nezávislých studií fáze I a II prokázalo > 90 % navozených CR u dětských i dospělých pacientů s R/R ALL [22–24].

Tato léčebná metoda zaznamenává dobré výsledky i u chronické lymfocytární leukemie a agresivních B lymfomů [25–28]. CAR T lymfocyty jsou také testovány u nehematologických malignit, např. neuroblastomu, ovariálního karcinomu, renálního karcinomu nebo hepatocelulárního karcinomu. U solidních nádorů situaci komplikuje nádorové stroma a jeho mikroprostředí, které omezuje průnik CAR T lymfocytů do tumoru a znesnadňuje zde jejich přežívání i samotnou vazbu na nádorové buňky [29].

V roce 2017 byl americkým Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv (U. S. Food and Drug Administration – FDA) schválen první komerčně vyráběný preparát CAR T lymfocytů – tisagenlecleucel. Jeho indikací je léčba R/R ALL u dětí a mladých dospělých < 25 let a relabovaného/refrakterního difuzního velkobuněčného B lymfomu (R/R difuzního velkobuněčného B lymfomu) dospělých. Další preparát, axicabtagene ciloleucel, byl nedlouho poté schválen pro léčbu R/R difuzního velkobuněčného B lymfomu dospělých. Oba léky jsou v zemích EU dostupné od srpna 2018.

Tyrozinkinázoové inhibitory

Filadelfský chromozom (Ph chromozom) dávající podklad fúznímu genu *BCR-ABL1* je přítomen u 20–25 % dospělých a 3 % dětských pacientů s ALL. Vyskytuje se téměř výhradně u B-prekurzorové linie ALL. Dříve byla Ph-pozitivní ALL (Ph+ ALL) variantou onemocnění s nejhorší prognózou. Tato situace se ale se zavedením TKI do léčebných režimů v roce 2001 zásadně změnila [30]. V současnosti jsou v ČR pro léčbu Ph+ ALL schváleny tři různé TKI (schéma 2).

V našich podmínkách je standardem primoléčby mladších pacientů s Ph+ ALL přidání imatinibu k intenzivní CHT a po dosažení CR provedení allo-HCT. Přidání imatinibu k CHT zvýšilo u nemocných podstupujících allo-HCT počet do-

sažených CR na > 90 % a 5leté přežití bez progresu z 28–40 % na 43–63 % [31–33]. U starších nemocných je imatinib v rámci paliativní léčby podáván s redukcí CHT nebo jen s pulzy kortikoidů. I tento typ léčby ale dokáže navodit poměrně dlouhé remise s mediánem OS až 20 měsíců [34].

Hlavním problémem dlouhodobé léčby imatinibem je klonální evoluce blastů a vznik nových mutací ve fúzním genu *BCR-ABL1*. Takto vzniklá populace blastů je pak na imatinib rezistentní a dává vznik relapsu choroby. Preparáty TKI druhé generace dokážou překonat velkou část mutací *BCR-ABL1*. Navíc inhibují i SRC kinázy, které rovněž hrají roli v patogenezi Ph+ ALL [35]. Další výhodou těchto léků je jejich schopnost překročit hematoencefalickou bariéru, a tím účinněji bránit relapsu v centrálním nervovém systému [36]. V ČR je z těchto preparátů v indikaci léčby R/R Ph+ ALL dostupný dasatinib. I v léčbě nově diagnostikovaných pacientů se zdá být účinnější než imatinib, CR byla dosažena u > 90 % pacientů, četnost eradikace MRD byla taktéž téměř 90 % [37–39]. Další dva zástupci TKI druhé generace nilotinib a bosutinib jsou používány spíše v léčbě chronické myeloidní leukemie. Oba tyto léky nemají v ČR schválenou indikaci k léčbě Ph+ ALL.

Častou mutací *ABL1* domény je mutace *T315I*, která je rezistentní na léčbu imatinibem i všemi TKI druhé generace. Jediným účinným lékem je v této situaci ponatinib, zástupce třetí generace TKI. Ve studii fáze II dosáhli CR všichni nově diagnostikovaní pacienti léčení kombinací ponatinibu a intenzivní CHT, 78 % z nich bylo i MRD negativních a 3leté OS bylo 79 %. Nebyl statisticky významný rozdíl v OS mezi skupinou pacientů, kteří podstoupili allo-HCT s následnou udržovací léčbou ponatinibem, a kteří měli jen udržovací léčbu bez transplantace [40]. Výsledky této a následně i další podobné studie nasvědčují tomu, že by v budoucnu možná vůbec nebylo nutné při léčbě Ph+ ALL pomocí TKI vyšších generací provádění allo-HCT [41,42]. Tato lákavá domněnka však ještě vyžaduje potvrzení na větších souborech pacientů. Ponatinib je v ČR pro léčbu Ph+ ALL indikován ve 3. linii léčby při rezistenci

nebo intoleranci dasatinibu nebo kdykoliv v průběhu léčby při průkazu mutace *T315I*.

V současnosti probíhá několik klinických studií fáze II a III hodnotících léčbu Ph+ ALL ponatinibem v kombinaci s intenzivní nebo redukcí CHT, dále jsou testovány kombinace TKI s blinatumabem, kombinace ponatinibu s venetoclaxem či zcela nové molekuly TKI/aurora inhibitorů s účinností proti mutaci *T315I* tozasertib, danusertib a HG-7-85-01 [43–47].

Zvláštním novým lékem z této skupiny je asciminib. Váže se na jiné místo *BCR-ABL1* než ostatní TKI a má tak jiný profil účinnosti stran mutací této kinázy. Vyznačuje vysokou specificitu proti mutaci *T315I*, avšak není účinný u některých jiných „běžných“ mutací [48].

Další inhibitory buněčných signálních drah

Recentně identifikovanou podskupinou B-ALL s nepříznivou prognózou a podobným profilem genové exprese jako Ph+ ALL je Ph-like ALL. Tyto leukemie se vyznačují defekty genů kináz signálních drah ABL1 a JAK/STAT (janus kinase / signal transducers and activators of transcription). Nejčastější aberace u Ph-like ALL jsou v genu *CRLE2* a *JAK2* [49]. U těchto případů se předpokládá účinnost *JAK2* inhibitorů (ruxolitinib) používaných především u Ph-negativních chronických myeloproliferací. V současnosti probíhá studie fáze II s přidáním ruxolitinibu ke standardní CHT u nově diagnostikovaných pacientů.

Další potenciálně využitelnou skupinou léků zasahujících do signálních buněčných drah jsou PI3K/mTOR inhibitory (fosfatidylinositol 3-kináza, mammalian target of rapamycin). Tyto kinázové dráhy jsou konstitutivně aktivovány až u 75 % případů T-ALL [50]. Preklinická data naznačují, že by léky z této skupiny mohly být u T-ALL účinné, obzvláště pak v kombinaci s cytostatiky. U R/R T-ALL probíhá několik klinických studií časných fází pro sirolimus, temsirolimus, everolimus, sapanisertib nebo BEZ235.

Jinou lékovou skupinou zkoušenou u ALL jsou inhibitory proteazomu (bortezomib) používané v léčbě mnohočetného myelomu. Díky schopnosti inhibo-

vat signální dráhy NF-κB (nuclear factor κB) a Notch1, které jsou často aktivované u T-ALL, by tyto léky mohly najít léčebné uplatnění. V současnosti probíhají s bortezomibem u T-ALL studie fáze II a III.

Purinová analoga

Příchod nových monoklonálních protilátek s anti-CD19 a anti-CD22 aktivitou a CAR T lymfocytů výrazně zlepšil výsledky léčby R/R B-ALL. Buňky T lymfocytární linie však tyto antigeny neexprimují. Zatímco primoléčba je u obou linií ALL v podstatě stejná, nových léků využitelných při relapsu T-ALL je stále pomálu.

Již v roce 2007 byl pro léčbu R/R T-ALL schválen purinový analog nelarabin. V klinických studiích fáze II navodil CR u 31–36 % relabovaných pacientů, což bylo oproti historickým kontrolám s klasickou záchrannou CHT určité zlepšení [51,52]. Nelarabin byl testován i v kombinaci s dalšími cytostatiky, avšak cenou za vyšší účinnost bylo zvýraznění toxicity [53]. V ČR je nelarabin indikován k léčbě R/R T-ALL až po selhání standardní záchranné CHT.

Závěr

V posledních letech se portfolio léků pro ALL rozšířilo o několik nadějných kandidátů, z nichž některé je už dnes možno podávat pacientům nejen s R/R ALL, ale v rámci klinických studií i nově diagnostikovaným. Každý rok vstupují do klinického hodnocení další nové molekuly monoklonálních protilátek, imunokonjugátů a kinázových inhibitorů. Zcela novou skupinou léků jsou CAR T lymfocyty, které možná v nejbližších letech způsobí revoluci nejen v hematologii, ale i v celé onkologii vůbec. S nadějí lze říci, že v léčbě R/R ALL se blýská na lepší časy.

Literatura

1. Bassan R, Hoelzer D. Modern therapy of acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 2011; 29(5): 532–543. doi: 10.1200/JCO.2010.30.
2. Ustwan OA, Gupta N, Bakhrabah H et al. Clinical updates in adult acute lymphoblastic leukemia. *Crit Rev Oncol Hematol* 2016; 99: 189–199. doi: 10.1016/j.critrevonc.2015.12.007.
3. Cole, CH. Lessons from 50 years of curing childhood leukaemia. *J Paediatr Child Health* 2015; 51(1): 78–81. doi: 10.1111/jpc.12803.
4. Šálek C, Šponerová D, Soukupová et al. Akutní lymfoblastová leukemie: historie a současnost. *Vnitř Lek* 2012; 58 (Suppl 2): 20–26.

5. Faderl S, O'Brien S, Pui CH et al. Adult acute lymphoblastic leukemia: concepts and strategies. *Cancer* 2010; 116(5): 1165–1176. doi: 10.1002/cncr.24862.
6. O'Brien S, Thomas DA, Ravandi F et al. Results of the hyperfractionated cyclophosphamide, vincristine, doxorubicin, and dexamethasone regimen in elderly patients with acute lymphocytic leukemia. *Cancer* 2008; 113(8): 2097–2101. doi: 10.1002/cncr.23819.
7. Folber F, Hadravová M, Hrabovský Š et al. Acute lymphoblastic leukemia in the elderly: a tough one. *Haematologica* 2013; 98 (Suppl 1): 498–499.
8. Klinger M, Brandl C, Zugmaier G et al. Immunopharmacologic response of patients with B-lineage acute lymphoblastic leukemia to continuous infusion of T-cell-engaging CD19/CD3-bispecific BiTE antibody blinatumomab. *Blood* 2012; 119(26): 6226–6233. doi: 10.1182/blood-2012-01-400515.
9. Kantarjian H, Stein A, Gökbuget N et al. Blinatumomab versus chemotherapy for advanced acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2017; 376(9): 836–847. doi: 10.1056/NEJMoa1609783.
10. Martinelli G, Boissel N, Chevallier P et al. Complete hematologic and molecular response in adult patients with relapsed/refractory Philadelphia chromosome-positive B-precursor acute lymphoblastic leukemia following treatment with blinatumomab: results from a phase II, single-arm, multicenter study. *J Clin Oncol* 2017; 35(16): 1795–1802. doi: 10.1200/JCO.2016.69.3531.
11. Raetz EA, Cairo MS, Borowitz MJ et al. Re-induction chemoimmunotherapy with epratuzumab in relapsed acute lymphoblastic leukemia (ALL): phase II results from Children's Oncology Group (COG) study AD-VL04P2. *Pediatr Blood Cancer* 2015; 62(7): 1171–1175. doi: 10.1002/pbc.25454.
12. Advani AS, McDonough S, Coutre S et al. SWOG S0910: a phase 2 trial of clofarabine/cytarabine/epratuzumab for relapsed/refractory acute lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol* 2014; 165(4): 504–509. doi: 10.1111/bjh.12778.
13. Poirot L, Philip B, Schiffer-Mannoui C et al. Multiplex genome-edited T-cell manufacturing platform for „off-the-shelf“ adoptive T-cell immunotherapies. *Cancer Res* 2015; 75(18): 3853–3864. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-14-3321.
14. Kantarjian HM, DeAngelo DJ, Stelljes M et al. Inotuzumab ozogamicin versus standard therapy for acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2016; 375(8): 740–753. doi: 10.1056/NEJMoa1509277.
15. Jabbour E, Sasaki K, Ravandi F et al. Chemoimmunotherapy with inotuzumab ozogamicin combined with mini-hyper-CVD, with or without blinatumomab, is highly effective in patients with Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia in first salvage. *Cancer* 2018; 124(20): 4044–4055. doi: 10.1002/cncr.31720.
16. Kantarjian H, Ravandi F, Short NJ et al. Inotuzumab ozogamicin in combination with low-intensity chemotherapy for older patients with Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukaemia: a single-arm, phase 2 study. *Lancet Oncol* 2018; 19(2): 240–248. doi: 10.1016/S1470-2045(18)30011-1.
17. Monjezi R, Miskey C, Gogishvili T et al. Enhanced CAR T-cell engineering using non-viral Sleeping Beauty transposition from minicircle vectors. *Leukemia* 2017; 31(1): 186–194. doi: 10.1038/leu.2016.180.
18. Zhao Y, Moon E, Carpenito C et al. Multiple injections of electroporated autologous T-cells expressing a chimeric antigen receptor mediate regression of human disseminated tumor. *Cancer Res* 2010; 70(22): 9053–9061. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-2880.
19. Park JH, Geyer MB, Brentjens RJ. CD19-targeted CAR T-cell therapeutics for hematologic malignancies: interpreting clinical outcomes to date. *Blood* 2016; 127(26): 3312–3320. doi: 10.1182/blood-2016-02-629063.
20. Chmielewski M, Hombach AA, Abken H. Of CARs and TRUCKs: chimeric antigen receptor (CAR) T-cells engineered with an inducible cytokine to modulate the tumor stroma. *Immunol Rev* 2014; 257(1): 83–90. doi: 10.1111/immr.12125.
21. Kellner C, Günther A, Humpe A et al. Enhancing natural killer cell-mediated lysis of lymphoma cells by combining therapeutic antibodies with CD20-specific immunoligands engaging NKG2D or NKP30. *Oncoimmunology* 2015; 5(1): e1058459. doi: 10.1080/2162402X.2015.1058459.
22. Maude SL, Frey N, Shaw PA et al. Chimeric antigen receptor T-cells for sustained remissions in leukemia. *N Engl J Med* 2014; 371(16): 1507–1517. doi: 10.1056/NEJMoa1407222.
23. Davila ML, Riviere I, Wang X et al. Efficacy and toxicity management of 19-28z CAR T-cell therapy in B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Sci Transl Med* 2014; 6(224): 224ra25. doi: 10.1126/scitranslmed.3008226.
24. Luskin MR, DeAngelo DJ. Chimeric antigen receptor therapy in acute lymphoblastic leukemia clinical practice. *Curr Hematol Malig Rep* 2017; 12(4): 370–379. doi: 10.1007/s11899-017-0394-x.
25. Porter DL, Levine BL, Kalos M et al. Chimeric antigen receptor-modified T-cells in chronic lymphoid leukemia. *N Engl J Med* 2011; 365(8): 725–733. doi: 10.1056/NEJMoa1103849.
26. Porter DL, Hwang WT, Frey NV et al. Chimeric antigen receptor T-cells persist and induce sustained remissions in relapsed refractory chronic lymphocytic leukemia. *Sci Transl Med* 2015; 7(303): 303ra139. doi: 10.1126/scitranslmed.aac5415.
27. Neelapu SS, Locke FL, Bartlett NL et al. Axicabtagene ciloleucel CAR T-cell therapy in refractory large B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 2017; 377(26): 2531–2544. doi: 10.1056/NEJMoa1707447.
28. Schuster SJ, Svoboda J, Chong EA et al. Chimeric antigen receptor T-cells in refractory B-cell lymphomas. *N Engl J Med* 2017; 377(26): 2545–2554. doi: 10.1056/NEJMoa1708566.
29. Long KB, Young RM, Boesteanu AC et al. CAR T-cell therapy of non-hematopoietic malignancies: detours on the road to clinical success. *Front Immunol* 2018; 9: 2740. doi: 10.3389/fimmu.2018.02740.
30. Short NJ, Kantarjian H, Jabbour E et al. Which tyrosine kinase inhibitor should we use to treat Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia? *Best Pract Res Clin Haematol* 2017; 30(3): 193–200. doi: 10.1016/j.beha.2017.05.001.
31. Fielding AK, Rowe JM, Richards SM et al. Prospective outcome data on 267 unselected adult patients with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia confirms superiority of allogeneic transplantation over chemotherapy in the pre-imatinib era: results from the International ALL Trial MRC UKALLXII/ECOG2993. *Blood* 2009; 113(19): 4489–4496. doi: 10.1182/blood-2009-01-199380.
32. Daver N, Thomas D, Ravandi F et al. Final report of a phase II study of imatinib mesylate with hyper-CVAD for the front-line treatment of adult patients with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica* 2015; 100(5): 653–661. doi: 10.3324/haematol.2014.118588.
33. Jabbour E, Pui CH, Kantarjian H. Progress and innovations in the management of adult acute lymphoblastic leukemia. *JAMA Oncol* 2018; 4(10): 1413–1420. doi: 10.1001/jamaoncol.2018.1915.
34. Vignetti M, Fazi P, Cimino G et al. Imatinib plus steroids induces complete remissions and prolonged survival in elderly Philadelphia chromosome-positive patients with acute lymphoblastic leukemia without additional chemotherapy: results of the Gruppo Italiano Malattie Ematologiche dell'Adulto (GIMEMA) LAL0201-B protocol. *Blood* 2007; 109(9): 3676–3678. doi: 10.1182/blood-2006-10-052746.
35. Hu Y, Liu Y, Pelletier S et al. Requirement of Src kinases Lyn, Hck and Fgr for BCR-ABL1-induced B-lymphoblastic leukemia but not chronic myeloid leukemia. *Nat Genet* 2004; 36(5): 453–461. doi: 10.1038/ng1343.
36. Porkka K, Koskenvesa P, Lundan T et al. Dasatinib crosses the blood-brain barrier and is an efficient therapy for central nervous system Philadelphia chromosome-positive leukemia. *Blood* 2008; 112(4): 1005–1012. doi: 10.1182/blood-2008-02-140665.
37. Ravandi F, Othus M, O'Brien SM et al. US Intergroup study of chemotherapy plus dasatinib and allogeneic stem cell transplant in Philadelphia chromosome positive ALL. *Blood Adv* 2016; 1(3): 250–259. doi: 10.1182/bloodadvances.2016001495.
38. Ravandi F, O'Brien SM, Cortes JE et al. Long-term follow-up of a phase 2 study of chemotherapy plus dasatinib for the initial treatment of patients with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *Cancer* 2015; 121(23): 4158–4164. doi: 10.1002/cncr.29646.
39. Slayton WB, Schultz KR, Kairalla JA et al. Dasatinib plus intensive chemotherapy in children, adolescents, and young adults with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia: results of Children's Oncology Group trial AALL0622. *J Clin Oncol* 2018; 36(22): 2306–2314. doi: 10.1200/JCO.2017.76.7228.
40. Jabbour E, Kantarjian H, Ravandi F et al. Combination of hyper-CVAD with ponatinib as first-line therapy for patients with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukaemia: a single-centre, phase 2 study. *Lancet Oncol* 2015; 16(15): 1547–1555. doi: 10.1016/S1470-2045(15)00207-7.
41. Nicolini FE, Basak GW, Kim DW et al. Overall survival with ponatinib versus allogeneic stem cell transplantation in Philadelphia chromosome-positive leukemias with the T315I mutation. *Cancer* 2017; 123(15): 2875–2880. doi: 10.1002/cncr.30558.
42. Jabbour E, DerSarkissian M, Duh MS et al. Efficacy of ponatinib versus earlier generation tyrosine kinase inhibitors for front-line treatment of newly diagnosed Philadelphia-positive acute lymphoblastic leukemia. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2018; 18(4): 257–265. doi: 10.1016/j.clml.2018.02.010.
43. Assi R, Kantarjian H, Short NJ et al. Safety and efficacy of blinatumomab in combination with a tyrosine kinase inhibitor for the treatment of relapsed Philadelphia chromosome-positive leukemia. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2017; 17(12): 897–901. doi: 10.1016/j.clml.2017.08.101.
44. Giles FJ, Swords RT, Nagler A et al. MK-0457, an Aurora kinase and BCR-ABL inhibitor, is active in patients with BCR-ABL T315I leukemia. *Leukemia* 2013; 27(1): 113–117. doi: 10.1038/leu.2012.186.
45. Borthakur G, Dombret H, Schaffhausen P et al. A phase I study of danusertib (PHA-739358) in adult patients with accelerated or blastic phase chronic myeloid leukemia and Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia resistant or intolerant to imatinib and/or other second generation c-ABL therapy. *Haematologica* 2015; 100(7): 898–904. doi: 10.3324/haematol.2014.115279.
46. Weisberg E, Choi HG, Ray A et al. Discovery of a small-molecule type II inhibitor of wild-type and gatekeeper mutants of BCR-ABL, PDGFR α , Kit, and Src kinases: novel type II inhibitor of gatekeeper mutants. *Blood* 2010; 115(21): 4206–4216. doi: 10.1182/blood-2009-11-251751.
47. Rossari F, Minutolo F, Orciuolo E. Past, present, and future of Bcr-Abl inhibitors: from chemical development to clinical efficacy. *J Hematol Oncol* 2018; 11(1): 84. doi: 10.1186/s13045-018-0624-2.
48. Wylie AA, Schoepfer J, Jahnke W et al. The allosteric inhibitor ABL001 enables dual targeting of BCR-ABL1. *Nature* 2017; 543(7647): 733–737. doi: 10.1038/nature21702.
49. Roberts KG, Morin RD, Zhang J et al. Genetic alterations activating kinase and cytokine receptor signaling in

high-risk acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Cell* 2012; 22(2): 153–166. doi: 10.1016/j.ccr.2012.06.005.

50. Zhao WL. Targeted therapy in T-cell malignancies: dysregulation of the cellular signaling pathways. *Leukemia* 2010; 24: 13–21. doi: 10.1038/leu.2009.223.

51. DeAngelo DJ, Yu D, Johnson JL et al. Nelarabine induces complete remissions in adults with relapsed or

refractory T-lineage acute lymphoblastic leukemia or lymphoblastic lymphoma: Cancer and Leukemia Group B study 19801. *Blood* 2007; 109(12): 5136–5142. doi: 10.1182/blood-2006-11-056754.

52. Gökbüget N, Basara N, Baurmann H et al. High single-drug activity of nelarabine in relapsed T-lymphoblastic leukemia/lymphoma offers curative option with sub-

sequent stem cell transplantation. *Blood* 2011; 118(13): 3504–3511. doi: 10.1182/blood-2011-01-329441.

53. Commander LA, Seif AE, Insogna IG et al. Salvage therapy with nelarabine etoposide, and cyclophosphamide in relapsed/refractory paediatric T-cell lymphoblastic leukaemia and lymphoma. *Br J Haematol* 2010; 150(3): 345–351. doi: 10.1111/j.1365-2141.2010.08236.x.

INFORMACE Z ČESKÉ ONKOLOGICKÉ SPOLEČNOSTI

Informace z České onkologické společnosti

Zápis ze schůze výboru České onkologické společnosti konané 12. 3. 2019 ve FN Motol v Praze naleznete na www.linkos.cz.

Oligometastatický karcinom prostaty

Oligometastatic Prostate Cancer

Navrátil J.^{1,2}, Poprach A.^{1,2}, Lakomý R.^{1,2}, Kocák I.^{1,2}, Vašina J.^{2,3}, Krupa P.^{2,4}, Vyzula R.^{1,2}

¹ Klinika komplexní onkologické péče, Masarykův onkologický ústav, Brno

² LF MU, Brno

³ Oddělení nukleární medicíny, Masarykův onkologický ústav, Brno

⁴ Klinika radiační onkologie, Masarykův onkologický ústav, Brno

Souhrn

Východiska: S rozvojem diagnostických metod se zpřesňuje i diagnostika karcinomu prostaty. Oligometastatické onemocnění je tak zjištěno u pacientů, kteří by byli dříve zařazeni do skupiny s lokalizovaným onemocněním. U tohoto stadia onemocnění přibývá důkazů o efektivitě intenzifikace léčby cílené jak na primární nádor, tak i na metastatické postižení. Dokážeme tímto způsobem oddálit zahájení systémové paliativní léčby a prodloužit i celkové přežití. Mnoho otázek ale zůstává zatím stále nezodpovězených, např. samotná definice oligometastatického onemocnění, a kterým pacientům nabídnout agresivnější léčbu. Data jsou zatím limitovaná a pocházejí z malých retrospektivních studií, ale konkluzivně ukazují benefit v přežití při cílené léčbě primárního tumoru prostaty i metastatických ložisek za pomoci chirurgie či radioterapie. Nejčastěji je v této indikaci využívána stereotaktická radioterapie. A to vše s minimálními nežádoucími účinky. V retrospektivních studiích byl pro oligometastatické onemocnění většinou akceptován počet 3–5 metastatických ložisek, ale soubory pacientů byly značně heterogenní. Recentně probíhající studie se proto snaží přesněji definovat oligometastatické onemocnění a najít pravou míru intenzifikace léčby. Kdy a u kterého pacienta volit léčbu cílenou na metastázy a kdy má už naopak smysl standardní systémová léčba? Již nyní je ale jasné, že u vybraných pacientů má cílená personalizovaná léčba jasný benefit. **Cíl:** Záměrem tohoto přehledového článku je nabídnout aktuální pohled na problematiku oligometastatického karcinomu prostaty. Článek předkládá stručný souhrn literatury, moderní možnosti diagnostických zobrazovacích metod a léčebné možnosti oligometastatického karcinomu prostaty vč. chirurgie a radioterapie.

Klíčová slova

karcinom prostaty – oligometastatické onemocnění – prostatektomie – radioterapie – androgen-deprivační léčba – PET/CT

Summary

Background: With advancements in diagnostic techniques, oligometastatic prostate cancer is diagnosed in patients who were, in the past, considered to have localized disease. Moreover, evidence of the effectiveness of treatment intensification for this disease is increasing, focusing on primary tumors as well as metastatic lesions. Thus, we can delay the start of systemic palliative treatment and improve overall survival. Many questions remain unclear, such as the definition of oligometastatic disease, or which patients should be offered aggressive treatment. Data are limited and come from small retrospective studies but show conclusively the benefits of survival in targeted primary prostate and metastatic prostate cancer therapy with surgery or radiotherapy. Often, stereotactic radiotherapy is used in this indication, with minimal side effects. In retrospective studies, 3–5 metastatic lesions were generally accepted for definition of oligometastatic disease, but patient subgroups were heterogeneous. A recent study attempts to better define oligometastatic disease and find out the right degree of intensification of treatment. When and in which patient to use metastasis-targeted therapy and when the standard systemic treatment is already meaningful. It is already clear that selected patients benefit from targeted personalized treatment. **Purpose:** The purpose of this review is to offer an update of the problem of oligometastatic prostate cancer. The article presents an overview of data from contemporary literature, modern possibilities of diagnostic imaging methods and treatment options of oligometastatic prostate cancer including surgery and radiotherapy.

Key words

prostate cancer – oligometastatic disease – prostatectomy – radiotherapy – androgen-deprivation therapy – PET/CT

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. Jiří Navrátil, Ph.D.

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

Obdrženo/Submitted: 8. 2. 2019

Přijato/Accepted: 5. 3. 2019

doi: 10.14735/amko201997

Úvod

Oligometastatické onemocnění reprezentuje klinicko-anatomické stadium nemoci na pomezí lokalizovaného a polymetastatického onemocnění. Pojem oligometastatické onemocnění v souvislosti s karcinomem prostaty (prostate cancer – CaP) poprvé definoval v roce 1995 Hellman a Weischelbaum [1].

Recentní výzkumy ale ukazují, že oligo- a polymetastatické onemocnění nemusí být postupným vývojovým krokem v rozvoji CaP, ale může se jednat o dvě rozdílné entity. Genomová analýza metastatických (MTS) buněk CaP ukázala, že letální klon nemusí pocházet z primárního nádoru, ale z MTS [2,3]. Oligometastatické onemocnění tak můžeme považovat za heterogenní skupinu s rozdílným chováním i prognózou. Na základě výše popsaných skutečností se v klinické praxi uplatňuje rozdílný pohled na toto onemocnění a jeho rozdílná léčba. Použití intenzivnějšího přístupu, jako je radikální prostatektomie (RP) či radioterapie (RT) s léčbou cílenou i na MTS (nejčastěji stereotaktická radioterapie (stereotactic body radiation therapy – SBRT)) může vést ke značnému benefitu pro pacienta ve smyslu oddálení doby do progresu a prodloužení celko-

vého přežití (overall survival – OS) [4,5]. Někteří autoři dokonce hovoří o kurativním přístupu. Další výhodou léčby cílené i na MTS může být oddálení zahájení androgen deprivace (ADT). ADT je stále základní léčebnou modalitou CaP, její dlouhodobé užívání je ale provázáno mnoha vedlejšími účinky. Oddálení či zkrácení ADT tak může být klinicky významné.

Definice oligometastatického CaP

Všeobecně akceptovaná definice oligometastatického CaP zůstává dosud nezodpovězena, nebyla stanovena ani hranice počtu MTS. Faktory, které hrají určitou roli v definici oligometastatického onemocnění, mohou být následující – přítomnost synchronních vs. metachronních MTS, počet MTS ložisek a jejich lokalita, hodnota prostatického specifického antigenu (prostate specific antigen – PSA), zobrazovací metody a v neposlední řadě i to, zda je pacient kastrozně-rezistentní, či nikoli. Mnoho studií navrhlo různé definice týkající se počtu a míst MTS ložisek založených na léčebných výsledcích, ale jak je patrné, optimální hranici počtu MTS ložisek nelze zatím jasně stanovit (tab. 1).

Zobrazovací metody

Mezi standardní zobrazovací metody v diagnostice CaP patří počítačová tomografie (computed tomography – CT) a scintigrafie skeletu (^{99m}Tc či jednofotonová emisní výpočetní tomografie (single-photon emission computed tomography – SPECT)). Tyto metody však postrádají patřičnou citlivost a specifitu k detekci oligometastatického onemocnění. V praxi se tak stále častěji můžeme setkat s novými zobrazovacími metodami, jako je ^{18}F -cholin a ^{18}F -fluciclovin pozitronová emisní tomografie / počítačová tomografie (PET/CT), ^{18}F -NaF PET/CT a poslední dobou i prostatický specifický membránový antigen (prostate specific membrane antigen – PSMA) PET (nebo kombinace PET s magnetickou rezonancí (magnetic resonance imaging – MRI)). Jejich citlivost je obecně řečeno velmi vysoká a koreluje s hladinou PSA. Čím vyšší hladina PSA, tím i vyšší senzitivita.

PET/CT s ^{18}F -NaF se vyznačuje vysokou senzitivitou i specificitou v detekci MTS postižení skeletu. V detekci měkkotkářového postižení ale spoléhá jen na CT.

Dalším moderním radioaktivním nosičem je ^{18}F -cholin, který je často využíván k restagingu pacientů s biochemickou

Tab. 1. Přehled studií s definicí oligometastatického karcinomu prostaty [12,13].

Autoři	Počet pacientů	Počet metastatických ložisek	Lokalizace metastatických ložisek	Zobrazovací modalita
Ahmed et al [16]	17	≤ 5	NR	^{11}C -choline PET/CT, CT, MRI
Berkovic et al [17]	24	≤ 3	skelet nebo LU	scintigrafie, ^{18}F -FDG PET/CT, ^{11}C -choline PET/CT
Decaestecker et al [13]	50	≤ 3	skelet nebo LU	^{18}F -FDG PET/CT, ^{18}F -choline PET/CT
Jereczek-Fossa et al [18]	69	≤ 1	LU	^{18}F -FDG PET/CT, CT, ^{11}C -choline PET/CT
Ost et al [19]	119	≤ 3	kdekoli	^{18}F -FDG PET/CT, ^{18}F -choline PET/CT
Ponti et al [20]	16	≤ 2	LU	^{11}C -choline PET/CT, CT, scintigrafie
Schick et al [21]	50	≤ 4	NR	scintigrafie, ^{18}F -choline PET/CT, ^{11}C -acetate PET/CT
Singh et al [22]	74	≤ 5	NR	scintigrafie
Tabata et al [23]	35	≤ 5	pouze kosti a ložisko < 50 % velikosti obratlového těla	scintigrafie

CT – počítačová tomografie, FDG – fluorodeoxyglukóza, LU – lymfatická uzlina, PET/CT – pozitronová emisní tomografie s CT, MRI – magnetická rezonance, NR – nepublikováno

recidivou. Vyznačuje se vysokou senzitivitou i specificitou i v měkkých tkáních. Dle doporučení je využíván při hodnotě PSA > 1 µg/l.

Obdobným radiofarmakem je ¹⁸F-fluciclovín (Axumine). Jeho senzitivita i specificita je dle studií srovnatelná, až vyšší než při ¹⁸F-cholin PET. V ČR má ale indikační omezení k použití pouze k detekci recidivy CaP při elevaci PSA po primární kurativní léčbě.

⁶⁸Ga-PSMA vykazuje nejvyšší senzitivitu i specificitu ze všech radiofarmak. Jeho dostupnost je však v ČR zatím velmi limitovaná.

Celotělová MRI s difuzí váženým obrazem (diffusion-weighted image – DWI) je považována za superiorní ve srovnání s ¹⁸F-cholinem v detekci MTS CaP.

Pomyslným vrcholem v zobrazovacích metodách CaP je kombinace ⁶⁸Ga-PSMA PET s DWI MRI.

Role chirurgie u lokálně pokročilého CaP

Provedení RP u pacientů s postižením pánevních uzlin může mít pozitivní vliv na OS ve srovnání se samotnou ADT [6]. U několika observačních studií bylo potvrzeno prodloužení OS u pacientů s disseminovaným CaP po provedení RP. Mechanismus vysvětlující vliv na OS není znám. Na druhou stranu ne všichni pacienti s postižením uzlin budou profitovat z RP. Dle recentní analýzy pacienti s postižením lymfatických uzlin (LU) po provedení RP mají vyšší mortalitu, pokud měli pozitivní > 3 LU, pozitivní resekční okraje, Gleason score > 7 a pokud neměli adjuvantní RT [7].

Role chirurgie u oligometastatického CaP

RP může být vhodná i pro pacienty s *de novo* zjištěným oligometastatickým onemocněním. Heidenreich et al prezentovali studii, ve které hodnotili vliv RP s retroperitoneální disekcí uzlin u pacientů s M1b onemocněním s počtem ≤ 3 kostních MTS dle scintigrafie. Pacienti po RP s retroperitoneální disekcí uzlin byli porovnání se skupinou léčenou jen ADT. Skupina pacientů po operaci prokázala signifikantně delší přežití bez progresu (39 vs. 28 měsíců), prodloužil se čas do vzniku rezistence na

kastraci (40 vs. 29 měsíců), medián OS však byl srovnatelný (47 vs. 41 měsíců). Je třeba poznamenat, že všichni operovaní pacienti reagovali na ADT, zatímco 32 % pacientů v kontrolní skupině bez operace nereagovalo na ADT, což naznačuje potenciální selektivní zkreslení. V současnosti běží klinické studie na toto téma [8].

Role salvage disekce při rekurenci onemocnění po primární kurativní léčbě

O salvage disekci lze uvažovat, pokud došlo k progresi jen v uzlinách a pacienti jsou bez jiných známek onemocnění [9]. Systematický přehled 12 observačních studií týkajících se záchranné disekce LU s okamžitou nebo odloženou ADT zaznamenal 5leté OS přibližně u 75 % pacientů. Příznivé prognostické faktory po disekci LU byly spojeny s kompletní odpovědí PSA, menším počtem pozitivních LU, s absencí postižení retroperitoneálních LU a nižší hodnotou předoperačního PSA.

Role stereotaktické RT u oligometastatického onemocnění

První studie se SBRT byla prezentována v roce 2009. Jereczek et al [10] prezentovali soubor pacientů s izolovaným LU postižením dle ¹⁸F-cholin PET/CT léčebných SBRT CyberKnifem. Při mediánu sledování 18,6 měsíce byla lokální kontrola u 100 % pacientů. Následně byla práce potvrzena na větším souboru pacientů. Muacevic et al [11] prospektivně hodnotili skupinu 40 pacientů s max. dvěma kostními MTS léčenými jednou frakcí SBRT. Lokální kontroly definované jako nepřítomnost progresu na MRI a neaktivita na ¹⁸F-cholin PET/CT bylo dosaženo u 95,5 % pacientů při 2letém sledování a 68 % z nich podstoupilo ADT. Studií s podobným designem je celá řada, jedná se však o malé počty pacientů s retrospektivním zhodnocením dat. Decaesteter et al [12] popsali soubor 50 mužů s max. třemi synchronními LU, kostními či jaterními MTS, léčenými SBRT. Přežití bez progresu ve 2 letech bylo 35 % a lokální kontrola trvala v mediánu 100 měsíců. Medián doby odložení ADT byl 25 měsíců.

PSA dubling time byl prognostický faktor doby do klinické progresu i doby do zahájení ADT.

Souhrnně řečeno, SBRT dosahuje excelentní lokální kontroly s prodloužením doby do biochemické a klinické progresu s minimální toxicitou. Její potenciál je v kombinaci se systémovou léčbou. Ale aby bylo možné definovat jasné přínosy SBRT u pacientů s oligometastatickým CaP, bude zapotřebí dalších studií [13].

RT u nově diagnostikovaného oligometastatického onemocnění

Tradiční léčba pokročilého CaP se opírá o ATD. První studie zkoumající efektivitu RT u oligometastatického CaP se objevují v roce 2000. Dosud chybí souhrnná a komplexní data o efektivitě kombinace SBRT a ADT u *de novo* oligometastatických onemocnění. Existuje ale řada dílčích studií pro- i retrospektivních srovnávajících užití RT na primární tumor a pánevní uzliny s ADT či bez ADT. Kombinace metod vede k prodloužení 5letého OS 49 vs. 33 %. Tedy intenzifikace lokální léčby primárního tumoru a spádových uzlin může eradikovat budoucí MTS klony a prodloužit tak OS pacientů [14,15].

Závěr

Od definování pojmu oligometastatického onemocnění narůstá trend intenzifikace terapie. Přibývá dat o účinnosti kombinované léčby primárního tumoru s léčbou cílenou i na MTS ložiska. Tento přístup může oddálit zahájení paliativní systémové léčby a promítnout se do prodloužení OS. SBRT představuje účinnou a bezpečnou metodu s excelentní lokální kontrolou onemocnění. Účinná a personalizovaná léčba by nebyla možná bez vysoce senzitivních zobrazovacích metod, zvláště PSMA. V současné době není stále přesně definováno oligometastatické onemocnění, ani nepanuje konsenzus ohledně cílené léčby MTS postižení. Recentně probíhající studie se snaží definovat oligometastatické onemocnění a najít pravou míru intenzifikace léčby. Již nyní je ale jasné, že u vybraných pacientů má cílená personalizovaná léčba jasný benefit.

Literatura

1. Hellman S, Weichselbaum RR. Oligometastases. *J Clin Oncol* 1995; 13(1): 8–10. doi: 10.1200/JCO.1995.13.1.8.
2. Uppal A, Ferguson MK, Posner MC et al. Towards a molecular basis of oligometastatic disease: potential role of micro-RNAs. *Clin Exp Metastasis* 2014; 31(6): 735–748. doi: 10.1007/s10585-014-9664-3.
3. Haffner MC, Mosbruger T, Esopi DM et al. Tracking the clonal origin of lethal prostate cancer. *J Clin Invest* 2013; 123(11): 4918–4922. doi: 10.1172/JCI70354.
4. James ND, Spears MR, Clarke NW et al. Failure-free survival and radiotherapy in patients with newly diagnosed nonmetastatic prostate cancer: data from patients in the control arm of the STAMPEDE Trial. *JAMA Oncol* 2016; 2(3): 348–357. doi: 10.1001/jamaoncol.2015.4350.
5. Tward JD, Kokeny KE, Shrieve DC. Radiation therapy for clinically node-positive prostate adenocarcinoma is correlated with improved overall and prostate cancer-specific survival. *Pract Radiat Oncol* 2013; 3(3): 234–240. doi: 10.1016/j.pror.2012.11.011.
6. Frohmüller HG, Theiss M, Manseck A et al. Survival and quality of life of patients with stage D1 (T1-3 pN1-2 M0) prostate cancer. Radical prostatectomy plus androgen deprivation versus androgen deprivation alone. *Eur Urol* 1995; 27(3): 202–206.
7. Moschini M, Sharma V, Zattoni F et al. Risk stratification of pN+ prostate cancer after radical prostatectomy from a large single institutional series with longterm followup. *J Urol* 2016; 195(6): 1773–1778. doi: 10.1016/j.juro.2015.12.074.
8. Heidenreich A, Pfister D, Porres D. Cytoreductive radical prostatectomy in patients with prostate cancer and low volume skeletal metastases: results of a feasibility and case-control study. *J Urol* 2015; 193(3): 853–855. doi: 10.1016/j.juro.2015.02.2952.
9. Ploussard G, Almeras C, Briganti A et al. Management of node only recurrence after primary local treatment for prostate cancer: a systematic review of the literature. *J Urol* 2015; 194(4): 983–988. doi: 10.1016/j.juro.2015.04.103.
10. Jereczek-Fossa BA, Fariselli L, Beltramo G et al. Linac-based or robotic image-guided stereotactic radiotherapy for isolated lymph node recurrent prostate cancer. *Radiother Oncol* 2009; 93(1): 14–17. doi: 10.1016/j.radonc.2009.04.001.
11. Muacevic A, Kufeld M, Rist C et al. Safety and feasibility of image-guided robotic radiosurgery for patients with limited bone metastases of prostate cancer. *Urol Oncol* 2013; 31(4): 455–460. doi: 10.1016/j.urolonc.2011.02.023.
12. Decaestecker K, De Meerleer G, Lambert B et al. Repeated stereotactic body radiotherapy for oligometastatic prostate cancer recurrence. *Radiat Oncol* 2014; 9: 135. doi: 10.1186/1748-717X-9-135.
13. Burkoň P, Slávik M, Kazda T et al. Extrakraniální stereotaktická radioterapie – přehled současných indikací. *Klin Onkol* 2019; 32(1): 10–24. doi: 10.14735/amko201910.
14. Koo KC, Dasgupta P. Treatment of oligometastatic hormone-sensitive prostate cancer: a comprehensive review. *Yonsei Med J* 2018; 59(5): 567–579. doi: 10.3349/yymj.2018.59.5.567.
15. Ahmad AE, Leão R, Hamilton RJ. Radical prostatectomy for patients with oligometastatic prostate cancer. *Oncology (Williston Park)* 2017; 31(11): 794–802.
16. Ahmed KA, Barney BM, Davis BJ et al. Stereotactic body radiation therapy in the treatment of oligometastatic prostate cancer. *Front Oncol* 2013; 2: 215. doi: 10.3389/fonc.2012.00215.
17. Berkovic P, De Meerleer G, Delrue L et al. Salvage stereotactic body radiotherapy for patients with limited prostate cancer metastases: deferring androgen deprivation therapy. *Clin Genitourin Cancer*. 2013; 11: 27–32. doi: 10.1016/j.clgc.2012.08.003.
18. Jereczek-Fossa BA, Piperno G, Ronchi S et al. Linac-based stereotactic body radiotherapy for oligometastatic patients with single abdominal lymph node recurrent cancer. *Am J Clin Oncol* 2014; 37: 227–233. doi: 10.1097/COC.0b013e3182610878.
19. Ost P, Jereczek-Fossa BA, As NV et al. Progression-free survival following stereotactic body radiotherapy for oligometastatic prostate cancer treatment-naïve recurrence: a multi-institutional analysis. *Eur Urol* 2016; 69: 9–12. doi: 10.1016/j.eururo.2015.07.004.
20. Ponti E, Ingrosso G, Carosi A et al. Salvage stereotactic body radiotherapy for patients with prostate cancer with isolated lymph node metastasis: a singlecenter experience. *Clin Genitourin Cancer* 2015; 13: e279–e284. doi: 10.1016/j.clgc.2014.12.014.
21. Schick U, Jorcano S, Nouet P et al. Androgen deprivation and high-dose radiotherapy for oligometastatic prostate cancer patients with less than five regional and/or distant metastases. *Acta Oncol* 2013; 52: 1622–1628. doi: 10.3109/0284186X.2013.764010.
22. Singh D, Yi WS, Brasacchio RA, et al. Is there a favorable subset of patients with prostate cancer who develop oligometastases? *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2004; 58: 3–10.
23. Tabata K, Niibe Y, Satoh T et al. Radiotherapy for oligometastases and oligo-recurrence of bone in prostate cancer. *Pulm Med* 2012; 2012: 541656. doi: 10.1155/2012/541656.

Chromotripse – rozsáhlé chromozomové přestavby a jejich význam u onkologických onemocnění

Chromothripsis – Extensive Chromosomal Rearrangements and Their Significance in Cancer

Závacká K.¹, Plevová K.^{1,2}, Jarošová M.¹, Pospíšilová Š.^{1,2}

¹ Centrum molekulární biologie a genové terapie, Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

² Centrum molekulární medicíny, CEITEC – Středoevropský technologický institut, Masarykova univerzita, Brno

Souhrn

Východiska: Chromozomové přestavby hrají významnou roli v patofyziologii nádorů. Mezi mechanismy vedoucí k jejich vzniku byla v nedávné době zařazena chromotripse. Ta způsobuje rozpad chromozomů a jejich opětovné seskupení s desítkami až stovkami přestaveb. Na rozdíl od klasického schématu nádorové transformace se při chromotripsí aberace nehromadí postupně, ale vznikají během jediné události. Vzniklé přestavby bývají rozsáhlé a často zapříčiňují aktivaci onkogenů či inaktivaci nádorových supresorů. Chromotripse je spojována s mnoha typy nádorů, především s nádory mozku a kostí. Byla však popsána nejen u nádorových onemocnění, ale i u vrozených poruch. Přesný mechanismus vzniku nebyl dosud objasněn, existuje však několik modelů, z nichž nejpravděpodobnější se jeví vznik přestaveb následkem poškození DNA v tzv. mikrojádře. Stejně tak důsledky chromotripse pro průběh buněčných pochodů nejsou zatím plně pochopeny. U onkologických pacientů obecně je pozorována souvislost mezi chromotripsí a nepříznivou prognózou. **Cíl:** Záměrem tohoto článku je shrnout dosavadní poznatky o chromotripsí a předložit je čtenáři v přehledné podobě. Zaměřili jsme se na popsání základních rysů chromotripse, pravděpodobných mechanismů jejího vzniku, důsledků na buněčné procesy a dále na poskytnutí přehledu onemocnění, u kterých se s ní můžeme setkat, přičemž pozornost je věnována zejména onkologickým onemocněním. Na závěr je uveden výhled pro využití dosavadních poznatků o chromotripsí při optimalizaci léčebných postupů u onkologických pacientů.

Klíčová slova

chromotripse – chromozomy – DNA – nádory – mutace – strukturní varianta genomu – oprava poškození DNA

Podpořeno z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR s reg. č. 15-31834A. Veškerá práva podle předpisů na ochranu duševního vlastnictví jsou vyhrazena.

Supported by Ministry of Health of the Czech Republic, grant no. 15-31834A. All rights reserved.

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. Karla Plevová, Ph.D.

Centrum molekulární biologie
a genové terapie
Interní hematologická
a onkologická klinika
LF MU a FN Brno
Černopolní 9
625 00 Brno
e-mail: plevova.karla@fnbrno.cz

prof. RNDr. Šárka Pospíšilová, Ph.D.

Centrum molekulární biologie
a genové terapie
Interní hematologická
a onkologická klinika
LF MU a FN Brno
Černopolní 9
625 00 Brno
e-mail: pospisilova.sarka@fnbrno.cz

Obdrženo/Submitted: 31. 12. 2018

Přijato/Accepted: 19. 3. 2019

doi: 10.14735/amko2019101

Summary

Background: Chromosome rearrangements play an important role in cancer pathophysiology. Recently, chromothripsis has been proposed among the mechanisms leading to their formation. Chromothripsis leads to fragmentation of chromosomes and their reconstitution with tens to hundreds of rearrangements clustered in small genome regions. In contrast to the traditional concept of malignant transformation, abnormalities caused by chromothripsis are not accumulated gradually but arise during a single event. The resulting structural variants are extensive and often cause oncogene activation or tumor suppressor inactivation. Chromothripsis is associated with many tumor types, especially with brain and bone tumors. Besides that, it has been described also in congenital disorders. The exact mechanism of chromothripsis origin has not been clarified yet; however, several hypotheses have been proposed, among which DNA damage in micronucleus seems to be most likely. Similarly, an impact of chromothripsis on cellular processes has not been fully understood, yet its association with unfavorable prognosis has been observed. **Purpose:** The purpose of this article is to summarize the current knowledge about chromothripsis and to present gathered pieces of information in a structured way. We focused on describing the basic features of chromothripsis, potential mechanisms of its origin, its impact on cellular processes and providing an overview of diseases where chromothripsis has been noted, with particular attention to cancer. Finally, we suggest a potential use of current knowledge about chromothripsis in the optimization of personalized treatment.

Key words

chromothripsis – chromosomes – DNA – neoplasms – mutation – genomic structural variation – DNA end-joining repair

Úvod

Nádorová transformace je podmíněna vznikem aberací a hromaděním mutací v lidském genomu, k nimž může docházet při každém buněčném cyklu. Zajímavým objevem v oblasti nádorové biologie je nedávno popsaná chromotripse – proces zahrnující vznik komplexních genomových přestaveb velkého rozsahu. Chromotripse byla v různé míře pozorována u mnoha typů nádorů [1,2], ale také u některých vrozených poruch [3] a několik případů bylo zaznamenáno i u zdravých jedinců [4].

Pojem chromotripse je odvozen z řeckých výrazů „chromos“ pro chromozom

a „thripsis“ pro rozpad na kousky. Během chromotripse totiž dochází k rozpadu chromozomů nebo jejich částí na malé fragmenty. Ty jsou následně prostřednictvím nehomologního spojování konců DNA (non-homologous end joining – NHEJ) či procesů založených na mikrohologii [1,5] sestaveny zpět, většinou ovšem nepřesně oproti původní struktuře (schéma 1). Vznikají tak četné delecce, inverze, inserce, amplifikace a translokace. Mnohé experimenty naznačují, že ke vzniku těchto přestaveb dochází během jediného buněčného dělení [1].

Vedle chromotripse byly popsány také příbuzné mechanismy, jako jsou chromoanasyntéza a chromoplexe (souhrnně bývají všechny tři procesy označovány jako chromoanageneze), které se od chromotripse liší strukturou chromozomových přestaveb [6].

Hlavní rysy chromotripse

Existuje několik základních charakteristik chromotripse, které lze pozorovat pomocí cytogenetických a genomických metod, k nimž patří např. mnohobarevná fluorescenční *in situ* hybridizace, čipy pro detekci jednonukleotidových polymorfizmů či čipy pro komparativní genomovou hybridizaci. Nejpresnější charakterizaci však poskytuje celogenomové sekvenování.

Typickým znakem chromotripse je vznik desítek až stovek chromozomových přestaveb mezi několika málo chromozomy, ale i v rámci jednoho chromozomu, jeho ramene či pouze kon-

krétního regionu. Obvykle se přestavby vyskytují ve shlucích, tzv. klastrech. Dlouhé úseky neporušené DNA mohou střídát úseky cca 50 kb zahrnující 5–10 zlomů [1].

Vznik nebalancovaných aberací lze pozorovat pomocí čipových technologií jako změnu počtu kopií DNA. Počet kopií je alternativním označením pro počet alel, standardně je charakterizován počtem dva. Dojde-li ovšem k nebalancované aberaci, hodnota se změní. V případě delecce dochází ke ztrátě heterozygotnosti (ztrátě jedné alely), a je tedy přítomna pouze jedna kopie DNA. Při duplikaci se naopak počet kopií zvýší na tři. V genomu zasaženém chromotripsí počet kopií DNA obvykle kolísá mezi jednou až třemi [1]. Tento znak nejvíce podporuje myšlenku, že k přestavbám provázejícím chromotripsí dochází naráz během jednoho buněčného dělení. Pokud by k přestavbám docházelo postupně, změny by byly různorodější.

Opětovné spojování fragmentů DNA probíhá při chromotripsí náhodně, a proto je náhodná i jejich posloupnost a orientace [1]. Každý volný fragment má dva konce, které se označují jako „head“ (5' konec) a „tail“ (3' konec). Jejich náhodným spojením dochází ke vzniku čtyř typů spojů – head-to-tail (vznik duplikace), tail-to-head (vznik delecce), head-to-head a tail-to-tail (vznik inverze), a to v téměř stejném poměru (schéma 2).

V některých případech při chromotripsí dochází k formování malých kruhovitých útvarů, tzv. double-minute

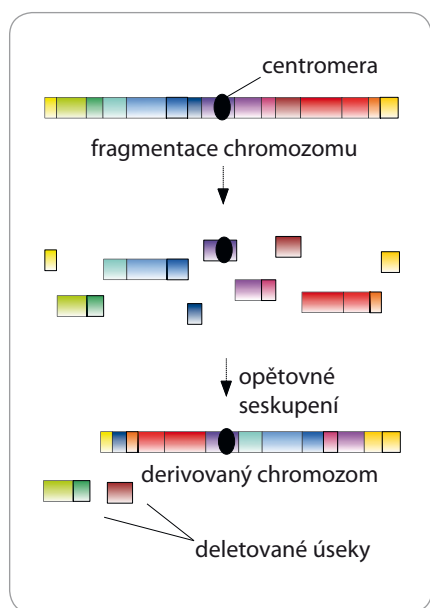


Schéma 1. Schéma vzniku chromotripse.

chromozomů [1,5]. Vznikají duplikací části chromozomu a často nesou onkogeny. Replikují se nezávisle na buněčném cyklu a v buňce jsou udržovány, jelikož představují selekční výhodu pro růst a přežití.

Modelové mechanismy vzniku chromotripse

Dosud napanoučující názor na to, jakým způsobem k chromotripsí dochází. Bylo popsáno několik modelových mechanismů.

V současnosti nejvíce přijímaný je založen na pozorování mimojaderných struktur, tzv. mikrojadra (schéma 3A). Tyto struktury vznikají během mitózy odpojením chromozomů nebo jejich částí od hlavního jádra při přechodu buňky z metafáze do anafáze. Oddělené chromozomy v mikrojadře se replikují pomaleji než chromozomy v hlavním buněčném jádře. Dosud se předpokládalo, že v mikrojadře nedochází k aktivaci kontrolních bodů buněčného cyklu, odpojené chromozomy předčasně kondenzují a rozpadají se [7]. Jedna z nejnovějších studií však poukazuje na to, že je rozpad chromozomů zapříčiněn defektním jaderným obalem, který je tvořen pouze nejnужnějšími proteiny. Je mnohem křehčí než normální jaderný obal, není schopen tvořit póry, a tudíž neumožňuje transport důležitých proteinů zajišťujících integritu genomu [8]. Fragmenty chromozomů se poté mohou z mikrojadra vyčlenit a vytvořit tzv. double-minute chromozomy (viz předchozí kapitola), nebo se náhodně pospojují a vznikne derivovaný chromozom. Ten může v mikrojadře existovat po několik dalších buněčných cyklů a v mnoha případech se z dceřiných buněk zcela vytrácí. S vysokou frekvencí ale dochází k jeho začlenění zpět do hlavního jádra [9]. Buněčným dělením pak vznikají dceřiné buňky s různě přestavěným genomem.

Jiná hypotéza předpokládá, že existuje vztah mezi chromotripsí a zkrácením telomer, jelikož charakteristické přestavby často zasahují až do oblasti telomer [1]. V případě abraze telomer buňka spouští tzv. breakage-fusion-bridge cyklus, který se opakuje tak dlouho, dokud konce chromozomů nezískají novou telomeru,

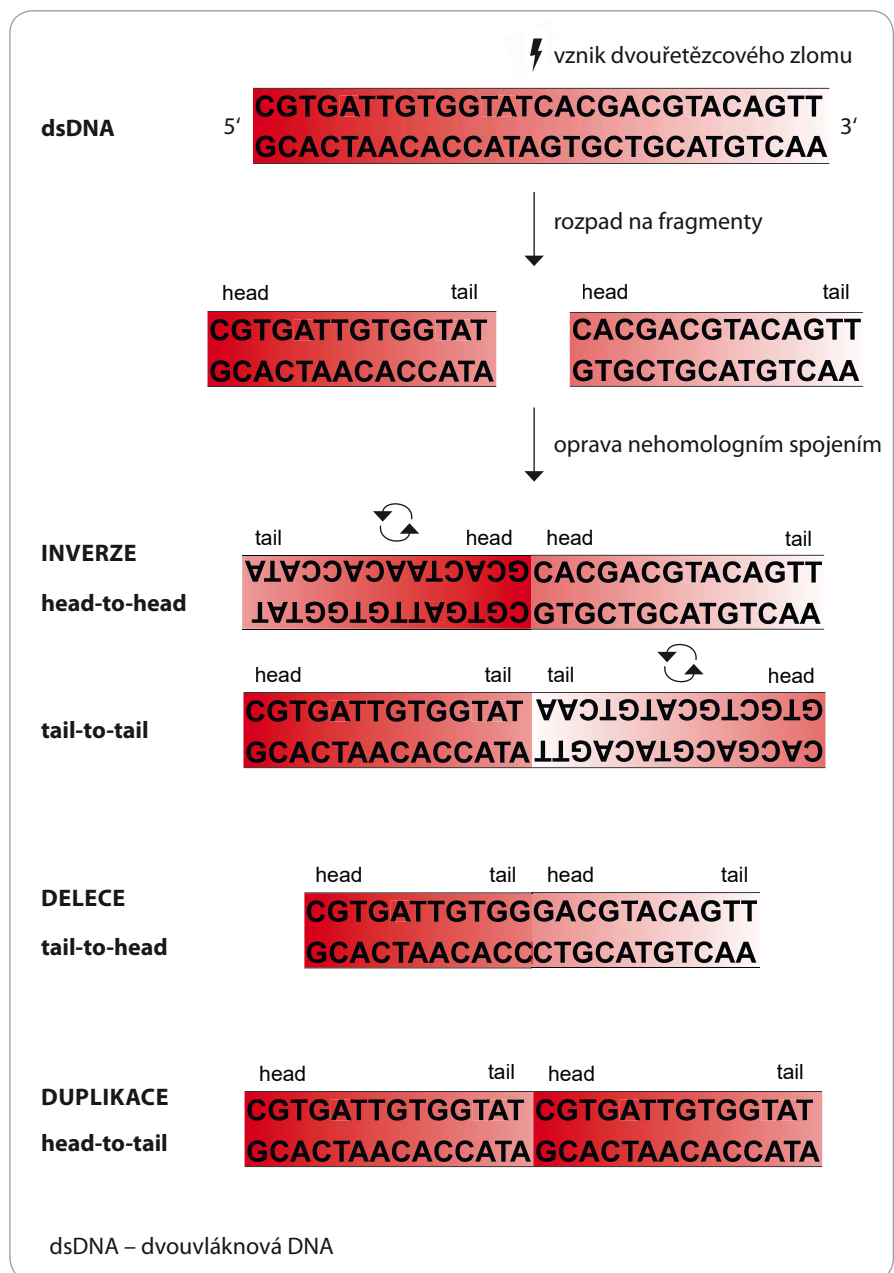


Schéma 2. Nehomologní spojování volných konců DNA.

obvykle translokací z jiného chromozomu (schéma 3B) [10].

Další hypotézy považují za možné příčiny chromotripse exogenní vlivy poškozující DNA, jako je ionizující záření nebo volné radikály. V jejich důsledku totiž vznikají náhodné zlomy DNA, a tím se aktivují mnohé opravné mechanismy [11]. Uvažuje se také, že chromotripse může být způsobena replikačním stresem, který vede k zastavení replikační vidlice a vzniku dvouvláknových zlomů DNA [12].

Zajímavý pohled přináší myšlenka, že by některé buňky mohly být schopny unikát apoptóze (programované buněčné smrti) i v případech poškození DNA, např. při nedostatku kyslíku. Místo toho, aby podstoupily apoptózu, by takové buňky byly opraveny reparačními mechanismy za vzniku chyb, což by mohlo mít za následek vznik chromozomových přestaveb [13]. Mechanismus úniku před buněčnou smrtí však zatím nebyl dostatečně prozkoumán.

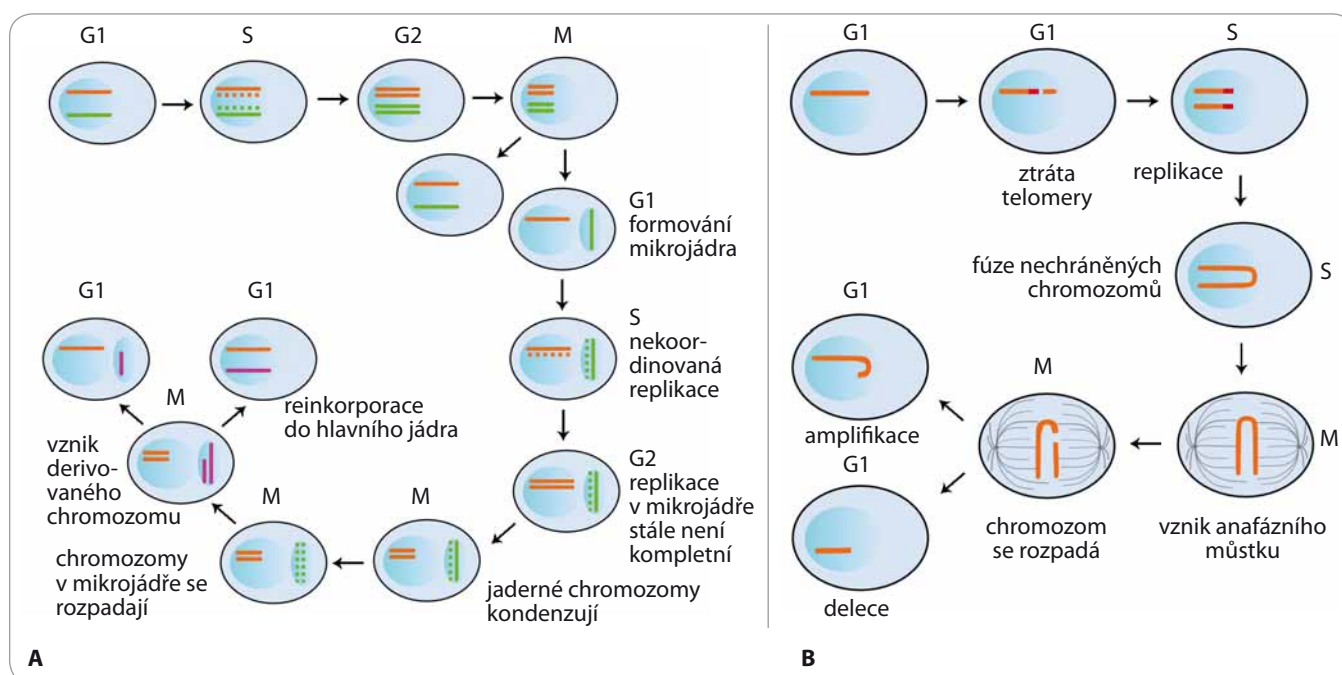


Schéma 3. Nejvíce přijímané mechanismy vzniku chromotripse v průběhu buněčného cyklu. A. Formování mikrojádra. B. Breakage-fusion-bridge cyklus.

Výskyt chromotripse u nádorů

Chromotripse bývá asociována s mnoha typy nádorů. Vzhledem k pozorovaným rysům by se dala považovat za spouštěč nebo jeden z prvních zásahů při nádorové transformaci. Jsou známy případy, kdy byla chromotripse prokázána prakticky ve všech buňkách jednoho nádoru, což by odpovídalo teorii, že chromotripse vzniká v relativně brzkém stadiu onemocnění [1,5]. Zároveň ovšem existují ojedinělé případy, kdy byla chromotripse po léčbě reverzibilní, což by znamenalo, že se nepodílela na rozvoji nádoru, ani na jeho následném relapsu [14]. Výsledky jiných studií naopak ukazují, že se chromotripse vyskytuje v počátku onemocnění subklonálně a může docházet k její pozdější expanzi, např. až v relapsu [15]. V těchto případech by chromotripse byla důsledkem klonální evoluce.

Co se týče výskytu chromotripse u jednotlivých typů nádorů, rozdílné malignity vykazují odlišnou četnost [16]. Chromotripse byla popsána u melanomů, sarkomů, gliomů i hematologických onemocnění. Podle dostupných analýz se její výskyt u všech typů nádorových onemocnění pohybuje mezi 2–3 % [1], skutečná incidence však bude pravděpodobně mnohem vyšší, než se původně předpokládalo, a to především

u agresivnějších typů nádorů. Dostupné údaje o frekvenci výskytu chromotripse u jednotlivých onkologických diagnóz jsou uvedeny v tab. 1. Ne vždy jsou uvedené četnosti přesné, jelikož jednotlivé studie používají odlišné detekční metody. Stejně tak definice a analyzované soubory pacientů nejsou vždy reprezentativní. Velkým nedostatkem je obvykle malý vzorek testovaných pacientů.

Genetické změny asociované s chromotripsí

Mezi patologické změny, které mohou být příčinou nebo doprovodným jevem chromotripse, patří mimo jiné inaktivace nádorových supresorů. K potlačení jejich funkce obvykle dochází prostřednictvím delecce. Nejčastěji mutovaným nádorovým supresorem spojovaným s chromotripsí je gen *TP53*, popsány však byly také mutace genů jako *ATM*, *PTEN*, *BRCA1*, *BRCA2*, *APC* a *SMAD4* [5,17,18].

Chromotripse je také spojena s amplifikací typických onkogenů, jako je např. *CCND1*, *CDK4*, *MDM2*, *SETDB1*, *ERBB3*, *ERBB2*, *MYC* a *MYCN* [17,19,20]. K jejich amplifikaci často dochází prostřednictvím double-minute chromozomů. Zajímavé poznatky přinesla studie z roku 2018 hodnotící vliv dávky mutantního genu *KRAS* na biologii a fenotypové projevy duktálního

adrenokarcinomu pankreatu [21]. *KRAS* patří mezi protoonkogeny rodiny *RAS*, které jsou prostřednictvím mutací a genových duplikací aktivovány přibližně u 30 % nádorů. V uvedené studii byla pozorována synergie mezi zvýšenou genovou dávkou mutantního *KRAS* a inaktivací genů *TP53*, *CDKN2A* a *TGFβ*. Kombinace těchto abnormalit byla asociována se vznikem chromotripse a velmi agresivním fenotypem duktálního karcinomu.

U všech typů nádorů platí, že s vyšší četností mutací *TP53* stoupá i pravděpodobnost výskytu chromotripse [22]. Gen *TP53* se účastní regulace mnoha procesů a hraje významnou roli v zajištění stability genomu. Mutace genu *TP53* mohou mít různé následky, mezi něž patří potlačení funkce reparačních mechanismů reagujících na poškození DNA, deregulace kontroly průchodu buněčným cyklem či narušení údržby telomer. Všechny tyto události mohou přispívat ke vzniku chromotripse. S vysokou frekvencí je chromotripse pozorována u pacientů s vrozenými mutacemi genu *TP53*, jako jsou např. pacienti s Li-Fraumeniho syndromem [5]. Tito pacienti mají predispozici ke vzniku rekurentních nádorů, mimo jiné se u nich tvoří meduloblastomy. V případě meduloblastomů s aktivovanou Sonic-Hedgehog signalizací

(tzv. SHH-meduloblastomů) byla chromotripse pozorována ve 100 % případů. Výskyt chromotripse byl však prokázán i u pacientů se somatickými mutacemi genu *TP53*, které vznikly v průběhu života, a to např. u akutní myeloidní leukemie [5,23].

Kromě inaktivace nádorových supresorů a aktivace onkogenů může v důsledku chromotripse také docházet k fúzi genů či jejich částí prostřednictvím translokací. Díky tomu vznikají fúzní transkripty, které buď nejsou přepisovány do proteinů, nebo naopak kódují proteiny s novými funkcemi.

Chromotripse a klinický průběh onemocnění

Mnohé studie potvrdily, že existuje spojitost mezi výskytem chromotripse a špatným průběhem onemocnění [1,5,24]. Přítomnost chromozomálních abnormalit, jako jsou hyperdiploidie nebo přestavby chromozomů, má význam pro stanovení prognózy. Při chromotripsí se takové abnormality nehromadí v nádorových buňkách postupně a náhodně v celém genomu, ale vznikají všechny současně za ovlivnění funkce mnoha genů, které často hrají roli v regulaci buněčného cyklu či dysfunkci telomer [23]. To vysvětluje, proč mají buňky poškozené chromotripsí obvykle agresivnější fenotyp [21]. Vzhledem k tomu, že tak rozsáhlé poškození nevede k zániku postižených buněk, lze předpokládat, že vzniklé defekty poskytují buňkám selekční výhodu a umožňují další proliferaci nádorového klonu.

S nepříznivou prognózou pacientů úzce souvisí i rezistence k protinádorové terapii, neboť některé geny ovlivněné chromotripsí mohou být spojeny s rezistencí na konkrétní druhy léčiv [25]. Byly rovněž pozorovány rozdíly mezi jednotlivými subtypy onemocnění, např. u pacientů s karcinomem prsu chromotripse zhoršuje prognózu pouze v případě subtypů s exprimovaným estrogenovým receptorem nebo triple negativních subtypů [26]. Jak již také bylo zmíněno, k chromotripsí může docházet až po léčbě. Takto byla pozorována rezistence na terapii v důsledku pozdější selekce chromotripse u pacientů s mnohočetným myelomem [27].

Tab. 1. Výskyt chromotripse u jednotlivých typů nádorů dle dostupných publikovaných dat.

Typ nádoru	Frekvence chromotripse (n)	Metoda detekce	Zdroj
Hematoonkologická onemocnění			
akutní lymfoblastická leukemie	2 % (870)	WGS	[34]
	25 % (12)	WGS	[35]
akutní myeloidní leukemie	8 % (108)	SNP array	[5]
	6,6 % (395)	SNP array	[36]
AML s mutací <i>TP53</i>	47,1 % (17)	SNP array	[5]
chronická lymfocytární leukemie	10 % (10)	WGS	[1]
	3,3 % (452)	WGS, WES	[37]
mnohočetný myelom	1,3 % (764)	SNP array	[14]
	1,6 % (61)	SNP array	[38]
myelodysplastický syndrom	47 % (157)	SNP array	[39]
Nádory pojivových tkání			
chordom	18,2 % (11)	WGS	[1]
	4,8 % (21)	array-CGH	[40]
feochromocytom	2,5 % (36)	SNP array	[41]
leiomyom dělohy	41,7 % (36)	WGS	[42]
	20 % (5)	SNP array	[43]
osteosarkom	33,3 % (9)	SNP array	[1]
	77 % (34)	WGS	[17]
liposarkom	53,5 % (114)	array-CGH, SNP array	[44]
	100 % (18)	WGS	[17]
fibrosarkom	23,7 % (59)	array-CGH, SNP array	[44]
Nádory centrální nervové soustavy			
ependymom	22 % (41)	WGS	[45]
gliom stupně 1–2	2,4 % (41)	SNP array	[46]
gliom stupně 2–3	11,1 % (45)	SNP array	[18]
glioblastom (gliom stupně 4)	38,9 % (18)	WGS	[19]
meduloblastom	13,3 % (98)	WGS, SNP array	[5]
	11,4 % (1 087)	SNP array	[47]
	4 % (430)	array-CGH, SNP array	[44]
SHH meduloblastom s mutací <i>TP53</i>	100 % (10)	WGS, SNP array	[5]
meningiom	9,1 % (11)	WGS	[48]
primitivní neuroektodermální tumor	6,2 % (65)	array-CGH, SNP array	[44]
Nádory z embryonálních buněk			
neuroblastom	11,4 % (87)	WGS	[20]
	4,3 % (233)	SNP array	[49]
retinoblastom	3,2 % (94)	WGS, SNP array	[50]

Tab. 1. – pokračování. Výskyt chromotripse u jednotlivých typů nádorů dle dostupných publikovaných dat.

Typ nádoru	Frekvence chromotripse (n)	Metoda detekce	Zdroj
Karcinomy			
adenokarcinom jícnu	32 % (123)	WGS, SNP array	[51]
karcinom jícnu	9,6 % (135)	array-CGH, SNP array	[44]
karcinom žaludku	4,4 % (160)	array-CGH, SNP array	[44]
kolorektální adenokarcinom	33,3 % (9)	WGS	[52]
kolorektální karcinom	100 % (4)	SNP array, WGS	[53]
karcinom pankreatu	54 % (76)	WGS	[17]
hepatocelulární karcinom	5,7 % (88)	WGS	[54]
	25 % (4)	WGS	[55]
adenokarcinom prostaty	6,3 % (653)	array-CGH, SNP array	[44]
	21 % (109)	WGS	[56]
karcinom prostaty	45 % (109)	WGS	[17]
	16,7 % (6)	WGS, array-CGH	[57]
karcinom prsu	41 % (29)	array-CGH	[26]
	11,1 % (3 652)	array-CGH, SNP array	[44]
invazivní karcinom moč. měchýře	14,3 % (21)	WGS	[58]
	60 % (5)	WGS	[59]
karcinom vaječníku	4,6 % (801)	array-CGH, SNP array	[44]
malobuněčný karcinom plic	6,7 % (90)	array-CGH, SNP array	[44]
nemalobuněčný karcinom plic	9,4 % (1 164)	array-CGH, SNP array	[44]
	5,9 % (17)	WGS	[60]
karcinom dlaždicových buněk plic	15,4 % (13)	WGS	[19]
adenokarcinom plic	33,3 % (6)	WGS	[19]
gestační choriokarcinom	7,1 (14)	array-CGH	[61]
Melanomy			
maligní melanom	10 % (20)	array-CGH	[62]
	38 % (117)	WGS	[63]
uveální melanom	8 % (25)	SNP array	[64]

AML – akutní myeloidní leukemie, SHH meduloblastom – meduloblastom s aktivovanou Sonic-Hedgehog signalizací, WGS – celogenomové sekvenování, SNP – detekce jednonukleotidových polymorfizmů, WES – celoxomové sekvenování, CGH – komparativní genomová hybridizace

Význam chromotripse v klinické praxi

Ačkoli je nutné provést rozsáhlejší studie, dostupná data poukazují na skutečnost, že chromotripse je markerem nepříznivého průběhu nádorových one-

mocnění. Proto by mohla její detekce přispět ke stanovení prognózy, stadiu pacientů či volbě individuální cílené terapie. Například pacienti s glioblastomy s chromotripsí by mohli profitovat z léčby cílené na receptory epidermál-

ních růstových faktorů a jiné tyrozinkinázové receptory, které bývají v důsledku chromotripse amplifikovány [28]. Dalším příkladem je léčba cílená na protoonkogen *PIM1* u pacientů s akutní myeloidní leukemií, který má funkci serin/treoninové kinázy a podílí se na buněčné proliferaci a u akutní myeloidní leukemie je nejčastěji deregulovaným genem v důsledku chromotripse [23].

Kromě toho bylo zjištěno, že v důsledku přestaveb způsobených chromotripsí mohou vznikat potenciální neoantigeny, které vážou molekuly hlavního histokompatibilního komplexu a umožňují expanzi T buněčných klonů [29]. Na základě těchto poznatků je možné vyvíjet nové imunoterapeutické postupy a lépe vyhodnotit, kterým pacientům imunoterapii indikovat.

Některé studie také navrhuje, že by exprese fúzních genů vzniklých v důsledku chromotripse mohla napomoci zvýšení citlivosti buněk na určité druhy léčiv [30]. Jako příklad lze uvést fúzní transkript *ETV6-PDGFRB* identifikovaný u pacienta s myelodysplastickým syndromem [31]. Podobné fúzní varianty vzniklé následkem chromotripse by mohly posloužit jako potenciální terapeutický cíl – např. konkrétně přestavby genu *PDGFRB* jsou dle klasifikace Světové zdravotnické organizace charakteristickým znakem subtypu myeloidních neoplazií, které jsou senzitivní vůči tyrozinkinázovým inhibitorům.

Dalo by se využít i poznatku, že nádorové buňky s chromotripsí obvykle mívají poškozený mitotický aparát a narušenou funkci systému odpovědi buňky na poškození DNA (DNA damage response – DDR). Systém DDR zahrnuje signalizační a opravné procesy, které vedou k zastavení buněčného cyklu a opravě poškozené DNA. V případě, že je poškození tak rozsáhlé, že není možná oprava, buňka spouští apoptózu. DDR tedy působí jako protinádorová bariéra, zatímco mutace v genech, které se účastní DDR, se podílejí na progresi nádoru. Jelikož se může více opravných mechanismů překrývat a navzájem zastupovat, nabízí se cílit léčbu na ty mechanismy, na nichž je buňka s určitým poškozením DDR závislá. Jako příklad lze uvést glioblastomy, u nichž dochází k posílení funkce

DDR [32]. Tyto nádory jsou rezistentní vůči konvenční terapii a je vhodné zvolit léčbu pomocí inhibitorů cílených na jednotlivé faktory DDR. Vhodnými cílovými molekulami mohou být např. serin/threoninové kinázy Chk1 a Chk2, které se významně podílejí na zajištění opravy poškozené DNA.

Ve velmi výjimečných případech může chromotripse vést také k vyléčení závažné choroby, jak tomu bylo v kazuistice zaznamenané v roce 2015 [33]. Pacient trpěl imunodeficiencí způsobenou vrozenou hyperaktivitou chemokininového receptoru CXCR4. Prostřednictvím chromotripse v hematopoetické kmenové buňce u něj došlo k delecii abnormální kopie genu kódujícího tento receptor, čímž byla obnovena normální funkce jeho imunitního systému.

Závěr

Od popsání chromotripse v roce 2011 bylo provedeno a publikováno mnoho navazujících studií tohoto zajímavého jevu. Kromě snahy objasnit mechanismy vzniku chromotripse a její důsledky v patofyziologii buňky se do středu zájmu dostalo i potenciální uplatnění získaných poznatků v klinické oblasti. Aby to však bylo možné, bude potřeba provést prospektivní analýzu asociace mezi výskytem chromotripse a průběhem onemocnění. Pro využití v oblasti cílené nádorové terapie bude také nutné definovat diagnostická doporučení pro její vyšetřování u jednotlivých diagnóz.

Literatura

- Stephens PJ, Greenman CD, Fu B et al. Massive genomic rearrangement acquired in a single catastrophic event during cancer development. *Cell* 2011; 144(1): 27–40. doi: 10.1016/j.cell.2010.11.055.
- Kloosterman WP, Koster J, Molenaar JJ. Prevalence and clinical implications of chromothripsis in cancer genomes. *Curr Opin Oncol* 2014; 26(1): 64–72. doi: 10.1097/CCO.0000000000000038.
- Kloosterman WP, Guryev V, van Roosmalen M et al. Chromothripsis as a mechanism driving complex *de novo* structural rearrangements in the germline. *Hum Mol Genet* 2011; 20(10): 1916–1924. doi: 10.1093/hmg/ddr073.
- de Pagter MS, van Roosmalen MJ, Baas AF et al. Chromothripsis in healthy individuals affects multiple protein-coding genes and can result in severe congenital abnormalities in offspring. *Am J Hum Genet* 2015; 96(4): 651–656. doi: 10.1016/j.ajhg.2015.02.005.
- Rausch T, Jones DT, Zapatka M et al. Genome sequencing of pediatric medulloblastoma links catastrophic DNA rearrangements with TP53 mutations. *Cell* 2012; 148(1–2): 59–71. doi: 10.1016/j.cell.2011.12.013.
- Holland AJ, Cleveland DW. Chromoanagenesis and cancer: mechanisms and consequences of localized, complex chromosomal rearrangements. *Nat Med* 2012; 18(11): 1630–1638. doi: 10.1038/nm.2988.
- Crasta K, Ganem NJ, Dagher R et al. DNA breaks and chromosome pulverization from errors in mitosis. *Nature* 2012; 482(7383): 53–58. doi: 10.1038/nature10802.
- Liu S, Kwon M, Mannino M et al. Nuclear envelope assembly defects link mitotic errors to chromothripsis. *Nature* 2018; 561(7724): 551–555. doi: 10.1038/s41586-018-0534-z.
- Huang Y, Jiang L, Yi Q et al. Lagging chromosomes entrapped in micronuclei are not “lost” by cells. *Cell Res* 2012; 22(5): 932–935. doi: 10.1038/cr.2012.26.
- Artandi SE, Chang S, Lee SL et al. Telomere dysfunction promotes non-reciprocal translocations and epithelial cancers in mice. *Nature* 2000; 406(6796): 641–645.
- Shim G, Ricoul M, Hempel WM et al. Crosstalk between telomere maintenance and radiation effects: a key player in the process of radiation-induced carcinogenesis. *Mutat Res Rev Mutat Res* 2014; S1383–S5742(14): 00002-7. doi: 10.1016/j.mrrev.2014.01.001.
- Halazonetis TD, Gorgoulis VG, Bartek J. An oncogene-induced DNA damage model for cancer development. *Science* 2008; 319(5868): 1352–1355. doi: 10.1126/science.1140735.
- Tubio JM, Estivill X. Cancer: when catastrophe strikes a cell. *Nature* 2011; 470(7335): 476–477. doi: 10.1038/470476a.
- Bassaganyas L, Beà S, Escaramís G et al. Sporadic and reversible chromothripsis in chronic lymphocytic leukemia revealed by longitudinal genomic analysis. *Leukemia* 2013; 27(12): 2376–2379. doi: 10.1038/leu.2013.127.
- Federer-Gsponer JR, Quintavalle C, Müller DC et al. Delineation of human prostate cancer evolution identifies chromothripsis as a polyclonal event and FKBP4 as a potential driver of castration resistance. *J Pathol* 2018; 245(1): 74–84. doi: 10.1002/path.5052.
- Jones MJ, Jallepalli PV. Chromothripsis: chromosomes in crisis. *Dev Cell* 2012; 23(5): 908–917. doi: 10.1016/j.devcel.2012.10.010.
- Cortés-Ciriano I, Lee JK, Xi R et al. Comprehensive analysis of chromothripsis in 2,658 human cancers using whole-genome sequencing. [online]. Available from: <https://www.biorxiv.org/content/biorxiv/early/2018/05/30/333617.full.pdf>.
- Cohen A, Sato M, Aldape K et al. DNA copy number analysis of Grade II–III and Grade IV gliomas reveals differences in molecular ontogeny including chromothripsis associated with IDH mutation status. *Acta Neuropathol Commun* 2015; 3: 34. doi: 10.1186/s40478-015-0213-3.
- Malhotra A, Lindberg M, Faust GG et al. Breakpoint profiling of 64 cancer genomes reveals numerous complex rearrangements spawned by homology-independent mechanisms. *Genome Res* 2013; 23(5): 762–776. doi: 10.1101/gr.143677.112.
- Molenaar JJ, Koster J, Zwijnenburg DA et al. Sequencing of neuroblastoma identifies chromothripsis and defects in neurogenesis genes. *Nature* 2012; 483(7391): 589–593. doi: 10.1038/nature10910.
- Mueller S, Engleitner T, Maresch R et al. Evolutionary routes and KRAS dosage define pancreatic cancer phenotypes. *Nature* 2018; 554(7690): 62–68. doi: 10.1038/nature25459.
- Zhang CZ, Leibowitz ML, Pellman D. Chromothripsis and beyond: rapid genome evolution from complex chromosomal rearrangements. *Genes Dev* 2013; 27(23): 2513–2530. doi: 10.1101/gad.229559.113.
- Rücker FG, Dolnik A, Blätte TJ et al. Chromothripsis is linked to TP53 alteration, cell cycle impairment, and dismal outcome in acute myeloid leukemia with complex karyotype. *Hematologica* 2018; 103(1): e17–e20. doi: 10.3324/haematol.2017.180497.
- Magrangeas F, Avet-Loiseau H, Munshi NC et al. Chromothripsis identifies a rare and aggressive entity among newly diagnosed multiple myeloma patients. *Blood* 2011; 118(3): 675–678. doi: 10.1182/blood-2011-03-344069.
- Forment JV, Kaidi A, Jackson SP. Chromothripsis and cancer: causes and consequences of chromosome shattering. *Nat Rev Cancer* 2012; 12(10): 663–670. doi: 10.1038/nrc3352.
- Przybytkowski E, Lenkiewicz E, Barrett MT et al. Chromosome-breakage genomic instability and chromothripsis in breast cancer. *BMC Genomics* 2014; 15: 579. doi: 10.1186/1471-2164-15-579.
- Lee KJ, Lee KH, Yoon KA et al. Chromothripsis in treatment resistance in multiple myeloma. *Genomics Inform* 2017; 15(3): 87–97. doi: 10.5808/GI.2017.15.3.87.
- Furgason JM, Koncar RF, Michelhaugh SK et al. Whole genome sequence analysis links chromothripsis to EGFR, MDM2, MDM4, and CDK4 amplification in glioblastoma. *Oncoscience* 2015; 2(7): 618–628.
- Mansfield AS, Peikert T, Smadbeck JB et al. Neoantigenic potential of complex chromosomal rearrangements in mesothelioma. *J Thorac Oncol* 2019; 14(2): 276–287. doi: 10.1016/j.jtho.2018.10.001.
- Nijhawan D, Zack TI, Ren Y et al. Cancer vulnerabilities unveiled by genomic loss. *Cell* 2012; 150(4): 842–854. doi: 10.1016/j.cell.2012.07.023.
- Singh ZN, Richards S, El Chaer F et al. Cryptic ETV6-PDGFRB fusion in a highly complex rearrangement of chromosomes 1, 5 and 12 due to a chromothripsis-like event in a myelodysplastic syndrome/myeloproliferative neoplasm. *Leuk Lymphoma* 2018; 11: 1–4. doi: 10.1080/10428194.2018.1480774.
- Bao S, Wu Q, McLendon RE et al. Glioma stem cells promote radioresistance by preferential activation of the DNA damage response. *Nature* 2006; 444(7120): 756–760.
- McDermott DH, Gao JL, Liu Q et al. Chromothriptic cure of WHIM syndrome. *Cell* 2015; 160(4): 686–699. doi: 10.1016/j.cell.2015.01.014.
- Li Y, Schwab C, Ryan S et al. Constitutional and somatic rearrangement of chromosome 21 in acute lymphoblastic leukaemia. *Nature* 2014; 508(7494): 98–102. doi: 10.1038/nature13115.
- Zhang J, Ding L, Holmfeldt L et al. The genetic basis of early T-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia. *Nature* 2012; 481(7380): 157–163. doi: 10.1038/nature10725.
- Fontana MC, Marconi G, Feenstra JD et al. Chromothripsis in acute myeloid leukemia: biological features and impact on survival. *Leukemia* 2018; 32(7): 1609–1620. doi: 10.1038/s41375-018-0035-y.
- Puente XS, Beà S, Valdés-Mas R et al. Non-coding recurrent mutations in chronic lymphocytic leukaemia. *Nature* 2015; 526(7574): 519–524. doi: 10.1038/nature14666.
- Stevens-Kroef M, Weghuis DO, Croockewit S et al. High detection rate of clinically relevant genomic abnormalities in plasma cells enriched from patients with multiple myeloma. *Genes Chromosomes Cancer* 2012; 51(11): 997–1006. doi: 10.1002/gcc.21982.
- Zemanova Z, Michalova K, Buryova H et al. Involvement of deleted chromosome 5 in complex chromosomal aberrations in newly diagnosed myelodysplastic syndromes (MDS) is correlated with extremely adverse prognosis. *Leuk Res* 2014; 38(5): 537–544. doi: 10.1016/j.leukres.2014.01.012.
- Le LP, Nielsen GP, Rosenberg AE et al. Recurrent chromosomal copy number alterations in sporadic chordomas. *PLoS One* 2011; 6(5): e18846. doi: 10.1371/journal.pone.0018846.
- Flynn A, Benn D, Clifton-Bligh R et al. The genomic landscape of pheochromocytoma. *J Pathol* 2015; 236(1): 78–89. doi: 10.1002/path.4503.
- Mehine M, Kaasinen E, Mäkinen N et al. Characterization of uterine leiomyomas by whole-genome sequencing. *N Engl J Med* 2013; 369(1): 43–53.

43. Holzmann C, Markowski DN, Koczan D et al. Cytogenetically normal uterine leiomyomas without MED12-mutations – a source to identify unknown mechanisms of the development of uterine smooth muscle tumors. *Mol Cytogenet* 2014; 7(1): 88. doi: 10.1186/s13039-014-0088-1.
44. Cai H, Kumar N, Bagheri HC et al. Chromothripsis-like patterns are recurring but heterogeneously distributed features in a survey of 22,347 cancer genome screens. *BMC Genomics* 2014; 15: 82. doi: 10.1186/1471-2164-15-82.
45. Parker M, Mohankumar KM, PUNCHIHEWA C et al. C11orf95-RELA fusions drive oncogenic NF- κ B signalling in ependymoma. *Nature* 2014; 506(7489): 451–455. doi: 10.1038/nature13109.
46. Lhotská H, Zemanová Z, Kramář F et al. Molekulární cytogenetická analýza chromozomových aberací v buňkách nízkostupňových gliomů a její přínos pro klasifikaci nádoru. *Klin Onkol* 2014; 27(3): 183–191.
47. Northcott PA, Shih DJ, Peacock J et al. Subgroup-specific structural variation across 1,000 medulloblastoma genomes. *Nature* 2012; 488(7409): 49–56. doi: 10.1038/nature11327.
48. Brastianos PK, Horowitz PM, Santagata S et al. Genomic sequencing of meningiomas identifies oncogenic SMO and AKT1 mutations. *Nat Genet* 2013; 45(3): 285–289. doi: 10.1038/ng.2526.
49. Ambros IM, Brunner C, Abbasi R et al. Ultra-high density SNParray in neuroblastoma molecular diagnostics. *Front Oncol* 2014; 4: 202. doi: 10.3389/fonc.2014.00202.
50. McEvoy J, Nagahawatte P, Finkelstein D et al. RB1 gene inactivation by chromothripsis in human retinoblastoma. *Oncotarget* 2014; 5(2): 438–450. doi: 10.18632/oncotarget.1686.
51. Nones K, Waddell N, Wayte N et al. Genomic catastrophes frequently arise in esophageal adenocarcinoma and drive tumorigenesis. *Nat Commun* 2014; 5: 5224. doi: 10.1038/ncomms6224.
52. Bass AJ, Lawrence MS, Brace LE et al. Genomic sequencing of colorectal adenocarcinomas identifies a recurrent VTI1A-TCF7L2 fusion. *Nat Genet* 2011; 43(10): 964–968. doi: 10.1038/ng.936.
53. Kloosterman WP, Hoogstraat M, Paling O et al. Chromothripsis is a common mechanism driving genomic rearrangements in primary and metastatic colorectal cancer. *Genome Biol* 2011; 12(10): R103. doi: 10.1186/gb-2011-12-10-r103.
54. Fernandez-Banet J, Lee NP, Chan KT et al. Decoding complex patterns of genomic rearrangement in hepatocellular carcinoma. *Genomics* 2014; 103(2–3): 189–203. doi: 10.1016/j.ygeno.2014.01.003.
55. Jiang Z, Jhunjhunwala S, Liu J et al. The effects of hepatitis B virus integration into the genomes of hepatocellular carcinoma patients. *Genome Res* 2012; 22(4): 593–601. doi: 10.1101/gr.133926.111.
56. Fraser M, Sabelnykova VY, Yamaguchi TN et al. Genomic hallmarks of localized, non-indolent prostate cancer. *Nature* 2017; 541(7637): 359–364. doi: 10.1038/nature20788.
57. Lapuk AV, Wu C, Wyatt AW et al. From sequence to molecular pathology, and a mechanism driving the neuroendocrine phenotype in prostate cancer. *J Pathol* 2012; 227(3): 286–297. doi: 10.1002/path.4047.
58. Nik-Zainal S, Van Loo P, Wedge DC et al. The life history of 21 breast cancers. *Cell* 2012; 149(5): 994–1007. doi: 10.1016/j.cell.2012.04.023.
59. Morrison CD, Liu P, Woloszynska-Read A et al. Whole-genome sequencing identifies genomic heterogeneity at a nucleotide and chromosomal level in bladder cancer. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 2014; 111(6): E672–E681. doi: 10.1073/pnas.1313580111.
60. Govindan R, Ding L, Griffith M et al. Genomic landscape of non-small cell lung cancer in smokers and never-smokers. *Cell* 2012; 150(6): 1121–1134. doi: 10.1016/j.cell.2012.08.024.
61. Poaty H, Coullin P, Peko JF et al. Genome-wide high-resolution aCGH analysis of gestational choriocarcinomas. *PLoS One* 2012; 7(1): e29426. doi: 10.1371/journal.pone.0029426.
62. Hirsch D, Kemmerling R, Davis S et al. Chromothripsis and focal copy number alterations determine poor outcome in malignant melanoma. *Cancer Res* 2013; 73(5): 1454–1460. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-0928.
63. Akbani R, Akdemir KC, Aksoy BA et al. Genomic classification of cutaneous melanoma. *Cell* 2015; 161(7): 1681–1696. doi: 10.1016/j.cell.2015.05.044.
64. van Engen-van Grunsven AC, Baar MP, Pfundt R et al. Whole-genome copy-number analysis identifies new leads for chromosomal aberrations involved in the oncogenesis and metastatic behavior of uveal melanomas. *Melanoma Res* 2015; 25(3): 200–209. doi: 10.1097/CMR.000000000000152.

High Level of Circulating Microparticles in Patients with *BCR/ABL* Negative Myeloproliferative Neoplasm – a Pilot Study

Vysoká hladina cirkulujících mikroparticulí u pacientů s *BCR/ABL* negativními myeloproliferativními chorobami – pilotní studie

Aswad M. H.^{1,2}, Kissova J.^{1,2}, Rihova L.^{1,2}, Zavrelva J.^{1,2}, Ovesna P.³, Penka M.^{1,2}

¹ Department of Clinical Hematology, Faculty of Medicine, University Hospital Brno

² Faculty of Medicine, Masaryk University

³ Institute of Biostatistics and Analyses, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno

Summary

Background: Microparticles (MPs) are small (0.1–1 µm) cell-derived vesicles released during activation or apoptosis, with a surface-exposed phosphatidylserine along with antigens indicating the cellular origin. The level of MPs is known to be elevated in thromboembolic diseases and malignancies; it is believed that MPs are not only amplifying but can also initiate the thrombogenesis processes. *BCR/ABL* negative myeloproliferative neoplasms (MPNs) are clonal haematopoietic diseases, which include polycythemia vera, essential thrombocythemia and primary myelofibrosis. One of the main problems of MPN patients is high risk and incidence of thrombosis which affect the survival, quality of life and life expectancy. **Patients and methods:** The clinical significance of circulating MPs was assessed in a group of 179 patients with *BCR/ABL*-negative MPNs. Analysis of MPs was done using flow cytometry on 417 samples, and MPs procoagulation activity was performed using a functional assay called Zymuphen MP-activity (Hyphen Biomed, Neuville-sur-oise, France) on 274 samples. **Results:** Significantly higher absolute and relative count of platelet MPs was found in MPN patients when compared with healthy group, respectively ($p = 0.001$, $p = 0.043$). Erythrocyte MPs were also significantly higher in MPN patients than in the healthy group ($p < 0.001$). Procoagulation activity of MPs was as well significantly higher in patients compared to the control group ($p < 0.001$). Patients with primary myelofibrosis had decreased absolute and relative count of platelet MPs compared to polycythemia vera and essential thrombocythemia patients, respectively ($p = 0.008$, $p = 0.014$). Presence of *JAK2V617F* mutation was associated with higher absolute and relative count of platelet MPs, respectively ($p = 0.045$, $p = 0.029$). **Conclusion:** Although some literature data support the hypothesis of a direct relation between MPs and thrombotic events in MPN patients, further studies are needed to evaluate the clinical implication of MPs in the hypercoagulation state of MPN patients.

Key words

microparticles – myeloproliferative disorders – procoagulation activity – thrombosis – Janus Kinase 2

This work was partially supported by grant MUNI/A/1105/2018 provided by the Masaryk University Brno and by project FNBr 65269705 for Conceptual Development of Research Organization supported by the Czech Ministry of Health.

Tato práce byla částečně podpořena grantem MUNI/A/1105/2018 Masarykovy univerzity, Brno, a projektem FNBr 65269705 pro Konceptuální rozvoj výzkumné organizace, podpořeným Ministerstvem zdravotnictví České republiky.

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.



Mohamed Hussam Aswad, M.D.
Department of Clinical Hematology
Faculty of Medicine
University Hospital Brno
Jihlavská 20
625 00 Brno
e-mail: dr.hussam89@gmail.com

Submitted/Obdrženo: 21. 1. 2019

Accepted/Přijato: 3. 3. 2019

doi: 10.14735/amko2019109

Souhrn

Východiska: Mikropartikule (MP) jsou malé vezikuly (0,1–1 µm) uvolněné v průběhu aktivace nebo apoptózy, na jejichž povrchu je exprimován fosfatidylserin spolu s antigeny indikujícími jejich buněčný původ. Je známo, že hladina MP je zvýšena u tromboembolických onemocnění a malignit; předpokládá se, že MP nejen zesilují, ale mohou také iniciovat proces trombogeneze. *BCR/ABL* negativní myeloproliferativní choroby (myeloproliferative neoplasms – MPN) jsou klonální onemocnění krvinek, která zahrnují pravou polycytemii, esenciální trombocytemii a primární myelofibrózu. Jednou z hlavních komplikací u pacientů s MPN je vysoké riziko a incidence trombózy, které ovlivňují přežití, kvalitu i délku života. **Soubor pacientů a metody:** Klinický význam cirkulujících MP byl hodnocen u skupiny 179 pacientů s *BCR/ABL* negativními MPN. Analýza MP byla provedena použitím průtokové cytometrie u 417 vzorků a prokoagulační aktivita MP byla provedena pomocí funkčního testu Zymuphen MP-activity (Hyphen Biomed, Neuville-sur-Oise, Francie) u 274 vzorků. **Výsledky:** Významně vyšší absolutní a relativní počet destičkových MP byl nalezen u pacientů s MPN ve srovnání s vyšetřením zdravých dárců ($p = 0,001$; $p = 0,043$). Erytrocytární MP byly také významně vyšší u pacientů s MPN než u zdravých jedinců ($p < 0,001$). Prokoagulační aktivita MP byla rovněž významně vyšší u pacientů než ve skupině zdravých dárců ($p < 0,001$). Pacienti s primární myelofibrózou měli významně nižší absolutní a relativní počet destičkových MP ve srovnání s pacienty s pravou polycytemií a esenciální trombocytemií ($p = 0,008$; $p = 0,014$). Přítomnost mutace *JAK2V617F* byla spojena s vyšším absolutním a relativním počtem destičkových MP ($p = 0,045$; $p = 0,029$). **Závěr:** Ačkoliv některá literární data podporují hypotézu o přímém vztahu mezi MP a trombotickými událostmi u pacientů s MPN, pro vyhodnocení klinického významu MP ve vztahu k hyperkoagulačnímu stavu těchto pacientů jsou nezbytné další klinické studie.

Klíčová slova

mikropartikule – myeloproliferativní choroby – prokoagulační aktivita – trombóza – Janus Kinase 2

Background

Microparticles (MPs), which were called “platelet dust” when originally discovered by Peter Wolf in 1967 [1], could be found in both serum and plasma [2]. Generally, MPs are produced from all cell types during activation or apoptosis and this applies in healthy individuals as well as patients [3]. Although the majority of MPs are platelets-derived, other cell types produce MPs such as erythrocytes, leukocytes, endothelial cells and tumour cells [4–6].

A standard definition of MPs was set in the International Society on Thrombosis and Haemostasis 51st annual meeting in 2005 when vascular biology subcommittee defined MPs as 0.1–1 micrometer cell-derived vesicles, with neither nucleus nor synthetic capacity, containing a membrane skeleton, varying amounts of surface-exposed phosphatidylserine along with antigens from the cells of origin [7]. The expression of the tissue factor and phosphatidylserine on MPs surface play a critical role in starting and amplifying of thrombosis due to their procoagulant properties. In addition, MPs are involved in the transport and transfer of bioactive molecules, cell activation and inflammation processes [8–10].

BCR/ABL negative myeloproliferative neoplasms (MPNs) are chronic haematological diseases characterised by proliferation of myeloid cells. The classical *BCR/ABL* negative MPNs include essen-

tial thrombocythemia (ET), polycythemia vera (PV) and primary myelofibrosis (PMF). The clinical course of *BCR/ABL* negative MPNs is frequently complicated by thrombotic events, which can initially be manifestation of the disease and may occur at venous, arterial or microcirculatory sites. Thrombosis represents a common complication in MP and significantly contributes to morbidity and mortality. The prevalence of thrombotic events ranges 10–29% in ET and 34–39% in PV patients [11]. In patients with myelofibrosis the rate of thrombotic events is 2.2% per patient/year, which is close to the rate observed in ET [12]. Approximately one third of patients with PV, up to 29% of patients with ET and 13% of patients with PMF have thrombotic events prior to or at diagnosis of MPN, and the cumulative rate of thrombosis after an MPN diagnosis is estimated to be approximately 3% per patient/year in PV and ET and around 2% per patient/year in PMF [13].

Well-described risk factors for thrombotic complications include older age and history of prior thrombosis. Cardiovascular risk factors, such as smoking, hypertension and diabetes have been associated with higher risk of cerebral or cardiac events in MPN and are included in the International Prognostic Score of Thrombosis for ET (IPSET-thrombosis) [14]. Patients with both MPN and underlying thrombophilia have a higher inclination to thrombosis. *JAK2V617F*

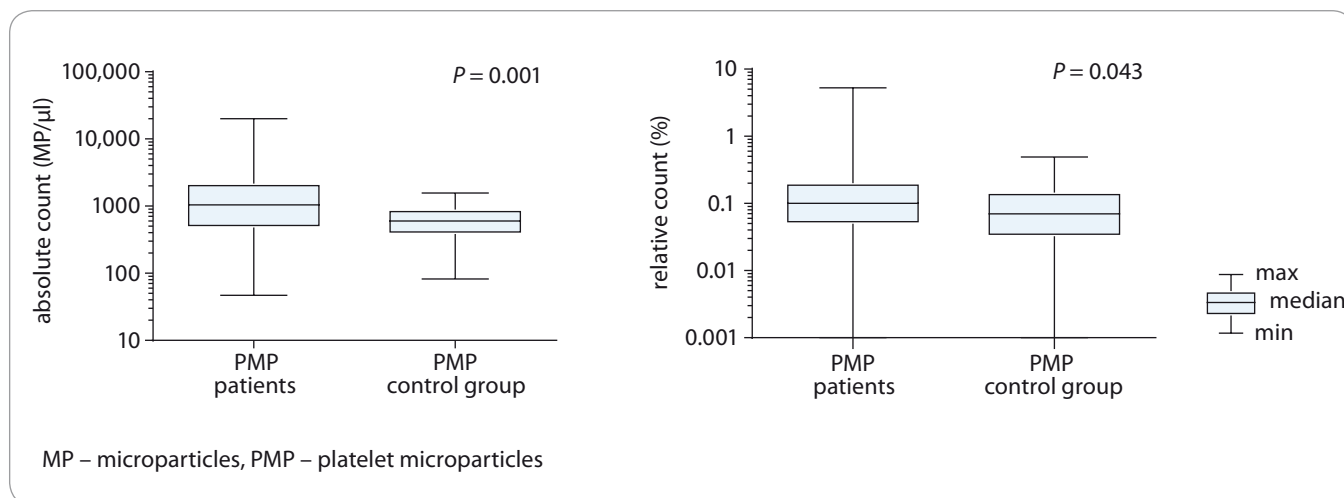
mutation has been found to carry an increased risk of thrombotic complications, whereas *CALR* has a lower risk than *JAK2V617F* mutation. Studies have also focused on evaluation of the risk of thrombosis due to higher cell counts. Several studies have shown an association with leukocytosis or thrombocytosis and higher risk of thrombotic complications [15,16], *JAK2V617F* mutation status also seems to impact the risk of thrombosis [17,18]. Management of MPN focuses on the prediction risk of thrombosis and initiating prophylaxis to prevent complications in patients at high risk of thrombosis. Based on these facts the global interest is shifted nowadays towards identifying and proving of an effective treatment as well as identifying prognostic factors in order to minimise the risk and the complications [16,19].

The aim of this study is to evaluate the level of circulating MPs and their procoagulant activity in connection with the occurrence of thrombotic complications in patients with *BCR/ABL* negative MPNs.

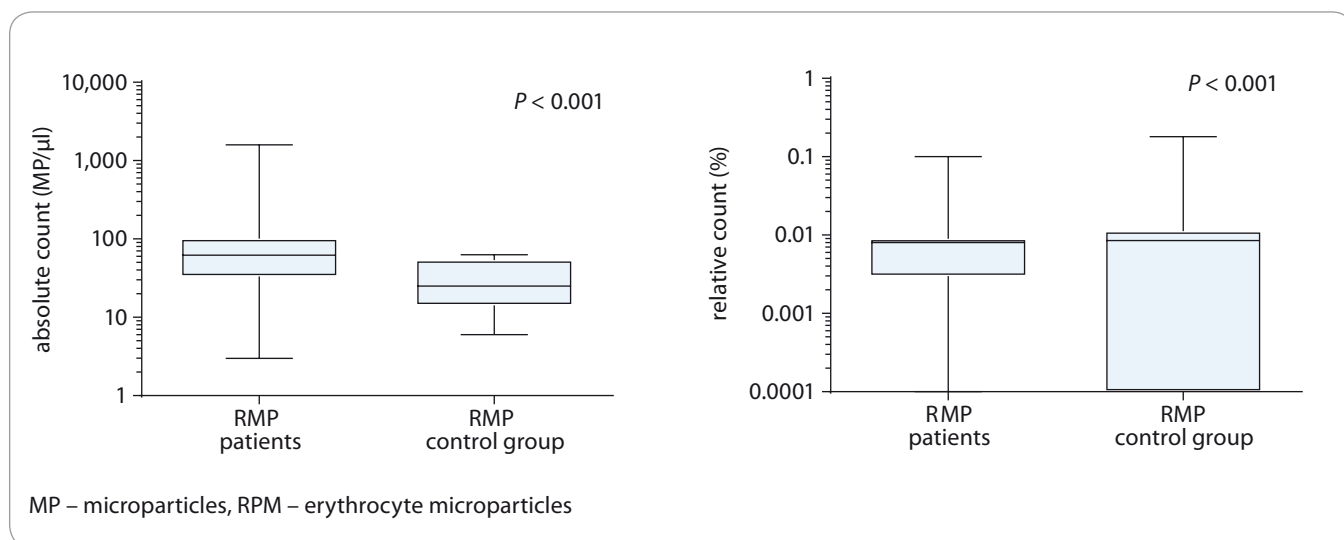
Patients and methods

Patients

In this study we analysed the clinical and laboratory data from 179 patients who were diagnosed for *BCR/ABL* negative MPNs in the Department of Clinical Hematology University Hospital Brno. The study was approved by the local Ethical Committee. Written informed consents



Graph 1. Comparison of absolute and relative count of PMPs between patients with myeloproliferative neoplasms and healthy individuals (control group).



Graph 2. Comparison of absolute and relative count of RMPs between myeloproliferative neoplasms patients and control group.

were obtained from all patients. Patients were diagnosed according to the criteria of the World Health Organization (WHO), only 5% according to Polycythemia Vera Study Group criteria.

The cohort of 179 patients with MPN (77 males, 102 females, median age at diagnosis 56 years) includes 99 patients with ET (55%), 51 patients with PV (29%) and 29 patients with PMF (16%). In this cohort the level of platelet and erythrocyte MPs was assessed using flow cytometry (FCM) and the procoagulant activity of MPs measured by using functional assay. A total of 142 patients were positive for *JAK2V617F* mutation (79.3%), 25 patients for *CALR* mutation (14%),

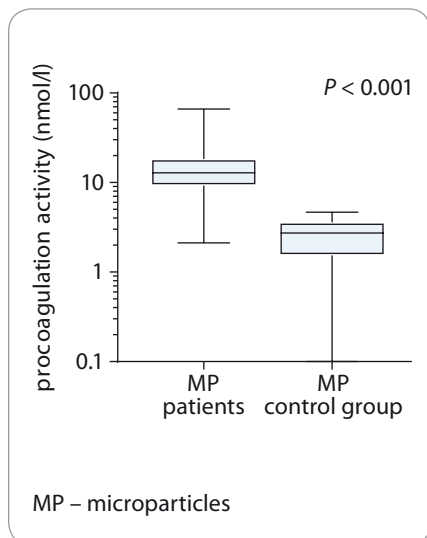
3 patients for *MPL* mutation (1.7%), and 9 patients were triple-negative (5%).

A total of 61 patients of our cohort had a history of thrombosis (34.1%); 29 patients (16.2%) had arterial thrombosis events, 19 patients (10.6%) had venous thrombosis events, 7 patients had microvascular thrombosis events (3.9%), 4 patients had both venous and arterial thrombosis events (2.2%) and 2 patients had arterial and microvascular thrombosis events (1.1%).

Pre-analytical conditions of MPs examination

After using a light tourniquet, blood samples were collected from patients'

antecubital vein through a 21-gauge needle to reduce blood-cell activation or damage which affect the MPs level. The tubes used for collecting blood contains sodium citrate as anticoagulant and K3-ethylenediaminetetraacetic acid for molecular studies and blood count evaluation. The first few millilitres were discarded. Plasma was prepared within approximately 120 min after blood collection. Centrifugation process was used for the purpose of MPs examination to remove platelets and other large blood components from the plasma in order to avoid cellular activation leading to unintended production of MPs.



Graph 3. Comparison of procoagulation activity of MPs between myeloproliferative neoplasms patients and control group.

For FCM this was done by using only one phase-centrifugation process at 2,500 g for 15 min at room temperature to avoid using breaks when reproducing platelet-poor plasma which may affect the credibility of the results. Then 200 mL of the plasma supernatant was carefully moved into a polypropylene haemolysis tube with a micropipette to avoid disturbing or mixing the cellular layer with the plasma. The plasma su-

pernatant was then immediately further processed for FCM examination.

For procoagulation activity of MPs, the supernatant of the platelet-poor plasma which was produced by centrifugation at 1,500 g for 15 min, was centrifuged again for 2 min at 13,000 g at room temperature, then plasma samples were stored frozen at -80°C . On the day of analysis, an aliquot of plasma was thawed for 15 min at 37°C before use. Thawed specimens were tested within 4 h stored at room temperature. A complete blood count was ordered for all patients at the time of MPs examination.

Analytical conditions for MPs examination

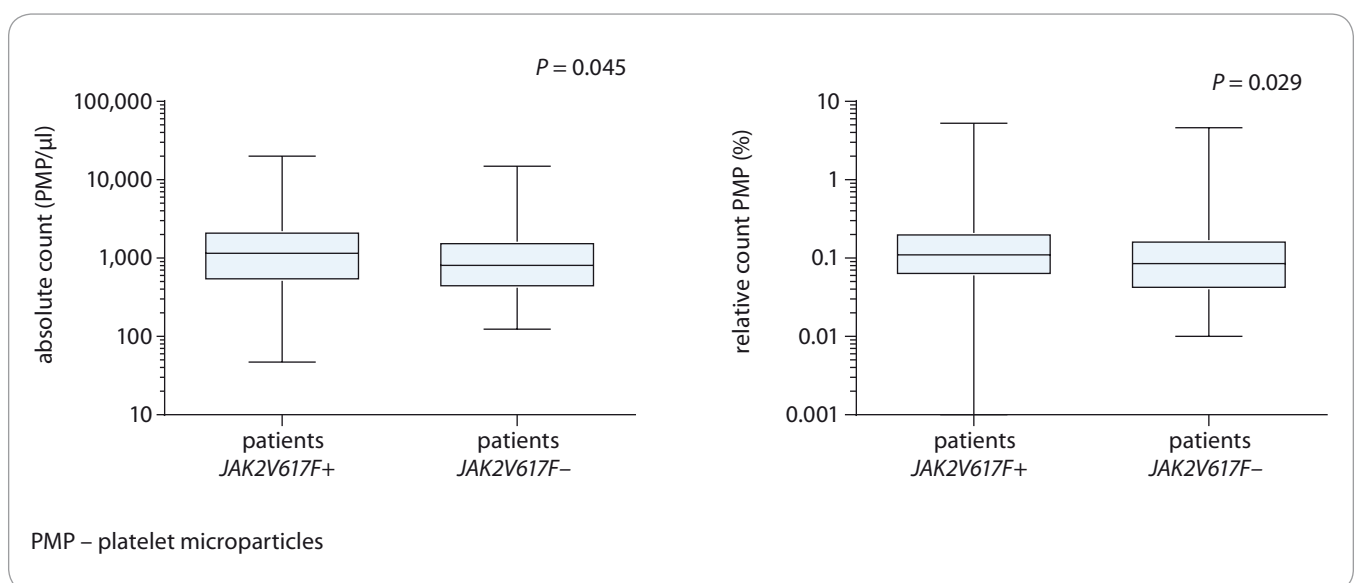
FCM assay was performed by using FC500 Cytomics (Beckman Coulter, Brea, CA, USA). After incubation of platelet-poor plasma with CD41-PC7 (Beckman Coulter), CD235a-PE and annexin V-FITC (both EXBIO) in Ca^{++} buffer, calibrated beads FlowCount (Beckman Coulter) were added. Sample was immediately analysed on protocol adjusted to the MPs size with Megamix beads (Biotex). Platelet MPs (PMPs) were identified as positive annexin V and CD41 (Beckman Coulter) events, while erythrocyte MPs (RMPs) were identified as positive annexin V and CD235a (EXBIO) events. Relative (%) and absolute (MP/ μl) counts

of MPs were acquired using FlowCount (Beckman Coulter).

Measurement of MP procoagulant activity in plasma was performed using a functional assay, called Zymuphen MP-activity (Hyphen Biomed, Neuville-sur-oise, France). In this assay the diluted plasma samples supplemented with calcium, Factor Xa and thrombin inhibitors are introduced to ELISA plate coated with biotinylated annexin V and streptavidin. During the incubation period the phospholipids of MPs bind to the annexin V. After applying a washing step, Factor Xa and Va are added together with prothrombin. This prothrombinase complex in the presence of calcium will accumulate on the surface of the captured MPs as they expose phosphatidylserine, then the active complex FXa-FVa will convert prothrombin to thrombin. The concentration of MPs phospholipids is directly proportional to the amount of generated thrombin, which is measured via its specific activity on the thrombin substrate. The results were expressed as nanomolar phosphatidylserine equivalent.

Statistical methods

Each patient had at least one evaluation of MP, all MP examinations were analysed. Due to the skewed shape of the data, log transformation was applied. Statistics after back transformation are



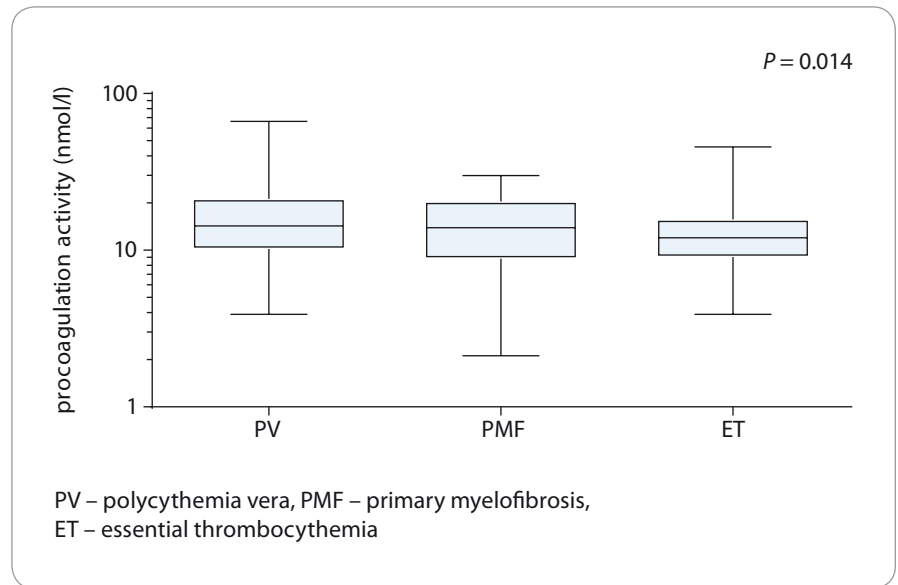
Graph 4. Analysis of absolute and relative count of PMPs in relation with the positivity or negativity of *JAK2V617F* mutation of myeloproliferative neoplasms patients.

shown – geometric mean and 95% confidence interval (CI). Since MP examinations in one patient can be correlated, mixed effect models were applied – patient’s examination was included as a random effect factor whereas evaluated variable as fixed effect factor. P-values of fixed effects are shown. No significant difference among examinations in time was proven. Analysis was performed in IBM SPSS Statistics 23 (IBM, USA).

Results

The total number of samples examined by FCM reached 417 samples with at least one sample for each patient from the 179-patient cohort, while the sample size of MPs concentration detected using procoagulation activity assay was 274 samples for 121 patients. As a control group, samples from 20 healthy donors not using drugs that affect the coagulation system (10 males, 10 females, median age at MPs examination 37.5 years) were used. The normal range of procoagulant activity of MPs was confirmed by the results obtained from the healthy group, with no result of the tested samples reached or was above 5 nmol/L (0–4.67).

The mean and 95% CI of the absolute and relative count of PMPs in MPNs patients was 1,046.6 MPs/μl (139.7–7,842) and 0.109% (0.012–0.951), respectively. For RMP the mean and 95% CI



Graph 5. Comparison of procoagulation activity of MPs between patients according to the type of myeloproliferative neoplasms (PV, PMF, and ET).

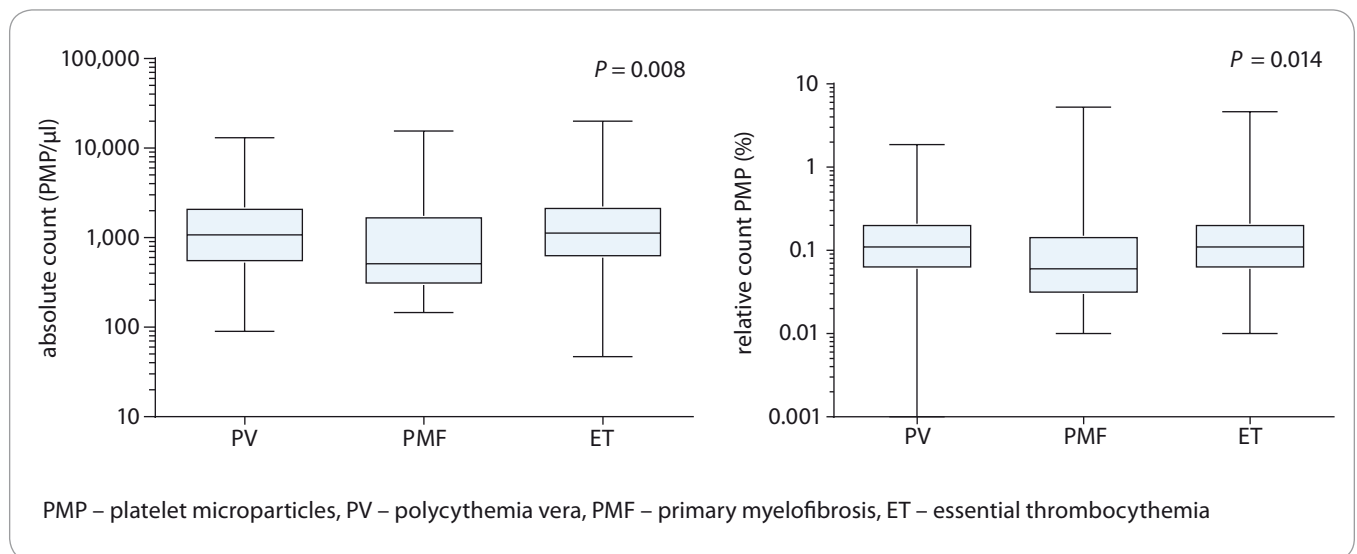
of the absolute and relative count was 57.3 MPs/μl (10.2–322.8) and 0.006% (0.001–0.043). Mean procoagulation activity was 12.8 nmol/L (4.8–34).

A weak positive correlation was found between the results of procoagulation activity of MPs and the relative count of PMPs in our MPN patients ($p = 0.029$), but no significant correlation was found with RMPs.

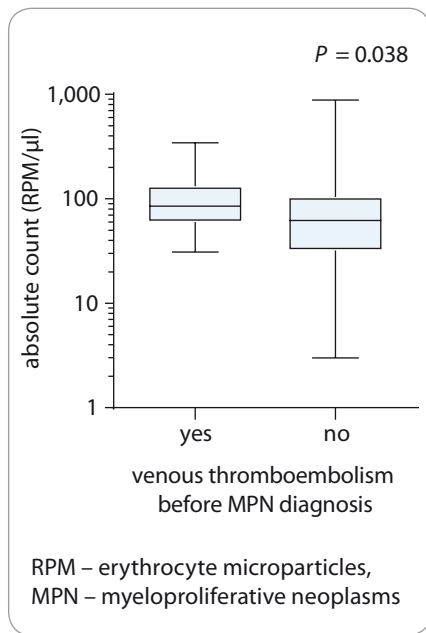
The difference between patients and healthy individuals was statistically sig-

nificant for absolute and relative count of PMPs, respectively (1,047 vs. 519 MPs/μl, $p = 0.001$; 0.109 vs. 0.068%, $p = 0.043$) (Graph 1), for absolute and relative count of RMPs (57 vs. 24 MPs/μl; 0.006 vs. 0.003%, both $p < 0.001$) (Graph 2) and for procoagulation activity of MPs (12.9 vs. 1.9, $p < 0.001$) (Graph 3).

Patients with positive *JAK2V617F* mutation appeared to have higher absolute and relative count of PMPs compared with patients with negative *JAK2V617F*



Graph 6. Comparison of absolute and relative count of platelet microparticles between patients according to the type of myeloproliferative neoplasms (PV, PMF, and ET).



Graph 7. Comparison of absolute count of RPMs between myeloproliferative neoplasms patients with or without venous thromboembolism occurred before MPN diagnosis.

mutation, (1,150 vs. 807 MPs/ μ l, $p = 0.045$; 0.11 vs. 0.085%, $p = 0.029$) (Graph 4), but no statically significant difference was found when comparing the RMPs count in the two groups. When specifically studied, the relationship between the type of mutation and the level of PMPs, *JAK2V617F* positive patients were found to have higher ab-

solute and relative count of PMPs than patients with *CALR* or *MPL* mutations (1,100 vs. 973 vs. 727 MPs/ μ l; 0.116 vs. 0.096 vs. 0.064%).

Statistically significant difference was found when assessing the MPs according to the type of MPNs. Patients with PV had pathological values of procoagulation activity of MPs more frequently than PMF and ET patients ($p = 0.014$) (Graph 5). Absolute and relative count of PMPs in patients with PMF was lower than in PV and ET patients (748 vs. 1,037 vs. 1,147 MPs/ μ l, $p = 0.008$; 0.077 vs. 0.11 vs. 0.119%, $p = 0.014$) (Graph 6), on the contrary and when the same evaluation was made for RMPs, patients with PMF were found to have higher absolute and relative count than in PV and ET patients, but it was not statistically significant.

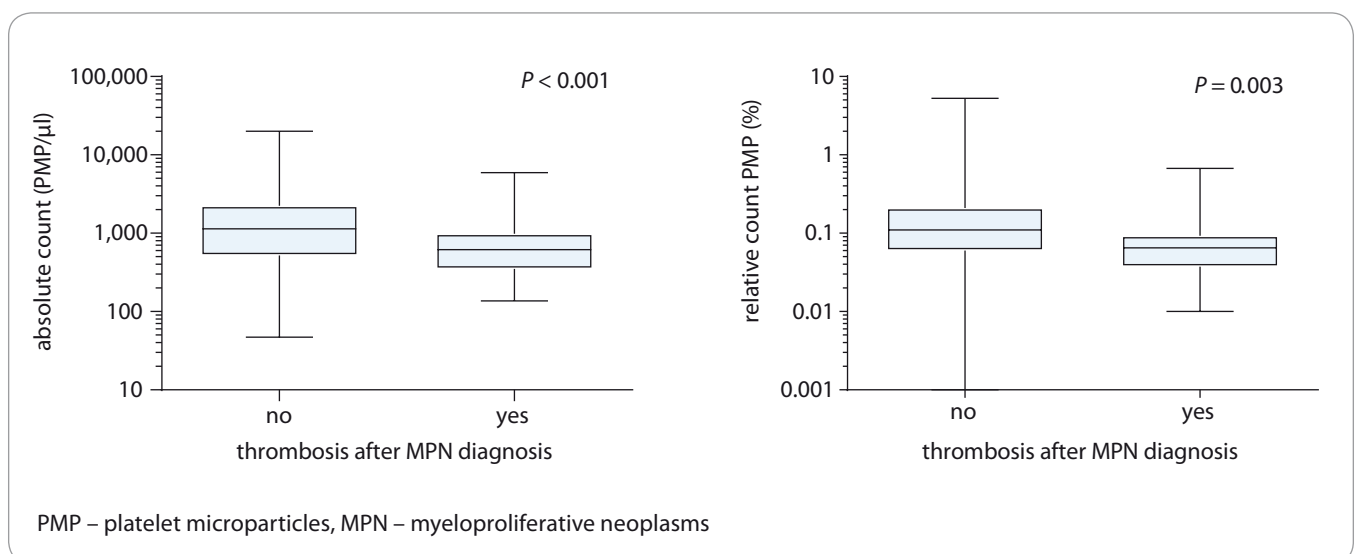
No statistically significant difference was found when studying the correlation of the procoagulation activity of MPs in patients with or without a history of thrombosis in general. The data of patients with thrombosis were analysed according to the time of thrombosis into three groups – before MPN diagnosis, at and after MPN diagnosis. The absolute count of RMPs was significantly higher in patients who had a history of venous thrombosis before diagnosis than those who did not have (91 vs. 56 MPs/ μ l, $p = 0.038$) (Graph 7). Patients with thrombosis occurred after

MPN diagnosis had significantly lower PMP as compared with patients without thrombosis, in absolute and relative values ($p < 0.001$; $p = 0.003$) (Graph 8). When comparing PMPs value in patients who had thrombosis and according to the time of occurrence it was found that patients with thrombosis before MPN diagnosis had significantly higher absolute count of PMPs than those who had thrombosis at or after MPN diagnosis ($p = 0.022$) (Graph 9). Detailed analysis was performed on the ET patients, specifically on those who have positive *JAK2V617F* mutation; it was found that absolute and relative values of PMPs were significantly lower in patients who had a history of thrombosis than those who did not have any thrombosis ($p = 0.026$; $p = 0.014$) (Graph 10).

The correlation in PMPs absolute and relative count with the results of simultaneously done complete blood count was studied, and statically significant correlations were found between PMPs absolute count with leukocytes, erythrocytes and platelets count along with haemoglobin and haematocrit values ($p = 0.023$, $p = 0.027$, $p = 0.002$, $p < 0.001$, $p < 0.001$, resp. for relative PMPs count ($p = 0.024$, $p = 0.040$, $p = 0.018$, $p = 0.002$, $p = 0.018$).

Discussion

Considered mechanism that triggers thrombosis in MPN include vascular dis-



Graph 8. Comparison of absolute and relative count of PMPs between myeloproliferative neoplasms patients with or without thrombosis occurred during MPN treatment.

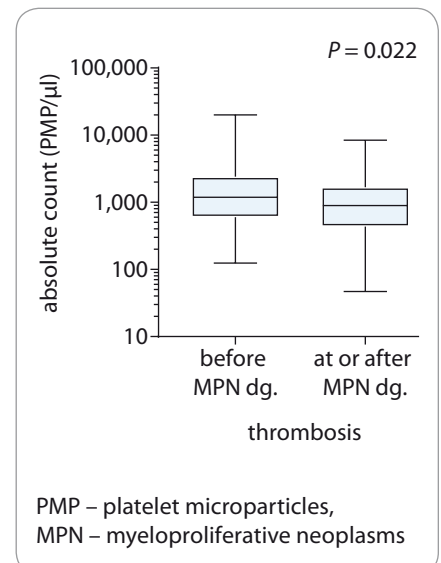
turbances, platelet activation, endothelial damage, and microparticle induced coagulation [13]. While the mechanisms leading to thrombosis are not completely understood, clinical and lab-based risk factors have been identified. Circulating MPs are considered to be biomarkers indicating the procoagulant state. Majority of circulating MPs are derived from platelets or megakaryocytes, but the other subtypes of MPs are important too. Erythrocyte-derived MPs, which are together with platelet-derived MPs exposing PS on the surface, are not only capable of propagation of the coagulation but can also solely start the production process of thrombin [20].

Numerous studies have shown that levels of circulating MPs are elevated in cancer patients, and that MPs contribute to thrombosis development. The elevated level of MPs or its procoagulant activity has been reported in MPN patients [21–24]. The aim of this study is to investigate a link between the parameters of circulating MPs and thrombotic complications in MPN patients. Like others [22,24], we observed a significantly higher procoagulant activity [22,24] and level of MPs [25,26] in comparison with control groups. These results can demonstrate the persistent prothrombotic state in patients with MPN.

JAK2V617F mutation has been reported frequently in MPN patients [27]; recent studies show that *JAK2V617F*

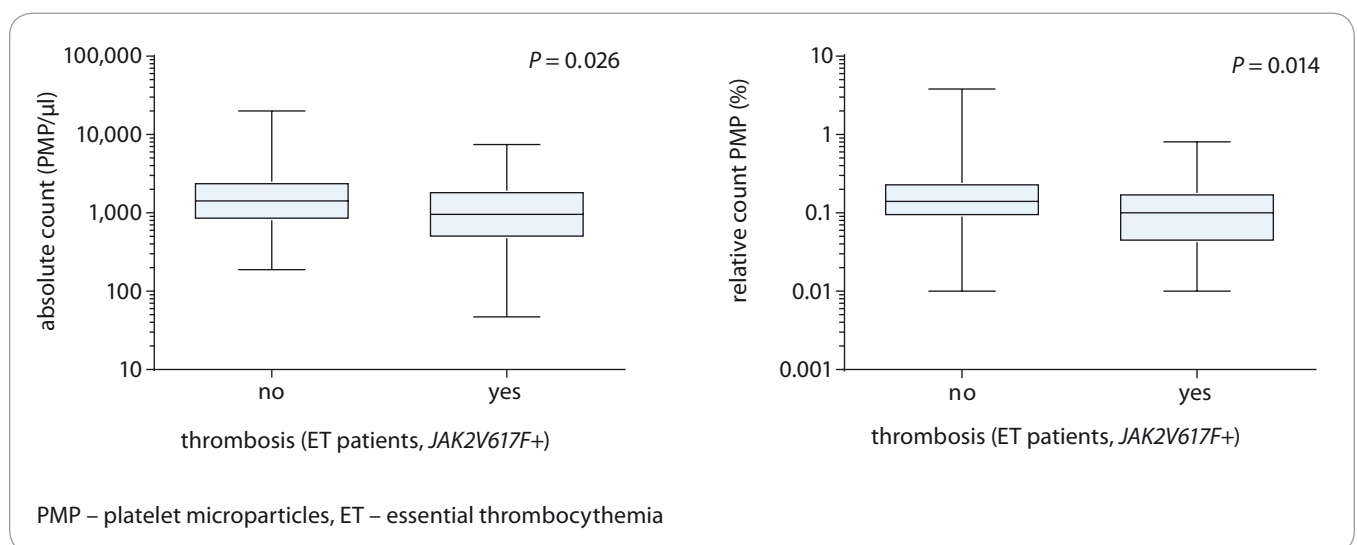
mutation or its allele burden is associated with the increased risk of thrombosis [17,18,28–31]. We found that *JAK2V617F* positive patients have significantly higher absolute and relative count of PMPs than those who are *JAK2V617F* negative, but no significant difference was found for RMP. Similar results were previously published by Zhang et al. [25], where the PMPs level in patients with *JAK2V617F* mutation was increased compared to patients without the mutation. Results can demonstrate the prothrombotic phenotype typical for this group of patients and can support the predicted involvement of MPs in pathogenesis of thrombotic complications in *JAK2V617F* positive patients. *CALR* mutation has been associated with lower risk of thrombosis compared to *JAK2V617F*, as demonstrated in one single-centre study of WHO-defined ET that found rates of major thrombosis of 13.5% for *CALR* vs. 30.1% in *JAK2V617F* ($p = 0.01$) [32]. Our comparison of MPs level between *JAK2V617F* positive and *CALR* positive patients did not confirm a significance due to the low number of *CALR* patients.

In our study we also analysed the differences of MP characteristics between the three subgroups of MPN. In previous study of our department [24] we found higher MP procoagulant activity in PV patients when compared to ET and PMF; the results of the current study are the



Graph 9. Comparison of absolute count of PMPs between myeloproliferative neoplasms patients with thrombosis occurred before and during or after MPN diagnosis.

same. Higher level of PMP was found in patients with PV and ET in comparison with PMF; the finding is different to the recent study of Zhang et al. [25], where the authors describe higher level of PMP and RMP in patients with PMF. The difference in outcome may be as a result of a lower number of MPN patients compared to our study, especially PMF patients. According to the published data, PV and ET are associated with higher risk of thrombosis as compared with



Graph 10. Comparison of absolute and relative count of PMPs between ET patients (*JAK2V617F* positive) with or without thrombosis.

PMF [13,30] and these circumstances can support the clinical implication of our results. Higher level of MPs in PV and ET patients may promote thrombogenesis and therefore lead to higher risk of thrombosis in this disease.

Unlike Zhang et al. [25] and Kissova et al. [24], but as reported by Duchemin et al. [22] we found no correlation between MPs and history of thrombosis in MPN patients. When we analysed the MP levels in patients with thrombosis according to the time of thrombosis development, we determined that patients with thrombosis during follow-up for MPN diagnosis had a lower level of PMPs than patients without thrombosis. The disadvantage of this study is the lack of MPs analysis in context with treatment. As previously documented in other studies [16,22,26], the patients with cytoreductive therapy were characterised by lower procoagulant activity of MPs than patients without cytoreduction. This analysis could clarify these results.

Well-defined risk factors for thrombotic complications in MPN patients include older age and history of prior thrombosis. Comparison of MPs levels in patients with thrombosis before diagnosis of MPN and patients after diagnosis of MPN showed higher levels of PMPs in the patients with venous thrombosis prior to MPN diagnosis. This finding supports the strategy of management of MPN patients according to the individual risk factors; the patients with a history of thrombosis belong to the high-risk group and should be appropriately treated. Further analysis of these results in context with therapy could provide more detailed information.

We examined the MP characteristics periodically regardless of the stage of disease or its treatments. And these circumstances could affect the results of the study even in the same patient. Therefore, further analyses of MPs in patients with MPN are necessary, especially in relation to therapy.

Conclusion

The present study observed a higher level of MPs in MPN patients, a high level of MPs was found in *JAK2V617F* positive patients and patients with a history

of venous thrombosis prior to MPN diagnosis. The results of MP characteristics in patients with thrombosis require more detailed analyses in relation to the therapy.

Further studies are needed to clarify the clinical benefit of MPs as a potential biomarker of thrombosis as well as a diagnostic and prognostic factor in MPN patients.

References

- Wolf P. The nature and significance of platelet products in human plasma. *Br J Haematol* 1967; 13(3): 269–288.
- George JN, Thoi LL, McManus LM et al. Isolation of human platelet membrane microparticles from plasma and serum. *Blood* 1982; 60(4): 834–840.
- Morel O, Jesel L, Freyssinet JM et al. Cellular mechanisms underlying the formation of circulating microparticles. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011; 31(1): 15–26. doi: 10.1161/ATVBAHA.109.200956.
- Diamant M, Tushuizen ME, Sturk A et al. Cellular microparticles: new players in the field of vascular disease? *Eur J Clin Invest* 2004; 34(6): 392–401. doi: 10.1111/j.1365-2362.2004.01355.x.
- Martinez MC, Tesse A, Zobairi F et al. Shed membrane microparticles from circulating and vascular cells in regulating vascular function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005; 288(3): H1004–H1009. doi: 10.1152/ajpheart.00842.2004.
- Rak J. Microparticles in Cancer. *Semin Thromb Hemost* 2010; 36(8): 888–906. doi: 10.1055/s-0030-1267043.
- Freysinet JM. Meeting of the international society on thrombosis and haemostasis: 51st annual scientific and standardization committee meeting. Australia, Sydney: Scientific Subcommittee Minutes 2005: 78–81.
- Mooberry MJ, Key NS. Microparticle analysis in disorders of hemostasis and thrombosis. *Cytometry A* 2016; 89(2): 111–122. doi: 10.1002/cyto.a.22647.
- Zhou L, Qi X, Xu M et al. Microparticles: new light shed on the understanding of venous thromboembolism. *Acta Pharmacol Sin* 2014; 35(9): 1103–1110. doi: 10.1038/aps.2014.73.
- Lee TH, D'Asti E, Magnus N et al. Microvesicles as mediators of intercellular communication in cancer – the emerging science of cellular “debris”. *Seminars in Immunopathology* 2011; 33(5): 455–467.
- Tefferi A, Elliott M. Thrombosis in myeloproliferative disorders: prevalence, prognostic factors, and the role of leukocytes and *JAK2 V617F*. *Semin Thromb Hemost* 2007; 33(4): 313–320. doi: 10.1055/s-2007-976165.
- Barbui T, Carobbio A, Cervantes F et al. Thrombosis in primary myelofibrosis: incidence and risk factors. *Blood* 2010; 115(4): 778–782. doi: 10.1182/blood-2009-08-238956.
- McMahon B, Stein BL. Thrombotic and bleeding complications in classical myeloproliferative neoplasms. *Semin Thromb Hemost* 2013; 39(1): 101–111. doi: 10.1055/s-0032-1331153.
- Barbui T, Finazzi G, Carobbio A et al. Development and validation of an International Prognostic Score of thrombosis in World Health Organization-essential thrombocythemia (IPSET-thrombosis). *Blood* 2012; 120(26): 5128–5133. doi: 10.1182/blood-2012-07-444067.
- Landolfi R, Di Gennaro L, Barbui T et al. Leukocytosis as a major thrombotic risk factor in patients with polycythemia vera. *Blood* 2007; 109(6): 2446–2452. doi: 10.1182/blood-2006-08-042515.
- Schwarz J, Ovesná P, Černá O et al. Thrombosis in thrombotic Ph-myeloproliferations is associated with higher platelet count prior to the event: results of

- analyses of prothrombotic risk factors from a registry of patients treated with anagrelide. *Eur J Haematol* 2016; 96(1): 98–106. doi: 10.1111/ejh.12554.
- Lussana F, Caberlon S, Pagani C et al. Association of *V617F JAK2* mutation with the risk of thrombosis among patients with essential thrombocythemia or idiopathic myelofibrosis: a systematic review. *Thromb Res* 2009; 124(4): 409–417. doi: 10.1016/j.thromres.2009.02.004.
- Dahabreh IJ, Zoi K, Giannouli S et al. Is *JAK2 V617F* mutation more than a diagnostic index? A meta-analysis of clinical outcomes in essential thrombocythemia. *Leuk Res* 2009; 33(1): 67–73. doi: 10.1016/j.leukres.2008.06.006.
- Barbui T, Finazzi G, Falanga A. Myeloproliferative neoplasms and thrombosis. *Blood* 2013; 122(13): 2176–2184. doi: 10.1182/blood-2013-03-460154.
- Van Der Meijden PE, Van Schilffgaarde M, Van Oerle R et al. Platelet- and erythrocyte-derived microparticles trigger thrombin generation via factor XIIa. *J Thromb Haemost* 2012; 10(7): 1355–1362. doi: 10.1111/j.1538-7836.2012.04758.x.
- Trappenburg MC, van Schilffgaarde M, Marchetti M et al. Elevated procoagulant microparticles expressing endothelial and platelet markers in essential thrombocythemia. *Haematologica* 2009; 94(7): 911–918. doi: 10.3324/haematol.13774.
- Duchemin J, Ugo V, Ianotto JC et al. Increased circulating procoagulant activity and thrombin generation in patients with myeloproliferative neoplasms. *Thromb Res* 2010; 126(3): 238–242. doi: 10.1016/j.thromres.2010.06.025.
- Villmow T, Kemkes-Matthes B, Matzdorff AC. Markers of platelet activation and platelet-leukocyte interaction in patients with myeloproliferative syndromes. *Thromb Res* 2002; 108(2–3): 139–145.
- Kissova J, Ovesna P, Bulikova A et al. Increasing procoagulant activity of circulating microparticles in patients with Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2015; 26(4): 448–453. doi: 10.1097/MBC.0000000000000293.
- Zhang W, Qi J, Zhao S et al. Clinical significance of circulating microparticles in Ph-myeloproliferative neoplasms. *Oncol Lett* 2017; 14(2): 2531–2536. doi: 10.3892/ol.2017.6459.
- Taniguchi Y, Tanaka H, Luis EJ et al. Elevated plasma levels of procoagulant microparticles are a novel risk factor for thrombosis in patients with myeloproliferative neoplasms. *Int J Hematol* 2017; 106(5): 691–703. doi: 10.1007/s12185-017-2302-5.
- Cazzola M, Kralovics R. From Janus kinase 2 to CALR: the clinically relevant genomic landscape of myeloproliferative neoplasms. *Blood* 2014; 123(24): 3714–3719. doi: 10.1182/blood-2014-03-530865.
- Antonoli E, Guglielmelli P, Poli G et al. Influence of *JAK2V617F* allele burden on phenotype in essential thrombocythemia. *Haematologica* 2008; 93(1): 41–48. doi: 10.3324/haematol.11653.
- Passamonti F, Rumi E, Pietra D et al. A prospective study of 338 patients with polycythemia vera: the impact of *JAK2 (V617F)* allele burden and leukocytosis on fibrotic or leukemic disease transformation and vascular complications. *Leukemia* 2010; 24(9): 1574–1579. doi: 10.1038/leu.2010.148.
- Falanga A, Marchetti M. Thrombotic disease in the myeloproliferative neoplasms. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2012; 2012: 571–581. doi: 10.1182/asheducation-2012.1.571.
- De Stefano V, Za T, Rossi E et al. Influence of the *JAK2 V617F* mutation and inherited thrombophilia on the thrombotic risk among patients with essential thrombocythemia. *Haematologica* 2009; 94(5): 733–737. doi: 10.3324/haematol.13869.
- Rotunno G, Mannarelli C, Guglielmelli P et al. Impact of CALR mutations on clinical and hematological phenotype and outcome in essential thrombocythemia. *Blood* 2014; 123(10): 1552–1555. doi: 10.1182/blood-2013-11-538983.

Gastrointestinální stromální tumory rekta – hodnocení dat národního registru s ohledem na využití v klinické praxi

Gastrointestinal Stromal Tumours of the Rectum – Evaluating the National Registry Data with Respect to its Use in Clinical Practice

Svatoň R.¹, Kala Z.¹, Kysela P.¹, Procházka V.¹, Eid M.², Andrašina T.³, Poredská K.⁴, Strenková J.⁵, Chloupková R.⁵, Kunovský L.^{1,4}

¹Chirurgická klinika LF MU a FN Brno

²Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

³Klinika radiologie a nukleární medicíny LF MU a FN Brno

⁴Interní gastroenterologická klinika LF MU a FN Brno

⁵Institut biostatistiky a analýz, LF MU, Brno

Souhrn

Východiska: Gastrointestinální stromální tumory (GIST) jsou vzácné maligní mezenchymální tumory s incidencí 1/100 000 obyvatel. Představují pouze 5 % gastrointestinálních nádorů. Nejčastěji je nalézáme v žaludku (60–70 %). Do rekta je jich situovaných < 5 %. V případě lokalizovaných, resekabilních tumorů je základem léčby chirurgická resekce. V závislosti na velikosti a lokalizaci tumoru v rektu volíme mezi lokální excizí, resekcí rekta s anastomózou nebo abdominoperitoneální amputací s trvalou stomií. Na rozdíl od karcinomů je metastazování GIST do lymfatických uzlin vzácné, a proto není z onkologického hlediska lymfadenektomie v podobě mezorektální excize vyžadována. Neoadjuvantní léčba s využitím inhibitorů tyrozinkináz (tyrosine kinase inhibitors – TKI) je doporučovaná např. u tumorů větších 5 cm, v případě prorůstání do okolních orgánů nebo při infiltraci sfinkterů za účelem dosažení resekability a méně mutilujícího či kontinentního zákroku. V případě pozitivní resekcí linie se můžeme pokusit o reresekcii. Při CD117 pozitivitě lze zvážit adjuvantní léčbu TKI, kterou nasazujeme také po resekcích GIST středního a vysokého rizika maligního chování. U neresekabilních a metastazujících GIST je také indikovaná léčba TKI. **Materiál a metody:** Analýza dat získaných z registru GIST k 1. 1. 2017, kdy do registru přispívalo 10 center z ČR. **Výsledky:** Z analyzovaných 1 095 pacientů byla primární lokalizace GIST v rektu ve 45 případech (4,1 %). Průměrný věk pacientů byl 60 let. V souboru bylo signifikantně více mužů (68,9 %; $p = 0,0007$) a symptomatických pacientů (62,2 %; $p = 0,034$). Operaci podstoupilo 82 % pacientů. Z toho lokální excize byla provedena ve 37,8 %, resekce rekta s anastomózou ve 29,7 % a abdominoperitoneální amputace ve 29,7 %. V souboru bylo nejvíce tumorů velikosti 2–5 cm a necelá polovina vykazovala vysoké riziko maligního chování. Záznam o podání systémové léčby byl u 73 % pacientů. Kompletní remise byla dosažena u 80 % pacientů s GIST rekta. Medián přežití byl 11,3 roku a 5leté přežití je 90,6 %. **Závěr:** Navzdory úspěchům léčby TKI zůstává jedinou potenciálně kurativní metodou u GIST rekta chirurgická R0 resekce. Nejen vzhledem k nízké frekvenci výskytu těchto nádorů je správná diagnostika a léčba náročná. Proto by měli být pacienti s touto problematikou soustředěni do specializovaných center.

Klíčová slova

gastrointestinální stromální tumor (GIST) – rektum – terapie – resekce

Tato práce byla podpořena grantem MZ ČR – RVO (FNBr, 65269705).

This work was supported by grant MH CZ – RVO (FNBr, 65269705).

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. Lumír Kunovský, Ph.D.
Chirurgická klinika
LF MU a FN Brno
Jihlavská 20
625 00 Brno
e-mail: kunovsky.lumir@fnbrno.cz

Obdrženo/Submitted: 19. 12. 2018

Přijato/Accepted: 2. 2. 2019

doi: 10.14735/amko2019117

Summary

Background: Gastrointestinal stromal tumours (GIST) are rare malignant mesenchymal tumours with an incidence of 1 in 100,000. They represent only 5% of gastrointestinal tumours. The GISTs are mainly located in the stomach (60–70%) and in the rectum in < 5% of cases. In the case of localized, resectable tumours, the treatment is surgical resection. Depending on the size and localization of the tumour in the rectum, either a local excision, rectal resection with anastomosis, or abdominoperitoneal amputation with permanent stoma can be performed. In contrast to carcinomas, the metastasis of GISTs into lymph nodes is rare; therefore, from an oncological point of view, lymphadenectomy in the form of mesorectal excision is not required. Neoadjuvant treatment using tyrosine-kinase inhibitors (TKI) is recommended for tumours larger than 5 cm and in case of tumours infiltrating surrounding organs or sphincters in order to achieve complete resectability, less mutilating and continent procedure. In GISTs with a positive resection line, re-resection can be attempted. Adjuvant TKI therapy can be considered in cases of CD117 positivity and after resections of GISTs with medium and high-risk malignant behaviour. The TKI treatment is also indicated in cases of unresectable and metastatic GISTs. **Methods:** Data obtained from the GIST registry by the 1st January 2017, when 10 centres in the Czech Republic were contributing to the registry, were analysed. **Results:** We analysed 1,095 patients out of which 45 (4.1%) had GIST localized in the rectum. The average age of the patients was 60 years. There were significantly more males (68.9%; $p = 0.0007$) and symptomatic patients (62.2%; $p = 0.034$). In total, 82% of the patients underwent surgery. Local excision was performed in 37.8%, resection of the rectum with anastomosis in 29.7%, and Miles operation in 29.7%. In the cohort, most tumours were 2–5 cm in size and almost half of the tumours presented a high risk of malignant behaviour. Systemic treatment was reported in 73% of patients. A complete remission was achieved in 80% of patients with GIST of the rectum. The median survival rate was 11.3 years and the 5-year survival rate is 90.6%. **Conclusion:** Despite the success of TKI treatment, the only potentially curative method of rectal GISTs is a surgical R0 resection. Given the relatively rare frequency of these tumours, proper diagnosis and treatment is demanding. Therefore, these patients should be preferably treated in specialised centres.

Key words

gastrointestinal stromal tumour (GIST) – rectum – therapy – resection

Úvod

Gastrointestinální stromální tumory (GIST) jsou poměrně vzácné nádory řadící se do početné rodiny mezenchymálních nádorů, s incidencí 0,31–1,45 na 100 000 obyvatel [1]. Skutečný výskyt GIST je ale pravděpodobně daleko vyšší. Například analýza resekátů žaludku odebraných pro diagnózu karcinomu prokázala přítomnost mikroskopických GIST až ve 35 % [2]. GIST tvoří asi 2–5 % nádorů gastrointestinálního traktu. Mohou se objevit kdekoli v prů-

běhu gastrointestinálního traktu (žaludek 60–70 %, tenké střevo 20–25 %, konečník 5 %, jícn 5 %, tlusté střevo 2 %), ale i mimo trávicí trakt [3].

Prekurzorem těchto tumorů je progenitorní kmenová buňka diferencující se směrem ke Cajalovým intersticiálním buňkám, buňkám regulujícím střevní peristaltiku [4].

Jedná se o maligní nádory. Míra rizika maligního chování souvisí s lokalizací, velikostí a mitotickým indexem (MI) – počet mitóz na ploše 5 mm² [2]. Pětileté

přežití pacientů s GIST je ve všech rizikových skupinách 78,3 %, u velmi vysokého rizika poté 71,9 %, u pacientů s nízkým a velmi nízkým rizikem 91,9 % [5].

Obecně lze konstatovat, že GIST rekta vykazují při dané velikosti a MI horší prognózu než GIST daných parametrů v žaludku [6]. Základem úspěšné léčby je multidisciplinární přístup. V rámci obecného terapeutického algoritmu lze GIST rozdělit do čtyř skupin (schéma 1). V případě metastatického, inoperabilního a nerezekabilního tumoru je indikována léčba inhibitory tyrozinkináz (tyrosine kinase inhibitors – TKI) (s výjimkou průkazu GIST s *PDGFRA* D842V mutací, které jsou rezistentní k terapii imatinibem). V případě resekabilního tumoru je poté základem léčby chirurgické odstranění – chirurgická R0 resekce.

Metodika

K analýze byla využita data z registru GIST spravovaného Institutem biostatistiky a analýz LF MU Brno. Jedná se o klinický registr monitorující epidemiologii, léčbu a její výsledky u pacientů s GIST v ČR a SR. Základním kritériem pro zahrnutí pacienta do registru je potvrzená diagnóza GIST. Do registru byli retrospektivně zařazeni pacienti diagnostikovaní od 1. 1. 2000 do spuštění registru 27. 10. 2006 a prospektivně pacienti, kteří byli diagnostikovaní od

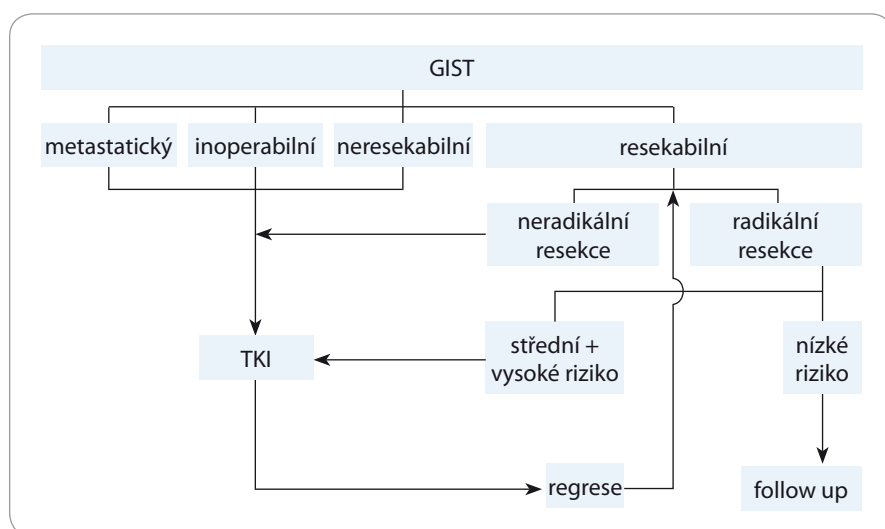


Schéma 1. Terapeutický algoritmus pro GIST.

GIST – gastrointestinální stromální tumory, TKI – tyrozinkinázové inhibitory

spuštění registru. Údaje jsou do registru zadávány prostřednictvím online aplikace. Základ databázového systému je založen na modifikované verzi systému TrialDB. Data jsou plně anonymizována, což znemožňuje jakoukoli přímou či nepřímou identifikaci subjektů hodnocení [7,8].

Konkrétně byla vyhodnocována data k 1. 1. 2017 z 10 center z ČR – Fakultní nemocnice v Motole, Masarykův onkologický ústav v Brně, Fakultní nemocnice Hradec Králové, Všeobecná fakultní nemocnice Praha, Fakultní nemocnice Brno, Fakultní nemocnice Olomouc, Nemocnice České Budějovice, Fakultní nemocnice Plzeň, Nemocnice Nový Jičín, Nemocnice Na Homolce.

Z celkového počtu 1 172 pacientů s diagnózou GIST bylo následně analyzováno 1 095 pacientů, u kterých byly údaje v registru kompletní a pravidelně aktualizované. Primární lokalizace v rektu byla stanovena u 45 pacientů.

Výsledky

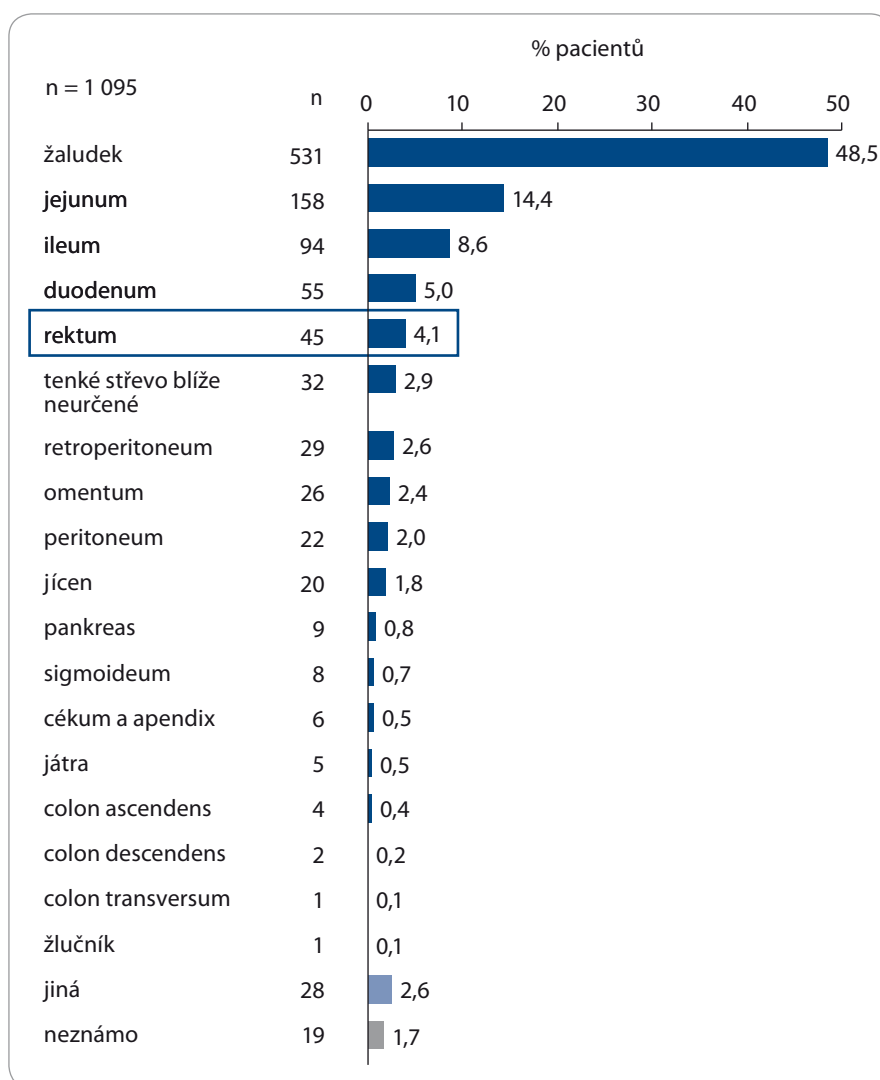
Ze souboru 1 095 pacientů s diagnózou GIST byl u 45 pacientů GIST lokalizován v rektu (4,1 %) (graf 1). V souboru bylo 14 žen (31,1 %) a 31 mužů (68,9 %; $p = 0,0007$). Průměrný věk pacientů byl 61 let, (medián 60; 5–95 percentil; 42–80 let) (graf 2).

Symptomatických bylo 28 pacientů (62,2 %; $p = 0,034$). Celkem 50 % pacientů uvádělo bolesti břicha, 46,4 % krvácení z konečníku a u 14,3 % byla zaznamenána anémie.

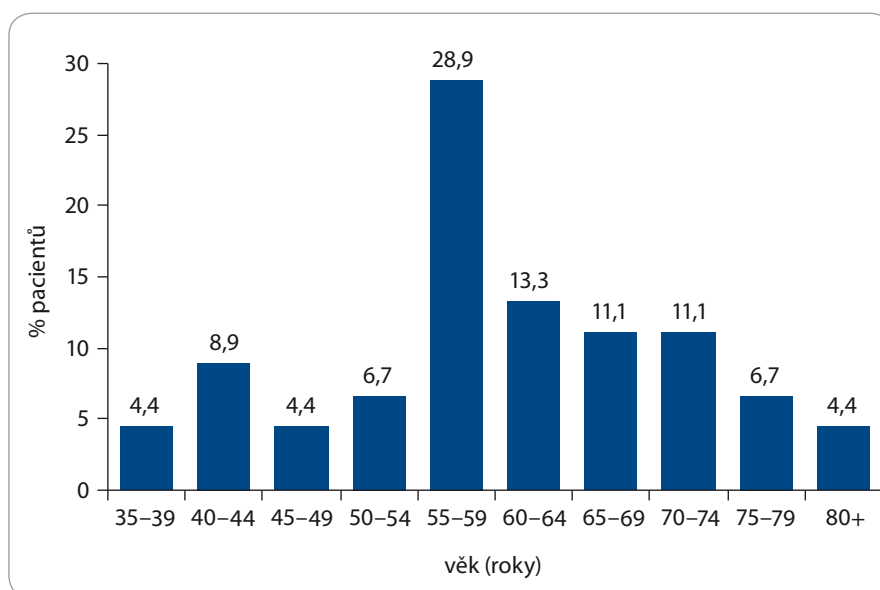
Operaci podstoupilo 37 (82,2 %) pacientů. Lokální excize byla provedena u 14 (37,8 %) pacientů, resekce rekta s anastomózou u 12 (32,4 %) pacientů a abdominoperineální amputace u 11 (29,7 %) pacientů. Celkem 8 pacientů operaci nepodstoupilo, a to v 7 (15,5 %) případech pro pokročilost onemocnění a u 1 pacienta byly důvody inoperability závažné komorbidity.

Nejvíce tumorů mělo rozměr v intervalu 2–5 cm (graf 3). Nejčastěji šlo o tumory s vysokým rizikem maligního potenciálu (46,7 %) (graf 4).

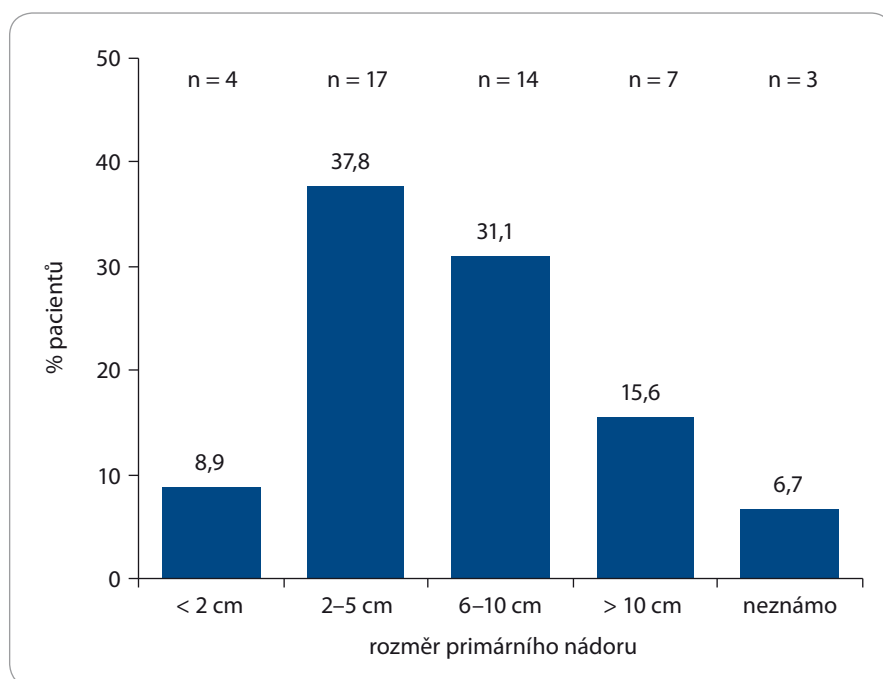
Záznam o podání systémové léčby byl u 33 (73,3 %) pacientů. Konkrétně šlo o imatinib 32× (78 %), sunitinib 5× (12,2 %), nilotinib 2× (4,9 %) a regorafenib 2× (4,9 %).



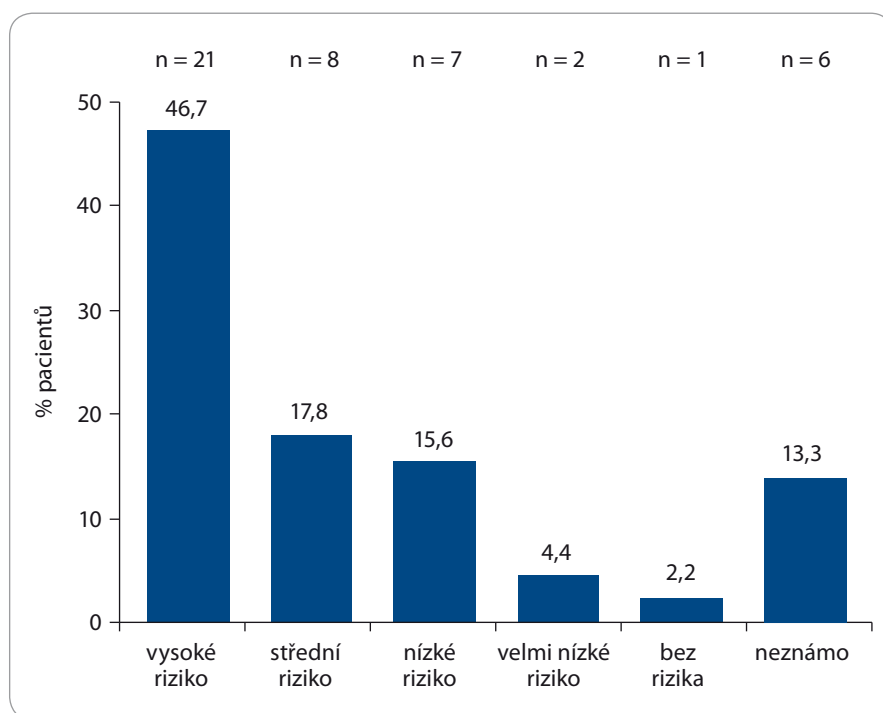
Graf 1. Lokalizace gastrointestinálního stromálního tumoru.



Graf 2. Věková skladba.



Graf 3. Velikost primárního nádoru.



Graf 4. Riziko maligního potenciálu.

Kompletní remise byla dosažena u 80 % pacientů s GIST rekta. Z toho u 11 pacientů došlo k 15 relapsům (8 pacientů 1× relaps, 2 pacienti 2× relaps, 1 pacient 4× relaps). V rámci relapsů jich bylo 7 lokálních, 5 vzdálených a 3 kombinované. Medián přežití

pacientů byl 11,3 roku a 5leté přežití je 90,6 % (graf 5).

Diskuze

Dle literárních údajů je do rekta situovaných < 5 % GIST [3]. V souboru pacientů z registru GIST to bylo 4,1 %. Nejčastěji

jsou tyto tumory diagnostikovány kolem 60. roku života a ve dvou třetinách u mužů. Toto potvrzují také data z analyzovaného souboru, v němž bylo signifikantně více mužů (31 vs. 14; $p = 0,0007$). Klinické projevy korelují s velikostí a lokalizací těchto nádorů. Mohou být akutní (krvácení, obstrukce či perforace) nebo chronické. Asi v pětině případů jde o incidentální nález [5]. V souboru pacientů zařazených do registru GIST bylo symptomatických 68 % pacientů a hlavním projevem byly bolesti břicha (50 %) a krvácení z konečníku (46,4 %).

Prognóza GIST souvisí s velikostí, lokalizací a MI. Jak dokumentuje stratifikační tabulka Miettinen et al (tab. 1), při dané velikosti a MI mají GIST rekta 4–6× horší prognózu než GIST daných parametrů v žaludku [6].

Dle hodnocení dat z registru GIST spadaly GIST rekta velikostně nejčastěji do intervalu 2–5 cm (37,8 %). Téměř polovina GIST rekta měla vysoké riziko agresivního chování.

Základem diagnostiky GIST rekta je vyšetření per rectum, endoskopické vyšetření doplněné o endoskopickou ultrasonografií a vyšetření magnetickou rezonancí (magnetic resonance imaging – MRI). GIST vidíme jako solidní, dobře ohraničenou masu oválného tvaru rostoucí převážně submukózně (obr. 1, 2).

Pozitronová emisní tomografie s využitím fluorodeoxyglukózy dokáže odiferencovat aktivní tumor od nekrózy nebo inaktivní jizevnaté tkáně, což je užitečné zejména k hodnocení odpovědi na terapii TKI [9].

U GIST rekta je vyžadovaná bioptická verifikace. K potvrzení diagnózy GIST je užíván průkaz exprese receptorové tyrozinkinázy CD117 (KIT) [10]. Negativita tohoto proteinu však tuto diagnózu nevyklučuje a je až 5 % [11]. Genetické vyšetření prokazuje u GIST mutace v genech *KIT* a *PDGFRA*. Mutační analýza má prognostický význam ve vztahu k odpovědi těchto nádorů na léčbu TKI (např. GIST s mutací *PDGFRA D842V* je rezistentní na imatinib) [12].

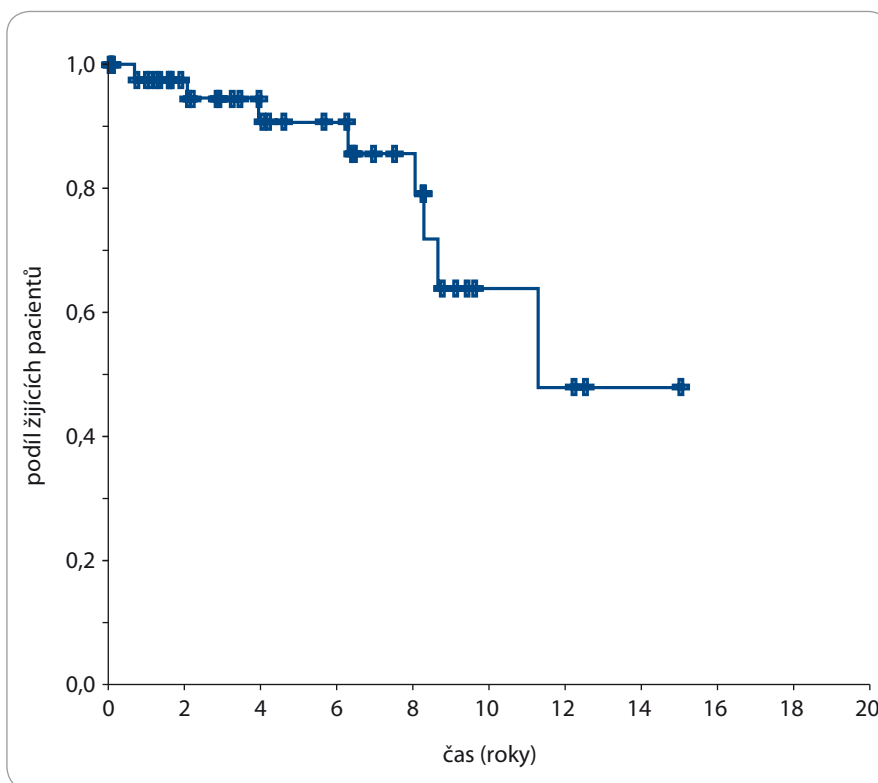
Dosažení optimálních terapeutických výsledků u pacientů s GIST vyžaduje individualizovaný a často multimodální přístup. Léčebná strategie by měla být stanovena na základě konsenzu mul-

tioborového týmu, ideálně v centrech zabývajících se touto problematikou.

V případě lokalizovaných, resektabilních tumorů je základem léčby chirurgická resekce. V závislosti na velikosti a lokalizaci tumoru v rektu volíme mezi lokální excizi, resekci rekta s anastomózou nebo abdominoperineální amputací s trvalou stomií [13]. U resekci rekta je trendem volit přístup miniinvazivní, tedy laparoskopický, robotický nebo transanální (transanal total mesorectal excision – TaTME). Ne vždy je ale tento přístup pro rozsah a uložení tumoru možný a je nutno přistoupit k operaci klasickým laparotomickým přístupem.

Lokální excize je doporučovaná pouze u menších tumorů do 5 cm. V tomto případě volíme nejčastěji transanální přístup. Používáme při tom speciální instrumentarium a metody jako transanální endoskopická mikrochirurgie (TEM) nebo transanální endoskopická operace (TEO) využívající tzv. operační rektoskop. Další použitelnou metodou je technika transanální minimálně invazivní chirurgie (TAMIS), tedy lokální excize prováděná pomocí laparoskopického instrumentária přes speciálně transanálně zavedený port [14–16].

V hodnocené sestavě pacientů podstoupilo operaci 82,2 % pacientů. Nejčastější lokální excize byla provedena v 37,8 %, resekce rekta s anastomózou v 32,4 % a abdominoperineálních amputací s trvalou stomií, tzv. Milesových operací bylo 29,7 %.



Graf 5. Přežití.
Přežití pacientů bylo hodnoceno metodikou dle Kaplana-Meiera.

Vzhledem k tomu, že GIST patří mezi křehké nádory, je u nich obzvláště příhodná „no touch“ technika operování. Případná ruptura nebo krvácení z nádoru je i při R0 resekci spojená s horší prognózou a s přihlédnutím k molekulárním charakteristikám je zvažována adjuvantní terapie TKI [17].

Metastazování GIST do lymfatických uzlin je vzácné, proto pokud nejsou uzliny makroskopicky postiženy, lymfadenektomii standardně neprovádíme. S tím souvisí také potřeba provádění mezorektálních excizi u rektálních resekci. V případě GIST rekta, na rozdíl od karcinomů, není z onkologického hlediska

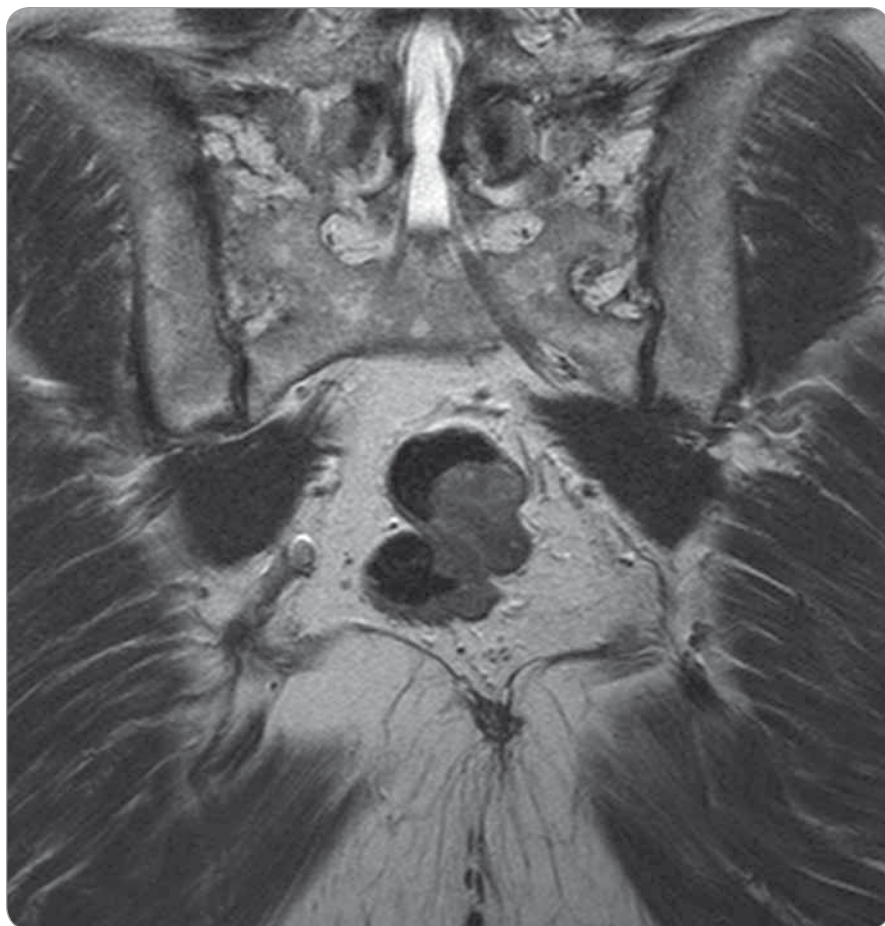
Tab. 1. Prognóza gastrointestinálních stromálních tumorů dle velikosti, lokalizace a mitotického indexu (upraveno dle Miittinen et al [6]).

Mitotický index	Max. rozměr (cm)	Žaludek	Duodenum	Jejunum ileum	Rektum
≤ 5	≤ 2	žádné	žádné	žádné	žádné
	2–5	velmi nízké (1,9 %)	nízké (8,3 %)	nízké (4,3 %)	nízké (8,5 %)
	5–10	nízké (3,6 %)	střední*	střední (24 %)	vysoké*
	> 10	střední (10 %)	vysoké (34 %)	vysoké (52 %)	vysoké (57 %)
≥ 5	≤ 2	žádné	střední*	vysoké *	vysoké (54 %)
	2–5	střední (16 %)	vysoké (50 %)	vysoké (73 %)	vysoké (52 %)
	5–10	vysoké (55 %)	vysoké *	vysoké (85 %)	vysoké*
	> 10	vysoké (86 %)	vysoké (86 %)	vysoké (90 %)	vysoké (71 %)

* insuficientní data



Obr. 1. CT vyšetření – gastrointestinální stromální tumor rekta.



Obr. 2. MRI vyšetření – gastrointestinální stromální tumor rekta.

diska mezorektální excize vyžadovaná, přesto je ale doporučovaná. Důvodem je snadnější kontrola a šetření presakrál-

ních nervových pletení, redukce krvácení, jakož i vyšší garance lokoregionální radikality [18].

V individuálních případech, po vzájemném konsenzu multioborového týmu, je možné také nasazení TKI v rámci neoadjuvantní léčby. Například u tumorů > 5 cm, v případě prorůstání do okolních orgánů nebo při infiltraci sfinkterů za účelem dosažení resekability a méně mutilujícího či kontinentního zákroku [13,19]. Výkon poté provádíme v době maximální odpovědi na TKI po 4–12 měsících léčby. Zatím nejsou dostupná dostatečná data, kolik dnů před operací zastavit podávání TKI, jako bezpečné se ale ukazuje i jen několik dnů [20,21].

V případě pozitivní resekční linie se můžeme pokusit o reresekci, resp. je indikovaná adjuvantní léčba TKI, kterou je doporučované nasadit také po resekcích GIST středního a vysokého rizika maligního chování. U metastatických a neresekabilních GIST rekta je metodou první volby léčba TKI [22]. Význam má poté také provedení metastazektomie nebo některé z ablačních metod [23].

V analyzovaném souboru byla systémová léčba podána u 73 % pacientů. Multimodálním a centralizovaným přístupem bylo dosaženo kompletní remise u 80 % pacientů s 5letým přežitím 90,6 %, což je délka odpovídající horní hranici délky přežívání v recentních zahraničních souborech pacientů s GIST rekta (64,6–91 %) [24–27].

Pacienty po resekci GIST s vysokým rizikem sledujeme v průběhu adjuvantní terapie abdominálním CT/MRI a rektoskopií každých 3–6 měsíců po dobu 3 let (tedy po dobu adjuvance). V následujících 5 letech je doporučováno kontrolní CT/MRI a rektoskopie po 6 měsících a poté 1× ročně v průběhu dalších 5 let. U pacientů po resekci GIST s nízkým rizikem je poté vhodné provedení CT/MRI a rektoskopie každých 6–12 měsíců po dobu 5 let [22].

Závěr

GIST rekta je vzácný nádor s maligním potenciálem. Riziko jeho maligního chování souvisí s velikostí a MI. Obecně jsou GIST rekta považované za rizikovější než GIST v oblasti žaludku nebo duodena. V případě lokalizovaných, resekabilních tumorů je základem léčby chirurgická R0 resekce. Vzhledem k vzácnému

metastazování do lymfatických uzlin je možno „onkologicky bezpečně“ prováďet také lokální excize. Ruptura tumoru je i při R0 resekci spojená s horší prognózou. Při podezření na GIST je vhodné směřovat pacienti do center zabývajících se touto problematikou. Toto tvrzení podporuje i analýza dat národního registru GIST, do kterého přispívají svými daty centra pro léčbu GIST a je zde dosahováno přežívání na horní hranici délky přežití ve srovnání se zahraničními soubory.

Literatura

- Brabec P, Šufliarský J, Linke Z et al. A whole population study of gastrointestinal stromal tumors in the Czech Republic and Slovakia. *Neoplasma* 2009; 56(5): 459–464.
- Kawanowa K, Sakuma Y, Sakurai S et al. High incidence of microscopic gastrointestinal stromal tumors in the stomach. *Hum Pathol* 2006; 37(12): 1527–1535. doi: 10.1016/j.humpath.2006.07.002.
- Miettinen M, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors – definition, clinical, histological, immunohistochemical, and molecular genetic features and differential diagnosis. *Virchows Arch* 2001; 438(1): 1–12.
- Sircar K, Hewlett BR, Huizinga JD et al. Interstitial cells of Cajal as precursors of gastrointestinal stromal tumors. *Am J Surg Pathol* 1999; 23(4): 377–389.
- Nilsson B, Bümming P, Meis-Kindblom JM et al. Gastrointestinal stromal tumors: the incidence, prevalence, clinical course, and prognostication in the preimatinib mesylate era—a population-based study in western Sweden. *Cancer* 2005; 103(4): 821–829. doi: 10.1002/cncr.20862.
- Miettinen M, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors: pathology and prognosis at different sites. *Semin Diagn Pathol* 2006; 23(2): 70–83.
- Jurečková A, Kocáková I, Vyzula R. Klinický registr GIST. *Klin onkol* 2012; 25(2): 135–138.
- Onkologickeregistry.cz. [online]. GIST: O projektu. Dostupné z: <http://gist.registry.cz/index.php>.
- Choi H, Charnsangavej C, Faria SC et al. Correlation of computed tomography and positron emission tomography in patients with metastatic gastrointestinal stromal tumor treated at a single institution with imatinib mesylate: proposal of new computed tomography response criteria. *J Clin Oncol* 2007; 25(13): 1753–1759. doi: 10.1200/JCO.2006.07.3049.
- Rubin BP, Blanke CD, Demetri GD et al. Protocol for the examination of specimens from patients with gastrointestinal stromal tumor. *Arch Pathol Lab Med* 2010; 134(2): 165–170. doi: 10.1043/1543-2165-134.2.165.
- Debiec-Rychter M, Wasag B, Stul M et al. Gastrointestinal stromal tumours (GISTs) negative for KIT (CD117 antigen) immunoreactivity. *J Pathol* 2004; 202(4): 430–438. doi: 10.1002/path.1546.
- Debiec-Rychter M, Sciort R, Le Cesne A et al. KIT mutations and dose selection for imatinib in patients with advanced gastrointestinal stromal tumours. *Eur J Cancer* 2006; 42(8): 1093–1103. doi: 10.1016/j.ejca.2006.01.030.
- Nahas CS, Nahas SC, Marques CF et al. Gastrointestinal stromal tumor of the rectum treated with neoadjuvant Imatinib followed by transanal endoscopic microsurgery. *Arq Bras Cir Dig* 2015; 28(1): 87–89. doi: 10.1590/S0102-67202015000100022.
- Liu H, Yan Z, Liao G et al. Treatment strategy of rectal gastrointestinal stromal tumor (GIST). *J Surg Oncol* 2014; 109(7): 708–713. doi: 10.1002/jso.23562.
- Kala Z, Procházková V, Grolich T et al. Moderní trendy v chirurgii kolorektálního karcinomu aneb co by měl onkolog vědět o práci chirurga. *Onkologie* 2017; 11(2): 54–60.
- Kunovský L, Kala Z, Svatoň R et al. Transanální minimálně invazivní resekce rekta s totalní mezorektální excizí po endoskopické mukózní resekci. *Gastroent Hepatol* 2017; 71(3): 208–214. doi:10.14735/amgh2017208.
- Hohenberger P, Ronellenfitsch U, Oladeji O et al. Pattern of recurrence in patients with ruptured primary gastrointestinal stromal tumour. *Br J Surg* 2010; 97(12): 1854–1859. doi: 10.1002/bjs.7222.
- Grassi N, Cipolla C, Torcivia A et al. Gastrointestinal stromal tumour of the rectum: report of a case and review of literature. *World J Gastroenterol* 2008; 14(8): 1302–1304.
- Jakob J, Mussi C, Ronellenfitsch U et al. Gastrointestinal stromal tumor of the rectum: results of surgical and multimodality therapy in the era of imatinib. *Ann Surg Oncol* 2013; 20(2): 586–592. doi: 10.1245/s10434-012-2647-1.
- Fiore M, Palassini E, Fumagalli E et al. Preoperative imatinib mesylate for unresectable or locally advanced primary gastrointestinal stromal tumors (GIST). *Eur J Surg Oncol* 2009; 35(7): 739–745. doi: 10.1016/j.ejso.2008.11.005.
- Hasegawa J, Kanda T, Hirota S et al. Surgical interventions for focal progression of advanced gastrointestinal stromal tumors during imatinib therapy. *Int J Clin Oncol* 2007; 12(3): 212–217. doi: 10.1007/s10147-007-0657-y.
- Casali PG, Abecassis N, Bauer S et al. Gastrointestinal stromal tumours: ESMO-EURACAN clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2018; 29 (Suppl 4): iv68–iv78. doi: 10.1093/annonc/mdy095.
- Avritscher R, Gupta S. Gastrointestinal stromal tumor: role of interventional radiology in diagnosis and treatment. *Hematol Oncol Clin North Am* 2009; 23(1): 129–137. doi: 10.1016/j.hoc.2008.11.002.
- Wu X, Jiang W, Zhang R et al. Clinicopathological analysis of 61 patients with rectal gastrointestinal stromal tumors. *Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi* 2014; 17(4): 335–339.
- Shen C, Chen H, Yin R et al. Clinicopathologic, surgical characteristics and survival outcomes of rectal gastrointestinal stromal tumors. *Neoplasma* 2015; 62(4): 610–617. doi: 10.4149/neo_2015_073.
- Pai VD, Demenezes JL, Patil PS et al. Multimodality therapy of rectal gastrointestinal stromal tumors in the era of imatinib—an Indian series. *J Gastrointest Oncol* 2016; 7(2): 262–268. doi: 10.3978/j.issn.2078-6891.2015.088.
- Cavnar MJ, Wang L, Balachandran VP et al. Rectal gastrointestinal stromal tumor (GIST) in the era of imatinib: organ preservation and improved oncologic outcome. *Ann Surg Oncol* 2017; 24(13): 3972–3980. doi: 10.1245/s10434-017-6087-9.

Gorlinov-Goltzov syndróm

Gorlin-Goltz syndrome

Bartoš V.¹, Kullová M.², Adamicová K.³, Paučinová I.⁴

¹ Oddelenie patologickej anatómie, FNŠP Žilina

² Dermatovenerologický stacionár, FNŠP Žilina

³ Ústav patologickej anatómie, JLF UK a UN Martin

⁴ Oddelenie lekárskej genetiky, FNŠP Žilina

Súhrn

Východiská: Gorlinov-Goltzov syndróm je autozómovo dominantne dedičné ochorenie charakteristické predispozíciou k rôznym typom nádorov. Klinicko-patologické nálezy syndrómu sú veľmi pestré, pričom mnohé symptómy sa začínajú prejavovať až v určitom období života.

Prípad: Autori opisujú prípad muža, ktorý sa vo veku 34 rokov dostavil na dermatologické vyšetrenie s mnohopočetnými tumoróznymi léziami kože. Ich vývoj začal pozorovať približne od 30. roku života a odvtedy sa ich počet zvyšoval. Histologicky išlo o bazocelulárne karcinómy superficiálneho, superficiálno-nodulárneho a nodulárneho typu. Celkovo mal chirurgicky odstránených a mikroskopicky vyšetrených 11 primárnych bazocelulárnych karcinómov. Ostatné boli liečené lokálne imiquimodom a kryoterapiou. Okrem toho mal z čeluste a sánky exstirpované viacpočetné odontogénne keratocysty a extrahované retinované a nadpočetné zuby. Ďalšie klinické a zobrazovacie vyšetrenia potvrdili makrocefáliu, hypertelorizmus, kalcifikáciu falx cerebri a abnormality krčných stavcov. Spektrum chorobných zmien spĺňalo diagnostické kritériá Gorlinovho-Goltzovho syndrómu. **Záver:** Hoci je Gorlinov-Goltzov syndróm v bežnej praxi veľmi zriedkavý, väčšinou predstavuje závažnú chorobnú jednotku s multiorgánovým postihnutím. Z prognostického hľadiska je kľúčová jeho včasná diagnostika a zahájenie adekvátnej terapie. V prípade potvrdenia diagnózy je nevyhnutná celoživotná dispenzarizácia pacienta s medziodborovou lekárskou spoluprácou.

Kľúčové slová

Gorlinov-Goltzov syndróm – bazocelulárny karcinóm – odontogénne cysty

Summary

Background: Gorlin-Goltz syndrome is an autosomal dominant inherited disorder characterized by a predisposition to various cancers. Clinicopathological findings of syndrome are very diverse and many symptoms begin to manifest in a certain period of life. **Case:** The authors describe a case report of a man who, at the age of 34 years, presented to a dermatologist with multiple tumor lesions of the skin. The lesions started to develop when he was 30 years old and thereafter increased in number. Histology revealed superficial, superficial-nodular and nodular basal cell carcinomas. A total of 11 basal cell carcinomas were surgically removed and microscopically investigated. The others were treated locally with imiquimod cream and cryotherapy. In addition, he was found to have multiple odontogenic keratocysts in the jaw and mandible, as well as supernumerary and retinated teeth. Stomatologic and maxillofacial surgery interventions were performed. Further clinical and imaging examinations confirmed macrocephaly, hypertelorism, calcification of falx cerebri, and abnormalities of the cervical vertebrae. The spectrum of pathological findings met the diagnostic criteria of Gorlin-Goltz syndrome. **Conclusion:** Although Gorlin-Goltz syndrome is very rare in routine practice, it usually represents a serious disease with multiple organ system involvement. From a prognostic point of view, early diagnosis with adequate therapy is critical. If a diagnosis is confirmed, lifetime dispensary care with interdisciplinary medical cooperation is necessary.

Key words

Gorlin-Goltz syndrome – basal cell carcinoma – odontogenic cysts

Autori ďakujú všetkým lekárom, ktorí sa podieľali na diagnosticko-terapeutickom procese prezentovaného pacienta.

The authors would like to thank all physicians who participated in the diagnostics and therapy of the presented patient.

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., PhDr. Vladimír Bartoš,
PhD., MPH

Oddelenie patologickej anatómie
Fakultná nemocnica s poliklinikou
Žilina

Vojtecha Spanyola 43

012 07 Žilina

e-mail: vladim.bartos@gmail.com

Obdržané/Submitted: 30. 8. 2018

Prijaté/Accepted: 8. 1. 2019

doi: 10.14735/amko2019124

Úvod

Gorlinov-Goltzov syndróm (G-G syndróm), nazývaný aj syndróm névoidných bazocelulárnych karcinómov (basal cell carcinoma – BCC), je autozómovo dominantne dedičné ochorenie charakteristické predispozíciou k rôznym typom nádorov [1–3]. Zapríčinený je mutáciami tumor supresorového génu *PTCH1* (lokalizovaný na chromozóme 9q22.3-q31), ktorý kóduje transmembránový glykoproteín fungujúci ako antagonist Hedgehog signálnej dráhy [1]. V 20–30 % prípadov ide o *de novo* mutácie [1]. Okrem toho bol opísaný aj ďalší predisponujúci gén *SUFU* [1]. Ako samostatnú jednotku ho prvýkrát definovali v roku 1960 patológ a genetik Robert J. Gorlin a dermatopatológ Robert W. Goltz [4], podľa ktorých je pomenovaný. Z klinických príznakov syndrómu kladli pôvodne dôraz na mnohopočetné BCC (epiteliómy), keratocysty čeluste a anomálie rebier. V súčasnosti je známe, že spektrum klinicko-patologických náleзов je pri tomto ochorení omnoho pestrejšie. Z doposiaľ zaužívaných diagnostických kritérií pre G-G syndróm sú považované za najrelevantnejšie kritériá navrhnuté Kimonisom et al [5] z roku 1997. Táto schéma zahrňuje šesť veľkých a šesť malých diagnostických znakov (tab. 1). Na potvrdenie G-G syndrómu sa vyžaduje prítomnosť dvoch veľkých, alebo jedného veľkého a dvoch malých diagnostických kritérií. V časopise Kli-

nická onkologie bolo doteraz publikovaných niekoľko prehľadových prác, ktoré opisujú, resp. sa zmieňujú o G-G syndróme [1–3]. Žiadna z nich však neuvádza vlastný prípad z praxe. Preto sme sa rozhodli prezentovať kazuistiku mladého muža s týmto zriedkavým ochorením, ktorého sme diagnostikovali a liečili na našich pracoviskách.

Kazuistika

Muž vo veku 34 rokov (fototyp III) bol začiatkom roka 2013 prijatý na dermatologické oddelenie FNŠP v Žiline s mnohopočetnými tumoróznymi léziami kože. Ich vývoj začal pozorovať približne od 30. roku života a odvtedy sa ich počet zvyšoval. Pri vstupnom dermatologickom

Tab. 1. Diagnostické kritériá Gorlinov-Goltzova syndrómu podľa Kimonisa et al [5].

Veľké kritériá

> 2 bazocelulárne karcinómy, alebo 1 bazocelulárny karcinóm vo veku < 20 rokov

odontogénne cysty čeluste, potvrdené histologicky

palmárne alebo plantárne jamky (≥ 3)

bilamelárna kalcifikácia falx cerebri

anomálie rebier (zdvojené, zrastené alebo výrazne rozšírené)

Gorlinov-Goltzov syndróm u príbuzných stupňa 1

Malé kritériá

makrocefália

rôzne vrodené malformácie – rásť pery alebo podnebia, prominencia čelovej kosti, hypertelorizmus

iné anomálie kostry – Sprengelova deformita, deformácie hrudníka, syndaktylia prstov

rádiologické abnormality – premosťenie sella turcica, rôzne anomálie stavcov, defekty kostí na rukách a na nohách

fibrómy vaječníkov

meduloblastóm



Obr. 1. Pohľad na hornú časť chrbáta s viacpočetnými bazocelulárnymi karcinómami kože.



Obr. 2. Pohľad na dolnú časť chrbáta s viacpočetnými bazocelulárnymi karcinómami kože.



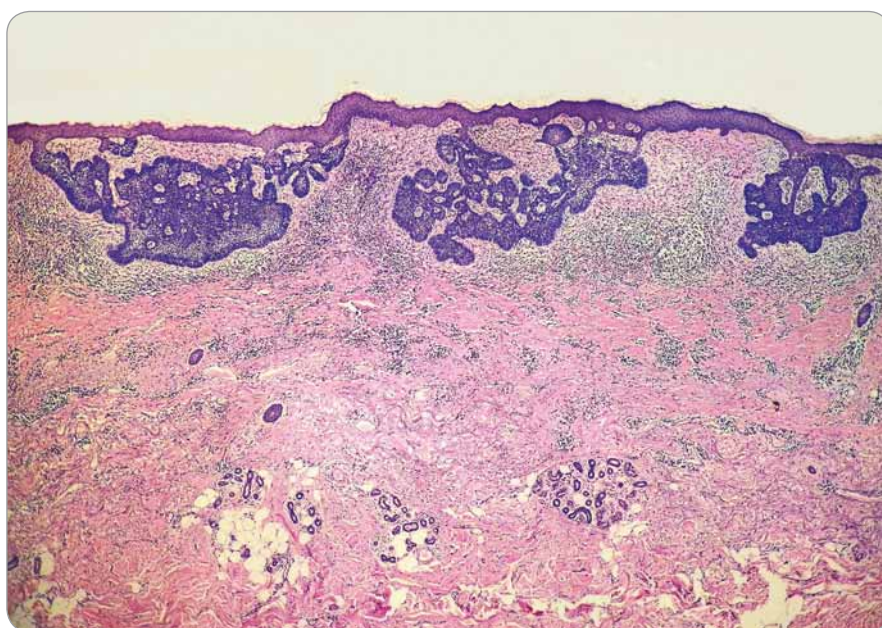
Obr. 3. Pohľad na hrudník a prednú časť tela s viacpočetnými bazocelulárnymi karcinómami kože.



Obr. 4. Detail na ulcerovaný bazocelulárny karcinóm kože v parietálnej oblasti.

vyšetrení dominoval nález početných, prevažne ohraničených erytematóznych papúl a nodulov, ktoré sa vyskytovali najmä na chrbáte, pleciach a pažiach, menej na hlave a krku (obr. 1–3). Niektoré boli ulcerované s adherovanou krustou na povrchu. Klinicky a dermatoskopicky imponovali ako BCC. Palmárne a plantárne jamky neboli viditeľné, ale na dlani ľavej ruky sa vyskytoval drobný hyperkeratotický čap a na ploske ľavej nohy dve malé hyperkeratotické ložiská. V prvom slede boli chirurgicky excidované tumory lokalizované v lumbálnej oblasti vľavo, na pravej lopatke, na pravom pleci a na ľavej strane krku. Histologické vyšetrenie vo všetkých prípadoch potvrdilo BCC superficiálneho alebo superficiálno-nodulárneho typu. Postupne boli excidované aj ďalšie tumory vyrastajúce na chrbáte, na ramene, na čele a v parietálnej oblasti hlavy (obr. 4). Celkovo mal extirpovaných a mikroskopicky vyšetrených 11 samostatných primárnych BCC, ktoré pozostávali zo superficiálneho (obr. 5), zmiešaného superficiálno-nodulárneho a nodulárneho typu (obr. 6). Ani v jednom prípade nemali histologicky infiltratívny rastový charakter a okolitá koža nevykazovala známky solárnej degenerácie.

Okrem uvedených dermatologických ťažkostí sa pacient sťažoval aj na bolesti

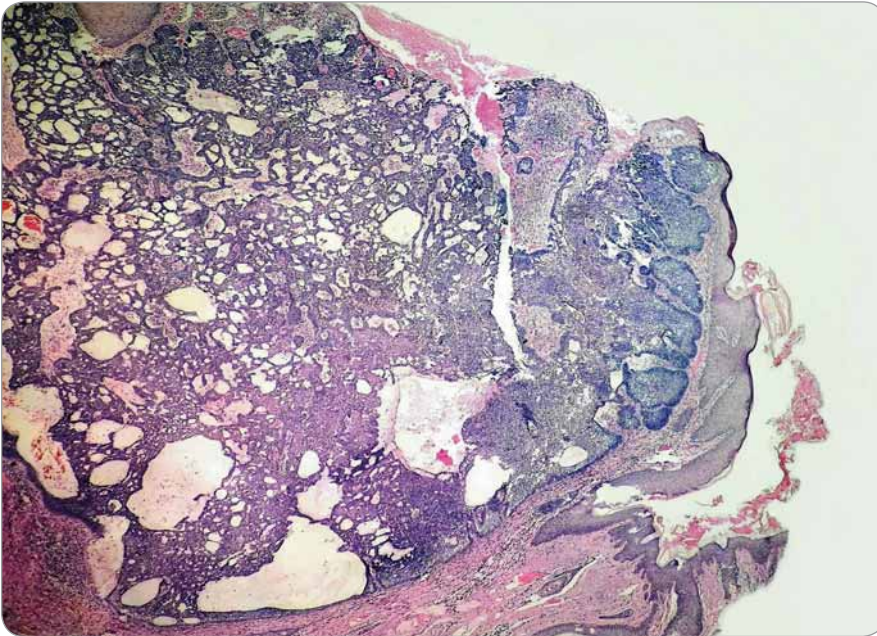


Obr. 5. Histologický obraz superficiálneho bazocelulárneho karcinómu. (Hematoxylín a eozín, zväčšenie 40x.)

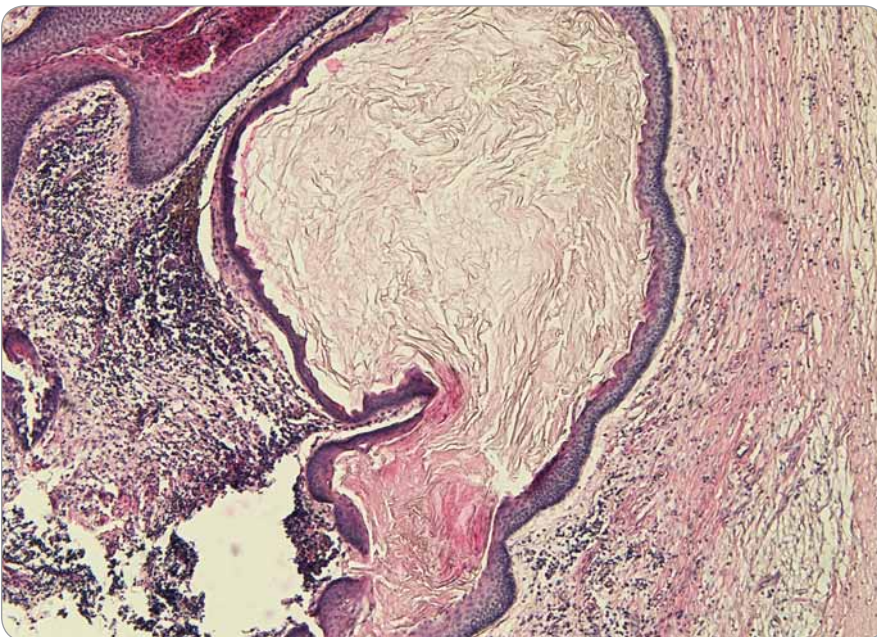
prednej časti tváre, pre ktoré absolvoval vyšetrenie na Klinike stomatológie a maxilofaciálnej chirurgie Jesseniovej lekárskej fakulty Univerzity Komenského a Univerzitnej nemocnice Martin. Röntgenové (RTG) vyšetrenie zobrazilo v maxile aj mandibule viacpočetné rôzne veľké cystické útvary, ktoré boli resekované. Histologicky išlo o odontogénne a epidermoidné cysty vyplnených keratí-

novým obsahom, ktorých výstelku tvoril vrstevnatý dlaždicový epitel bez dysplázie (obr. 7). Pacient mal zároveň extrahované retinované a nadpočetné zuby 18, 19, 28, 29, 38 a koreň zuba 54.

Vzhľadom na veľmi suspektné syndromologické ochorenie bol pacient odoslaný na konzultáciu do genetickej ambulancie a absolvoval ďalšie ciele vyšetrenia. Rodinná anamnéza bola ne-



Obr. 6. Histologický obraz nodulárneho bazocelulárneho karcinómu.
(Hematoxylín a eozín, zväčšenie 40x.)



Obr. 7. Histologický obraz odontogénnej epidermoidnej cysty.
(Hematoxylín a eozín, zväčšenie 60x.)

gatívna a v rodokmeni sa nepotvrdil výskyt klasických monogénových ochorení, vrodených vývojových chýb či reprodukčných strát. Somatické vyšetrenie pacienta potvrdilo robustný habitus s makrocefáliou (obvod hlavy 63 cm) a miernym hypertelorizmom, a klindaktýliu 4. a 5. prsta na obidvoch rukách. Kostra bola súmerná, tvár bez dysmorfie.

RTG vyšetrenie hlavy a chrbtice zobrazilo makrocefalickú lebku s výraznou maxilárnou a etmoidálnou pneumatizáciou, vysoko postavenú masívnu sánku s cystickými prejasneniami, lamelárne kalcifikovaný falx cerebri a lakunárne výpadky kalcifikácie v parietálnej oblasti. Na krčnej chrbtici bola viditeľná synostóza stavcov C3 a C4 v oblasti trňových

výbežkov s parciálne zaniknutou medzistavcovou štrbinou.

Pacient mal odobratú krv na molekulárno-genetické vyšetrenie. V analyzovanej DNA sa v géne *PTCH1* metódou priameho sekvenovania jednotlivých exónov a príslušných oblastí nedetekovala žiadna dovtedy známa patogénna kauzálna mutácia. Taktiež neboli metódou MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) potvrdené delécie alebo duplikácie génu *PTCH1*. V géne *PTCH1* sa však zistil variant rs141085821:c.-5-4dupGGC, ktorý je podľa prediktívneho algoritmu (Mutation Taster) považovaný za potenciálne kauzálny variant.

Bez ohľadu na výsledky genetického vyšetrenia však bola v našom prípade klinická diagnóza G-G syndrómu jednoznačná a podporená nálezom troch veľkých (mnohopočetné BCC kože, odontogénne keratocysty, kalcifikácia falx cerebri) a troch malých (makrocefália, hypertelorizmus, anomálie stavcov) diagnostických kritérií. Pacient bol poučený o charaktere ochorenia a jeho dedičnosti, ako aj o nutnosti komplexnej dispenzárnej starostlivosti. Zdôraznená mu bola ochrana pred solárnym a RTG žiarením.

V rokoch 2013–2016 pravidelne absolvoval vyšetrenia u kožného lekára. Ďalšie tumorózne lézie kože vzhľadom BCC dermatológ liečil lokálnou aplikáciou imiquimodu (Aldara) a kryoterapiou. Počas tohto obdobia mal pacient vyšetrením nukleárnou magnetickou rezonanciou opäť potvrdené recidivujúce cystické lézie v mandibule, ako aj cystu v pravom maxilárnom sínuse, ktorá zapríčiňovala sťažené dýchanie cez pravý nosový priechod. Vyšetrenie hlavy nukleárnou magnetickou rezonanciou navyše zobrazilo ložisko nešpecifickej gliózy mozgu v paraventriculárnej oblasti, ktoré však ostalo v ďalšom sledovaní bez známok progresie a nevyžadovalo neurochirurgickú intervenciu. V období spracovania tohto príspevku (august 2018) nám aktuálny zdravotný stav pacienta nebol známy, nakoľko od novembra 2016 nemal v elektronickom databázovom systéme našej nemocnice evidované žiadne nové lekárske záznamy.

Diskusia

G-G syndróm je multisystémové dedičné ochorenie s takmer úplnou penetranciou a variabilnou expresivitou [3,6,7]. Keďže jeho klinické prejavy sú veľmi pestré a mnohé vznikajú, resp. dominujú až v určitom období života, odhaliť sa môže prakticky v každom veku. V jednej štúdií analyzujúcej 105 pacientov s G-G syndrómom [5] variovalo vekové rozpätie v čase stanovenia diagnózy od 4 mesiacov do 87 rokov. Ochorenie sa niekedy prejavuje už po narodení makrocefáliou, rázštepmi pery či podnebia, anomáliami rebier alebo inými malformáciami skeletu [5]. Okolo druhého roka života má viac ako 5 % detí diagnostikovaný zhubný nádor mozočka – meduloblastóm [1–3]. Až u 90 % osôb vznikajú do 40. roku života odontogénne keratocysty (keratocystický odontogénny tumor) čeluste [2,3] ktoré sú často prvým klinickým príznakom dovtedy nerozpoznaného ochorenia [7]. Hoci ide o benígne cystické lézie, zvyčajne sa správajú agresívne, rastú lokálne deštruktívne a recidivujú. Mnohokrát si vyžadujú opakované stomatochirurgické intervencie. Takmer u všetkých pacientov s G-G syndrómom vznikajú v priebehu života BCC kože, ktoré sú jeho typickým príznakom. Progredovať začínajú od 3. dekády a ich počet sa zvyšuje bez ohľadu na mieru expozície slnečnému žiareniu. Do 20. roku života má BCC kože približne 75 % a vo veku 40 rokov až 90 % osôb s G-G syndrómom [1,3]. Druhým charakteristickým kožným prejavom sú viacpočetné malé kožné jamky na dlaniach a ploskách nôh. Ďalším významným patologickým nálezom je kalcifikácia falx cerebri, ktorá sa odhalí len zobrazovacím vyšetrením. Približne u štvrtiny postihnutých žien vznikajú vo fertilnom veku fibrózy vaječníkov [3].

Hoci je spektrum klinicko-patologických nálezov pri G-G syndróme veľmi rôznorodé, mnohé z nich nie sú konštantné, v dôsledku čoho je manifestácia a tým aj prognóza ochorenia u pacientov individuálna. V tab. 2 uvádzame prehľad percentuálneho zastúpenia základných diagnostických znakov u osôb postihnutých G-G syndrómom, ktoré sme získali z troch pôvodných štúdií z USA [5],

Tab. 2. Percentuálne zastúpenie vybraných klinických znakov u pacientov s Gorlinom-Goltzovom syndrómom v štúdií z USA, Japonska a Austrálie.

	USA [5]	Japonsko [8]	Austrália [9]
Počet pacientov	105	157	118
Bazocelulárne karcinómy	78,9 % belosi 38,4 % černosi	37,8 %	75 %
Odontogénne keratocysty	74 %	86,3 %	75 %
Palmárne a/alebo plantárne jamky	87 %	69,2 %	80 %
Kalcifikácia falx cerebri	65 %	79,4 %	92 %
Anomálie rebier	26 %	36,4 %	45 %
Anomálie stavcov	25 %	15,1 %	35 %
Makrocefália	50 %	26,5 %	80 %
Hypertelorizmus	42 %	68,8 %	6 %

Japonska [8] a Austrálie [9]. Viditeľné sú odlišnosti vo frekvencii niektorých nálezov, pričom zjavné rozdiely sú najmä vo výskyte BCC kože. Zatiaľ čo min. jeden BCC sa u Austráľčanov a Američanov svetlej pleti vyskytoval v 75–78,9 % prípadov, u Japoncov a amerických černochoch to bolo len v 37,8–38,4 % prípadov. Tieto výsledky napovedajú, že výskyt BCC kože pri G-G syndróme závisí aj od etnicity a/alebo individuálneho genetického pozadia jednotlivcov. Fenotypová rôznorodosť sa dá vysvetliť expresiou rozdielnych (a v mnohých prípadoch zatiaľ neobjasnených) mutácií génu *PTCH*, ako aj vplyvu environmentálnych faktorov a iných modifikovaných génov. Veľmi nekonzistentné údaje sú aj ohľadom samotnej prevalencie G-G syndrómu. Napríklad v Spojenom kráľovstve je odhadovaná prevalencia 1 prípad na 30 827 obyvateľov [10], ale v japonskej populácii iba 1 prípad na 235 800 obyvateľov [8]. Keďže klinické prejavy G-G syndrómu závisia aj od veku a pri ľahších formách ochorenia môžu ostať dlho nerozpoznané, niektorí autori polemizujú [6,7], či nie je reálne poddiagnostikovaný a jeho skutočná prevalencia môže byť omnoho vyššia.

Záver

V našom príspevku sme sa snažili poukázať, že hoci je G-G syndróm v bežnej praxi veľmi zriedkavý, väčšinou predstavuje závažnú chorobnú jednotku s mul-

tiorgánovým postihnutím. Z prognostického hľadiska je kľúčová jeho včasná diagnostika a zahájenie adekvátnej terapie. V prípade potvrdenia diagnózy je nevyhnutná celoživotná dispenzarizácia pacienta s medziodborovou lekárskou spolupracou.

Literatúra

1. Krutilková V. Genetické syndromy predisponujúci k detským nádorom centrálného nervového systému. *Klin Onkol* 2016; 29 (Suppl 1): S71–S77. doi: 10.14735/amko2016571.
2. Plevová P, Krutilková V, Puchmajerová A et al. Gorlinův syndrom. *Klin Onkol* 2009; 22 (Suppl 1): S34–S35.
3. Plevová P, Silhanová E, Foretová L et al. Vzácné hereditární syndromy s vyšším rizikem vzniku nádorů. *Klin Onkol* 2006; 19 (Suppl 1): S68–S75.
4. Gorlin RJ, Goltz RW. Multiple nevoid basal-cell epithelioma, jaw cysts and bifid rib. A syndrome. *N Eng J Med* 1960; 262: 908–912. doi:10.1056/NEJM196005052621803.
5. Kimonis VE, Goldstein AM, Pastakia B et al. Clinical manifestations in 105 persons with nevoid basal cell carcinoma syndrome. *Am J Med Genet* 1997; 69(3): 299–308.
6. Thomas N, Vinod SV, George A et al. Gorlin–Goltz syndrome: an often missed diagnosis. *Ann Maxillofac Surg* 2016; 6(1): 120–124. doi: 10.4103/2231-0746.186148.
7. Visioli F, Martins CA, Heitz C et al. Is nevoid basal cell carcinoma syndrome really so rare? Proposal for an investigative protocol based on a case series. *J Oral Maxillofac Surg* 2010; 68(4): 903–908. doi: 10.1016/j.joms.2009.03.032.
8. Endo M, Fujii K, Sugita K et al. Nationwide survey of nevoid basal cell carcinoma syndrome in Japan revealing the low frequency of basal cell carcinoma. *Am J Med Genet A* 2012; 158A(2): 351–357. doi: 10.1002/ajmg.a.34421.
9. Shanley S, Ratcliffe J, Hockey A et al. Nevoid basal cell carcinoma syndrome: review of 118 affected individuals. *Am J Med Genet* 1994; 50(3): 282–290. doi:10.1002/ajmg.1320500312.
10. Evans DG, Howard E, Giblin C et al. Birth incidence and prevalence of tumor-prone syndromes: estimates from a UK family genetic service. *Am J Med Genet A* 2010; 152A(2): 327–332. doi:10.1002/ajmg.a.33139.

Clinical Management and Outcome in Extreme Retroperitoneal Growing Teratoma Syndrome of Testicular Origin – Clinical Management and Effect of the Treatment

Extrémny prípad syndrómu rastúceho teratómu retroperitonea testikulárneho pôvodu – klinický management a efekt liečby

Hulova S.^{1,2}, Aziri R.³, Chovanec M.², Mardiak J.², Mego M.², Pindak D.³

¹ Department of Oncology, Central Military Hospital SNP Ruzomberok, Slovak Republic

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

³ Department of Surgical Oncology, Slovak Medical University, National Cancer Institute, Bratislava, Slovak Republic

Summary

Background: Growing teratoma syndrome (GTS) is an uncommon clinical finding in patients treated for testicular cancer. It is diagnosed during or after chemotherapy as an expanding tumour mass not responding to the treatment while the serum tumour markers are within the normal range. Pathological evaluation of resected tissue confirms the structures of benign mature teratoma. **Case:** Authors report a case of metastatic germ cell testicular cancer treated with 2 lines of chemotherapy and everolimus, that had finally been subjected for the resection of voluminous metastatic masses. We give a brief overview of current records concerning clinical management of GTS, and support the major role of surgical treatment in GTS. **Results:** Patient with metastatic mixed germ cell tumour of testis underwent a radical orchiectomy and completed the 1st line treatment with BEP (bleomycin, etoposide, cisplatin) regimen. Radiographic restaging showed considerable disease progression to the retroperitoneum and supraclavicular lymph nodes. Second-line treatment with VIP (etoposide, ifosfamide, cisplatin) did not reverse the progression and the patient was consulted at our institute. Following the enrolment to the clinical study with everolimus, the patient exhibited continual metastatic growth in contrast to serum markers decrease. GTS was confirmed after resection of enormous retroperitoneal tumour mass, as well as from the specimen obtained from the subsequent supraclavicular and hepatal metastasectomy. The patient attained complete remission and has been closely observed over the last 31 months since the last surgery. **Conclusion:** GTS is resistant to chemotherapy and radiation and complete surgical resection results in excellent disease control. Clinicians should be aware of this infrequent presentation of testicular tumours, to ensure the timely diagnosis and the appropriate surgical removal without any delay. Despite the great extent and vital vasculature encasement, surgery may be feasible and successful, as we report in our case, consistently with the published data.

Key words

testicular neoplasms – teratoma – surgery – prognosis

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. Soňa Hulová

2nd Department of Oncology

Faculty of Medicine

Comenius University

National Cancer Institute

Klenova 1

833 10 Bratislava

Slovak Republic

e-mail: misomego@gmail.com

Submitted/Obdržané: 25. 11. 2018

Accepted/Prijaté: 8. 1. 2019

doi: 10.14735/amko2019129

Súhrn

Východiská: Syndróm rastúceho teratómu (growing teratoma syndrome – GTS) je zriedkavým klinickým nálezom u pacientov liečených pre nádory semenníkov. Zvyčajne sa diagnostikuje počas chemoterapie alebo po jej absolvovaní ako expandujúca tumorózna masa neodpovedajúca na systémovú liečbu, zatiaľ čo onkomarkery v sére nestúpajú do patologických hodnôt. V prípade resekcie tumoróznej masy histologické vyšetrenie preukáže prítomnosť štruktúr benígneho zrelého teratómu. **Prípad:** Autori prezentujú prípad pacienta s metastatickým germinatívnym testikulárnym nádorom liečeného 2 líniami chemoterapie a everolimu predtým, než bol indikovaný na resekciu objemnej metastatickej masy v retroperitoneu. Článok obsahuje stručný prehľad súčasných poznatkov týkajúcich sa managementu GTS, ktorý podporuje hlavnú úlohu chirurgickej intervencie v procese jeho liečby. **Výsledky:** Pacient s metastatickým zmiešaným germinatívnym testikulárnym nádorom podstúpil radikálnu orchiektómiu a 1. líniu systémovej liečby režimom BEP (bleomycín, etopozid, cisplatina). Radiologický restaging ukázal značnú progresiu ochorenia v oblasti retroperitonea a supraklavikulárnych lymfatických uzlín. Druhá línia chemoterapie VIP (etopozid, ifosfamid, cisplatina) nezvrátila priebeh choroby a pacient bol konzultovaný na našom pracovisku. Po splnení kritérií bol zaradený do klinickej štúdie s everolimom, počas ktorej však pokračoval metastatický rozsev, kým onkomarkery paradoxne klesali. Podozrenie na GTS bolo potvrdené histologicky z resekátu retroperitoneálnej tumoróznej masy, rovnako ako zo vzoriek získaných pri následnej supraklavikulárnej a hepatálnej metastazektómii. Pacient dosiahol úplnú remisiu ochorenia a ostáva v sledovaní aj 34 mesiacov od posledného zo série chirurgických výkonov. **Záver:** GTS neodpovedá na chemoterapiu ani radioterapiu a chirurgická liečba vedie k excelentnej kontrole ochorenia. Zvýšenie povedomia odborníkov o tejto nie častej prezentácii nádorov semenníkov môže zaručiť včasnú diagnózu a adekvátnu chirurgickú intervenciu bez oneskorenia. Resekčný výkon je možný aj v prípade značne rozsiahleho nálezu a zavzatia vitálnej vaskulatúry a je výkonom kuratívnym, ako dokazuje náš prípad v súlade s už publikovanými údajmi.

Kľúčové slová

nádory semenníkov – teratóm – chirurgická liečba – prognóza

Introduction

The growing teratoma syndrome (GTS) was first described in 1982 as a clinical finding among the patients with non-seminomatous germ cell tumour (GCT) treated with defined cytostatic therapy, who exhibited a massive metastatic growth in contrast to the decline of serum tumour markers [1]. GTS predominantly occurs in the retroperi-

toneum and often encases the great vessels and adjacent organs [2]. Radiographic image includes solid and cystic components as well as necrotic areas [2]. Benign mature teratomas are resistant to chemotherapy and radiation, therefore only a complete surgical resection results in cure and is recognised as the treatment of choice based on published data [3–6].

We present a patient with advanced testicular GCT who had suffered from high-volume retroperitoneal disease and underwent a series of surgical interventions in order to remove several metastatic masses. He is still in complete remission 31 months after the last surgical procedure.

Clinical case details

We present the case of a 23-year-old patient with no relevant prior medical history, diagnosed with mixed GCT of testicular origin at the stage of metastatic disease (lungs, liver) who underwent a left-side orchietomy. Histological examination described a tumour tissue specimen sized 15 × 14 × 9 cm with solid and cystic growth features, predominantly represented by teratoma cells (80%), yolk sac tumour cells (10–15%), including embryonal carcinoma cells (< 5%) and sporadic areas of choriocarcinoma. The disease was classified as pT2N3M1b, clinical stage IIIC, a poor-risk testicular cancer according to the International Germ Cell Consensus Classification criteria. Following the surgery, the patient was treated with four cycles of induction systemic therapy BEP (bleomycin, etoposide, cisplatin). Re-staging computed tomography (CT) scan revealed a massive disease progression in the retroperitoneum, volume expansion of the liver lesion and supraclavicular

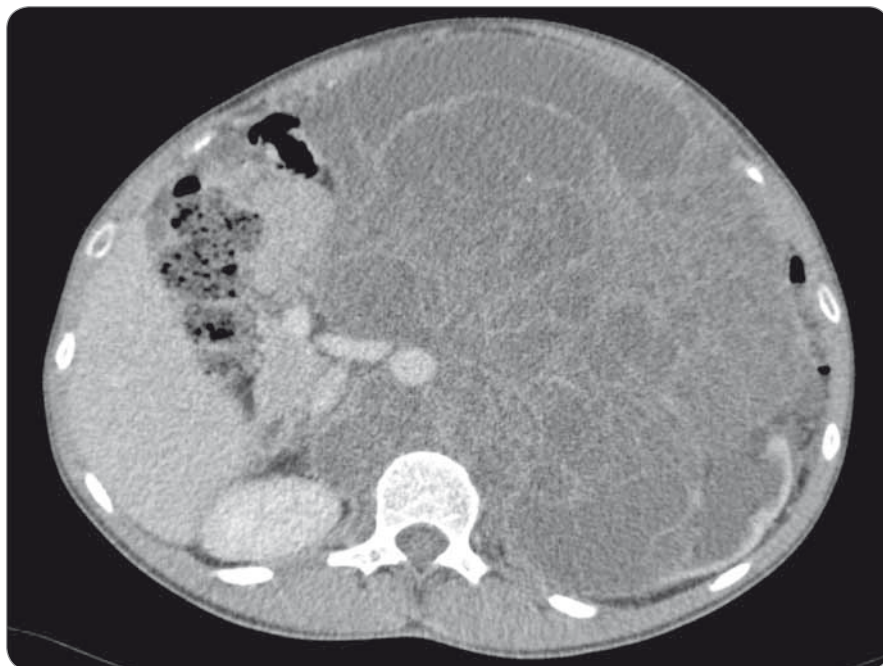


Fig. 1. Abdominal CT scan showing huge retroperitoneal mass encircling aorta and inferior caval vein.

lymphadenopathy, pulmonary metastases remained unchanged. Subsequent 2nd line treatment with three cycles of VIP (etoposide, ifosfamide, cisplatin) did not reverse the further progression, the retroperitoneal tumour mass expanded reaching 18 cm in diameter, and the hepatic lesion exhibited another enlargement. At this point, the patient was consulted at our institute and enrolled into the phase II clinical study for refractory GCT patients. He commenced the treatment with everolimus (10 mg/day) 7 months after the orchiectomy. Initially elevated alpha-fetoprotein (AFP) (11,47 U/mL) dropped to the physiological value in 3 months, while beta-human chorionic gonadotropin (β -HCG) did not exhibit a pathological increase during the treatment course. Despite that, the retroperitoneal mass containing both solid and cystic components continually grew to 27 × 18 × 20 cm (CC × LL × AP) (Fig. 1). Experimental therapy with everolimus had been administered for a 13-month period, when the patient was admitted to the surgical department for radical resection or at least, debulking procedure to relieve the intraabdominal hypertension syndrome.

During a 7.5-hour-operation procedure, the voluminous retroperitoneal tumour was resected *en bloc*, including the left hemicolectomy with terminal transversostomy and the left nephrectomy. Perioperatively, major blood loss caused by aortic wall infiltration required partial aortic resection and reconstruction with the Dacron patch use. Total blood loss assessment was 8,500 ml and surgical complications included prolonged gastrointestinal paralysis, blood transfusions need and postoperative delirium (grade 2 according to Clavien-Dindo Classification). Left-sided supraclavicular metastatic mass of 8.4 × 6 × 5.4 cm (CC × LL × AP) (Fig. 2) extending to the mediastinum was completely resected 4 weeks later through collar approach and partial medial sternotomy. Finally, 3 months after retroperitoneal surgery, the metastasectomy of liver lesion in segment VII (Fig. 3) was performed along with the bowel stoma closure. All specimens obtained from the resections were histologically evaluated as the structures of mature teratoma.

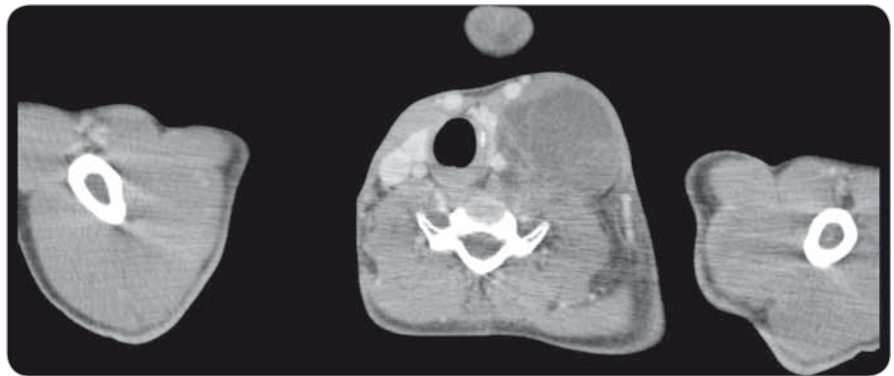


Fig. 2. Axial CT scan through left cervical tumor mass pressing thyroid gland and carotid and internal jugular vein.



Fig. 3. CT scan of liver metastasis located in the segment VII.

Since then, the patient has been closely followed, without further systemic treatment. The serum markers are within the normal range and the CT scans repeatedly confirm the complete remission of the disease with mainly postoperative changes at sites of performed resections. The patient is 27 years old, able to work with good quality of life, asymptomatic, 31 months after the liver metastasectomy and 55 months from the primary diagnosis of metastatic mixed testicular GCT.

Discussion

GTS is a rare clinical finding among patients with testicular and ovarian GCT with the vast majority of cases described in men since testicular GCT is more prev-

alent [7]. The prevalence of GTS in metastatic nonseminomatous GCT according to the published data is between 2–7.6% whereas occasionally, it may originate in pure seminoma [5]. Predominantly located in the retroperitoneal area, growing teratoma also occurs in the lungs, liver, mediastinum, forearm, supraclavicular and inguinal lymph nodes [2,8]. Three criteria have been established to define the diagnosis of GTS. Considering the fact that the overall survival rates in advanced testicular cancer reach 90% following the combination of cisplatin-based regimen and surgery, tumour growth during or after chemotherapy administration may be the first sign of growing teratoma development. Sec-

ondly, normalisation of serum tumour markers associated with evident tumour enlargement is usually observed although minor elevations have been reported occasionally [9].

The histological presence of mature teratoma components at the time of the resection and no viable germ cells is the third condition to fulfil the GTS diagnosis [1]. The association between primary pathology and the likelihood of GTS has not yet been well recognised. The pathogenesis of GTS remains unclear and presumably includes the chemotherapy-induced transformation of totipotent malignant germ cell into a mature teratoma and selective destruction of immature malignant cells allowing for the growth of the benign mature teratoma. Moreover, the animal model proposes an inherent and spontaneous differentiation of malignant cells into benign tissues [2,8,10,11].

GTS has a variable time-course presentation with early reports after two cycles of systemic therapy to more than 10 years after chemotherapy completion, mostly occurring within 24 months [12,13]. Growing teratoma typically presents with cystic components and necrotic areas on CT imaging and its margins are relatively well circumscribed [3]. The treatment with 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography might be useful for the assessment of residual tumour viability, however, relatively low sensitivity and specificity as well as possible false positive findings caused by chemotherapy-induced recruitment of neutrophils, lymphocytes and macrophages, limit the routine utilisation of this method in patient monitoring [14].

To date, no specific growth size/rate has been correlated to GTS [13]. Normalisation of serum tumour markers (AFP, HCG, lactate dehydrogenase) concurrent with the tumour growth is a typical feature of GTS. In cases where the tumour markers decline but remain slightly over the normal range, active immature carcinomatous components may be present. However, it is necessary to exclude a non-malignant aetiology of the increase (liver dysfunction, luteinizing hormone cross reactivity in patients with hypogonadism, the use of

marijuana, etc.) [15]. An atypical clinical finding in ovary-associated GTS was described as gliomatosis peritonei, a condition characterised by the presence of mature glial tissue in the peritoneum [7].

GTS is unresponsive to chemotherapy and radiation, and a timely radical surgical excision is considered a golden standard of treatment [3–6]. Massive retroperitoneal expansion, especially when encompassing the great vessels, may be deemed unresectable and the patient is thereby sentenced to palliative care. Current clinical experience consistently with our case proves that even the high-volume disease can be completely resected with an excellent prognosis [16]. A delay in surgery may result in unfavourable clinical scenarios, such as malignant somatic transformation (3–6% of cases) or compression of adjacent structures. Such delay will ultimately worsen the outlook for the complete resection which guarantees a 10-year recurrence-free survival of approximately 80% [17,18]. Unresectable disease has become a candidate for medical stabilisation. Promising reports of treatment response after bevacizumab, cyclin-dependent kinase inhibitors, and interferon have been published, thus encouraging further research [19,20].

Conclusion

Uncommon clinical course of treated GCTs described as GTS may result in misdiagnosed disease progression and cause the oncological overtreatment in a number of patients. Considering the favourable prognosis of treated metastatic testicular tumours, extensive tumour growth associated with the normalisation of serum tumour markers should raise suspicion of mature teratoma formation. It often encases vital vasculature and adjacent structures and complete surgical resection as the golden standard of GTS treatment may not always be feasible. We highlight the favourable prognosis of patients with GTS after complete resection and encourage the specialists involved not to postpone the surgical procedure. Furthermore, we emphasise the role of active monitoring and coordinated surgical and oncological care in patients with advanced testicular cancer as

these are crucial to optimise the outcome of GTS, especially in high-volume disease.

References

1. Logothetis CJ, Samuels ML, Trindade A et al. The growing teratoma syndrome. *Cancer* 1982; 50(8): 1629–1635.
2. Gorbatiy V, Spiess PE, Pisters LL. The growing teratoma syndrome: current review of the literature. *Indian J Urol* 2009; 25(2): 186–189. doi: 10.4103/0970-1591.52910.
3. Lee DJ, Djaladat H, Tadros NN et al. Growing teratoma syndrome: clinical and radiographic characteristics. *Int J Urol* 2014; 21(9): 905–908. doi: 10.1111/iju.12466.
4. Daneshmand S, Albers P, Foss SS et al. Contemporary management of postchemotherapy testis cancer. *Eur Urol* 2012; 62(5): 867–876. doi: 10.1016/j.eururo.2012.08.014.
5. André F, Fizazi K, Culine S et al. The growing teratoma syndrome: results of therapy and long-term follow-up of 33 patients. *Eur J Cancer* 2000; 36(11): 1389–1394.
6. Aide N, Comoz F, Sevin E. Enlarging residual mass after treatment of a nonseminomatous germ cell tumor: growing teratoma syndrome or cancer recurrence? *J Clin Oncol* 2007; 25(28): 4494–4496. doi: 10.1200/JCO.2007.12.7530.
7. Bentivegna E, Azais H, Uzan C et al. Surgical outcomes after debulking surgery for intraabdominal ovarian growing teratoma syndrome: analysis of 38 cases. *Ann Surg Oncol* 2015; 22 (Suppl 3): 964–970. doi: 10.1245/s10434-015-4608-y.
8. Boukettaya W, Hochlaf M, Boudagga Z et al. Growing teratoma syndrome after treatment of a nonseminomatous germ cell tumor: a case report and a review of literature. *Urol Case Rep* 2014; 2(1): 1–3. doi: 10.1016/j.eucr.2013.11.007.
9. Jeffery GM, Theaker JM, Lee AH et al. The growing teratoma syndrome. *Br J Urol* 1991; 67(2): 195–202.
10. Nimkin K, Gupta P, McCauley R. The growing teratoma syndrome. *Pediatr Radiol* 2004; 34(3): 259–262. doi: 10.1007/s00247-003-1045-z.
11. Hong WK, Wittes RE, Hajdu ST. The evolution of mature teratoma from malignant testicular tumors. *Cancer* 1977; 40(6): 2987–2992.
12. Djordjevic B, Euscher ED, Malpica A. Growing teratoma syndrome of the ovary: review of literature and first report of a carcinoid tumor arising in a growing teratoma of the ovary. *Am J Surg Pathol* 2007; 31(12): 1913–1918. doi: 10.1097/PAS.0b013e318073cf44.
13. Kataria SP, Varshney AN, Nagar M et al. Growing teratoma syndrome. *Indian J Surg Oncol* 2017; 8(1): 46–50. doi: 10.1007/s13193-016-0568-3.
14. Büchler T, Simonova K, Fencel P et al. Pozitronová emisní tomografie v diagnostice a sledování pacientů s neseminomovými germinálními nádory. *Klin Onkol* 2011; 24(6): 413–417. doi: 10.14735/amko2011413.
15. Spiess PE, Tannir NM, Tu SM et al. Viable germ cell tumor at postchemotherapy retroperitoneal lymph node dissection: can we predict patients at risk of disease progression? *Cancer* 2007; 110(12): 2700–2708. doi: 10.1002/cncr.23104.
16. Beck SD, Fister RS, Bihlre R et al. Long-term outcome for patients with high volume retroperitoneal teratoma undergoing post-chemotherapy surgery. *J Urol* 2009; 181(6): 2526–2532. doi: 10.1016/j.juro.2009.01.116.
17. Carver BS, Shayegan B, Serio A et al. Long-term clinical outcome after postchemotherapy retroperitoneal lymph node dissection in men with residual teratoma. *J Clin Oncol* 2007; 25(9): 1033–1037. doi: 10.1200/JCO.2005.05.4791.
18. Nassiri N, Shah A, Daneshmand S et al. Growing teratoma syndrome of testicular origin. *Urology* 2019; 123: 20–23. doi: 10.1016/j.urol.2018.05.015.
19. Meigo M, Reckova M, Sycova-Mila Z et al. Bevacizumab in a growing teratoma syndrome. Case report. *Ann Oncol* 2007; 18(5): 962–963. doi: 10.1093/annonc/mdm125.
20. Vaughn DJ, Flaherty K, Lal P et al. Treatment of growing teratoma syndrome. *N Engl J Med* 2009; 360(4): 423–424. doi: 10.1056/NEJMc0808558.

Hepatic Injury Induced by a Single Dose of Nivolumab – a Case Report and Literature Review

Postižení jater po jedné dávce nivolumabu – kazuistika a přehled literatury

Kopecky J.¹, Kubecek O.¹, Geryk T.², Podhola M.², Ziaran M.¹, Priester P.¹, Hanisova M.¹, Borilova S.¹

¹ Department of Oncology and Radiotherapy, Faculty of Medicine, University Hospital Hradec Kralove

² The Fingerland Department of Pathology, Faculty of Medicine, University Hospital Hradec Kralove

Summary

Background: The use of nivolumab in the treatment of metastatic melanoma has become well established during past years. Despite its undeniable efficacy, immune-related side effects may occur, including acute liver injury. Liver toxicity caused by nivolumab is usually observed as liver enzyme elevation with mild or no symptoms; further, there is limited information regarding any histopathological findings. **Case:** We report a case of a 38-year-old woman with metastatic melanoma who developed unusual nivolumab-induced hepatic injury after a single dose of nivolumab. A liver biopsy was performed to assess the aetiology of hepatic lesions as no other analysis concerning biochemistry, virology, autoantibodies, nor imaging studies revealed any pathology. The histopathological analysis showed an oedema in the portal fields and mixed inflammation consisting of eosinophilic and neutrophilic granulocytes. The major finding was a prominent, predominantly intracellular, cholestasis. **Conclusion:** To our knowledge, no such histopathological pattern of liver injury has been described in relation to nivolumab therapy elsewhere. This type of liver injury shows higher resistance to corticosteroids, which may warrant upfront high-dose corticotherapy combined with other immunosuppressive agents, including mycophenolate mofetil. This case highlights a necessary awareness regarding immunotherapy-related adverse events, which could be severe and potentially life-threatening.

Key words

nivolumab – hepatitis – toxicity – corticosteroids – autoimmunity

Souhrn

Východiska: Použití nivolumabu v léčbě metastatického melanomu se v uplynulých letech stalo terapeutickým standardem. I přes jeho nepopíratelnou účinnost se však mohou objevit nežádoucí reakce, vč. akutního poškození jater. Hepatotoxičita způsobená nivolumabem je obvykle popisována jako zvýšení hladin jaterních enzymů s příznaky či bez příznaků. Informace o histopatologických projevech této toxicity existují v omezené míře. **Případ:** Uvádíme případ 38leté ženy s metastazujícím maligním melanomem, u které došlo k poškození jater po jedné dávce nivolumabu. Jelikož žádné vyšetření v podobě biochemie, virologie, autoprotilátek ani zobrazovacích metod neodhalilo příčinu jaterního selhávání, byla provedena jaterní biopsie. Histopatologické vyšetření prokázalo edém v portálních polích a smíšený zánět sestávající z eozinofilních a neutrofilních granulocytů. Hlavním nálezem byla prominentní, převážně intracelulární cholestáza. **Závěr:** Podle našich znalostí nebyl tento typ jaterního postižení v souvislosti s léčbou nivolumabem dosud popsán. Tento typ jaterního poškození může být spojován s vyšší rezistencí na léčbu kortikosteroidy, s nutností agresivnějšího přístupu či s použitím dalších imunosupresiv, jako např. mykofenolátu mofetil. Tento případ dále upozorňuje na potřebnou obezřetnost, ale i nutnost dobré informovanosti o možných nežádoucích účincích souvisejících s imunoterapií, které, ač nemusejí být časté, mohou být potenciálně život ohrožující.

Klíčová slova

nivolumab – hepatitida – toxicita – kortikosteroidy – autoimunita

The study was supported by the Charles University Faculty of Medicine in Hradec Kralove grant SVV- 2016-260286 and UK Progres Q40/06.

Tato studie byla podpořena grantem SVV- 2016-260286 a UK Progres (Q40/06) Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Hradci Králové.

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. Jindřich Kopecký, Ph.D.
Department of Oncology and Radiotherapy
University Hospital
Hradec Kralove
Sokolska 581
50 005 Hradec Kralove
e-mail: kopeccjin@fnhk.cz

Submitted/Obdrženo: 31. 12. 2018
Accepted/Přijato: 20. 2. 2019

doi: 10.14735/amko2019133

Introduction

The use of nivolumab in the treatment of metastatic melanoma has become well established during past years [1]. Nivolumab, a human monoclonal antibody targeting the programmed cell death receptor 1 (PD-1), has proven to be of great benefit in overall survival in patients with metastatic malignant melanoma; however, despite its undeniable efficacy, major side effects may occur. These are usually immune-related and may be present in various forms, including acute liver injury, a potentially serious and life-threatening event. Although the liver toxicity of nivolumab has been reported in clinical trials, it is usually described as increased liver enzyme, with none or limited information regarding histopathological observations. The risk of severe immune-related hepatic injury is generally considered to be lower and less common with anti-PD-1 therapy when compared to anti-CTLA-4 antibodies [2,3].

Herein, we report a case of unusual onset of nivolumab-induced hepatic in-

jury after a single dose of nivolumab. Furthermore, we provide a thorough histopathological study of the liver tissue specimen and discuss possible pathogenesis and treatment options.

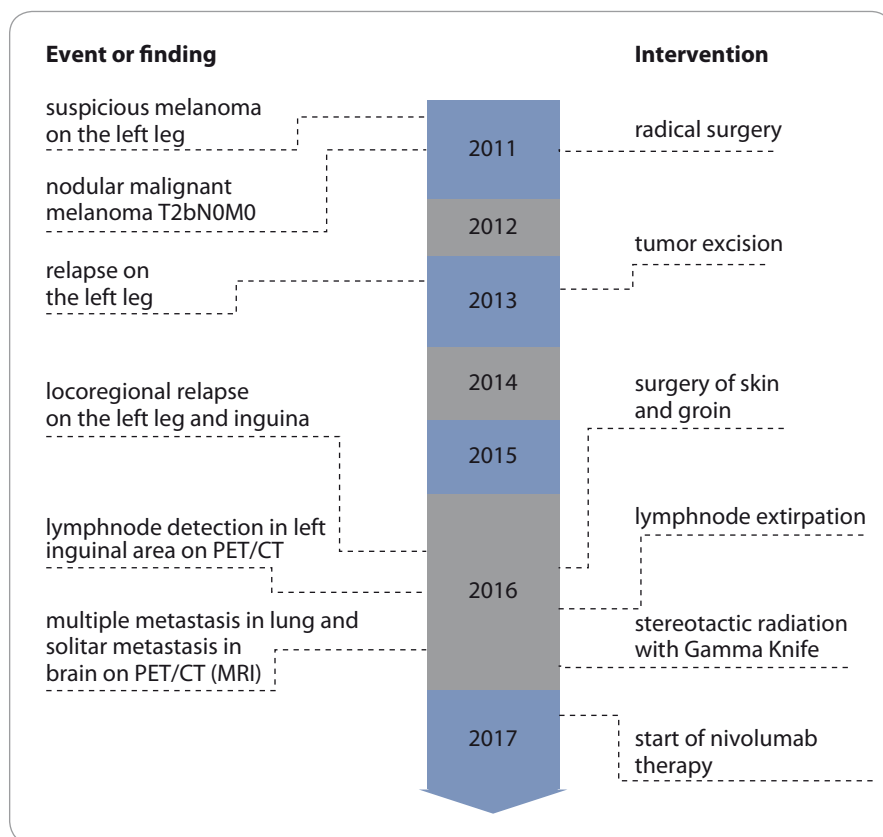
Case report

The present study concerns the case of a 38-year-old woman with metastatic melanoma (Schema 1) who developed severe hepatic injury after the first dose of nivolumab. Fourteen days following the introduction of nivolumab therapy, the patient visited the outpatient clinic to obtain a second dose; she had no symptoms of immune-related adverse events (irAE). However, the laboratory tests revealed severe increment of liver enzymes and bilirubin (alanine aminotransferase – ALT, aspartat aminotransferase – AST, bilirubin, and gamma-glutamyl transferase – GGT) shown in Graph 1 leading to immediate hospital admission. The patient had no past medical history of liver disease, elevated liver enzymes, drug-induced liver injury, autoimmune disorder

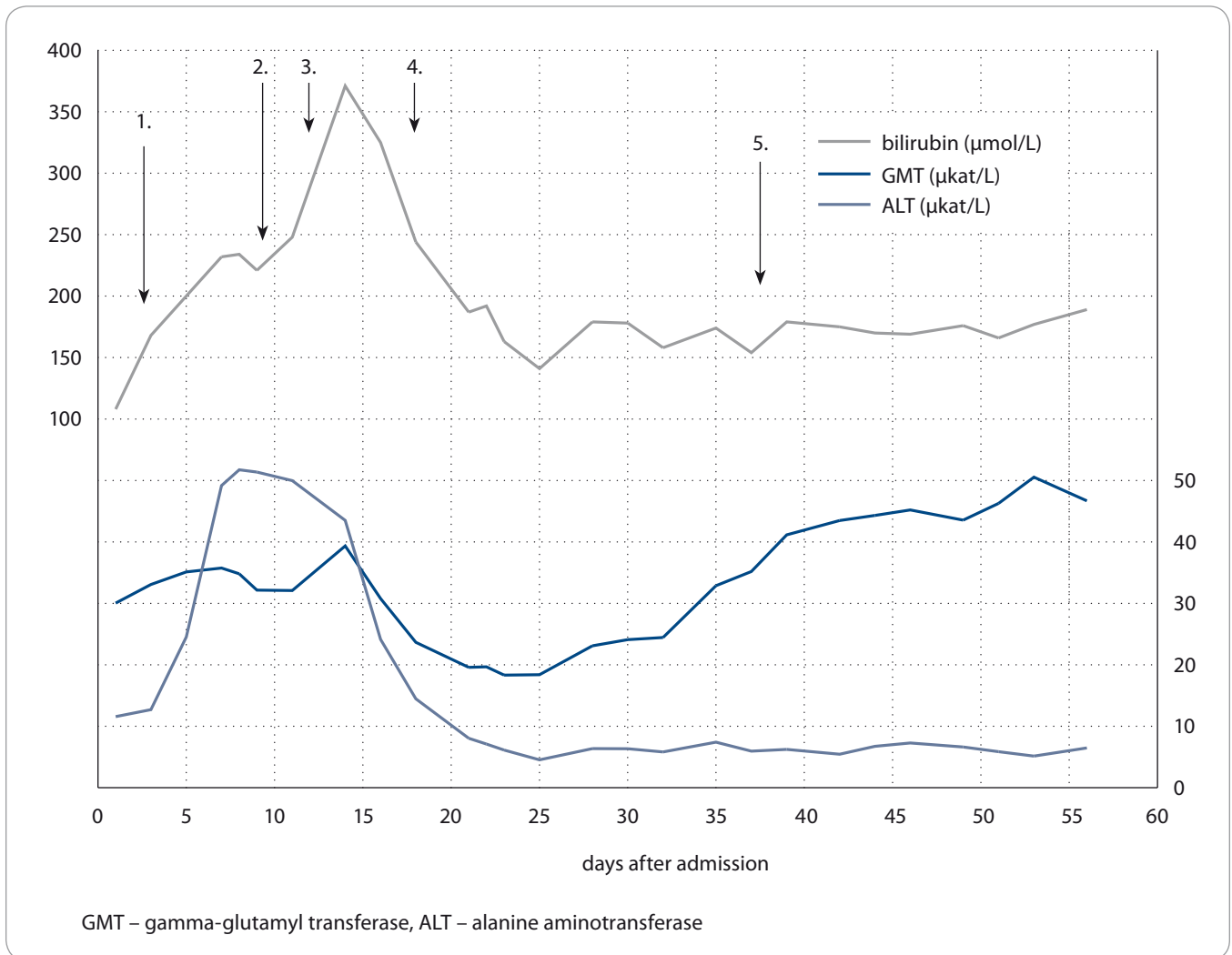
or any other significant comorbidities. There were no signs of metastatic involvement of the liver on previous computed tomography (CT) and current ultrasound imaging studies. Her medication did not include any drugs with known liver toxicity except for levetiracetam 1,500 mg/day, administered as antiepileptic prophylaxis for brain metastases. Taking into account that rare cases of levetiracetam-induced hepatic failure were reported [4], the medication was switched to a less hepatotoxic drug, lamotrigine. However, considering that the liver functions did not resolve after cessation of levetiracetam, it was ruled out as a possible cause of liver toxicity and returned to the patient's medication.

In order to exclude all possible causes of liver injury, we performed a broad evaluation spectrum. At the beginning, drug or herbal intoxication was excluded, and the patient was tested for a panel of viral infections (human immunodeficiency virus – HIV, cytomegalovirus – CMV, Epstein-Barr virus – EBV, herpes simplex virus type 1 – HSV-1, herpes simplex virus type 2 – HSV-2, hepatitis A virus – HAV, hepatitis B virus – HBV, hepatitis C virus – HCV, hepatitis E virus – HEV) with negative results. A screening for possible iron and copper metabolism disorders was also negative. The imaging methods showed no biliary tree distension, no signs of new liver metastases, nor brain metastases progression. Taking a step further, the patient was tested for possible autoimmune diseases, involving the assessment of autoantibodies (i.e. anti-neutrophil cytoplasmic antibodies – ANCA, anti-mitochondrial antibodies – AMA, anti-nuclear antibodies – ANA, antibodies to smooth muscle – SMA, anti-liver-kidney microsome antibodies – anti-LKM, anti-soluble liver antigen antibodies – anti-SLA, antibody to liver cytosol – anti-LC-1, and rheumatoid factor), all of which were negative.

Considering that none of the previous tests provided any significant information regarding the aetiology of the hepatic lesion, the decision to perform a liver biopsy was made. The histopathological evaluation showed an oedema in the portal fields and mixed inflamma-



Schema 1. Disease history timeline.



Graph 1. Development of liver enzymes and therapeutical interventions.

Arrows indicate day and manner of intervention: 1) methylprednisolone 2 mg/kg/day; 2) corticosteroids 4 mg/kg/day + mycophenolate mofetil 2 g/day; 3) methylprednisolone 6 mg/kg/day; 4) tapering of methylprednisolone to 2 mg/kg/day; 5) methylprednisolone 4 mg/kg/day.

tion consisting of eosinophilic and neutrophilic granulocytes. The major finding was a perivenular (zone 3) cholestasis. Fig. 1 shows the presence of bile both within the liver cell cytoplasm and the dilated canaliculi.

Following the recommendations for irAE management, the patient was started on methylprednisolone i.v. 2 mg/kg/day. Considering that the laboratory results and symptoms did not improve after a week of therapy, the dose of methylprednisolone was raised to 4 mg/kg/day and further to 6 mg/kg/day. Because of further deterioration of the clinical symptoms (jaundice, itching), the case was discussed within a multidisciplinary board, including gastroen-

terologists and a neurologist, and the patient was started on mycophenolate mofetil 1 g BID and acidum ursodeoxycholicum 1,500 mg/day (Graph 1).

While on combined immunosuppressive therapy, the patient developed multiple side effects, including blood count alteration (thrombocytopenia and neutropenia), thyroid function alteration (decreased thyroid-stimulating hormone), muscle weakness, loss of appetite, and mental discomfort. Considering this, together with partial restoration of liver function, we started to gradually taper the doses of corticosteroids and mycophenolate mofetil (Graph 1).

Despite the use of antibiotics and antimycotics prophylaxis (fluconazole,

co-trimoxazole) during the immunosuppressive therapy, the patient developed a mild respiratory infection, which was promptly managed with antibiotics (cefotaxime).

Because of neurological symptoms (epileptic seizures, weakness of muscles with hemiplegic left upper extremity) recurring despite sufficient plasma levels of anti-epileptic drugs, progression of GGT and bilirubin serum levels, we performed brain magnetic resonance imaging and a chest, abdomen, and pelvis CT scan. There were no new metastatic lesions in the brain. However, the CT scan revealed metastases progression in lungs, adrenal glands and liver. The limited therapeutic possibilities and

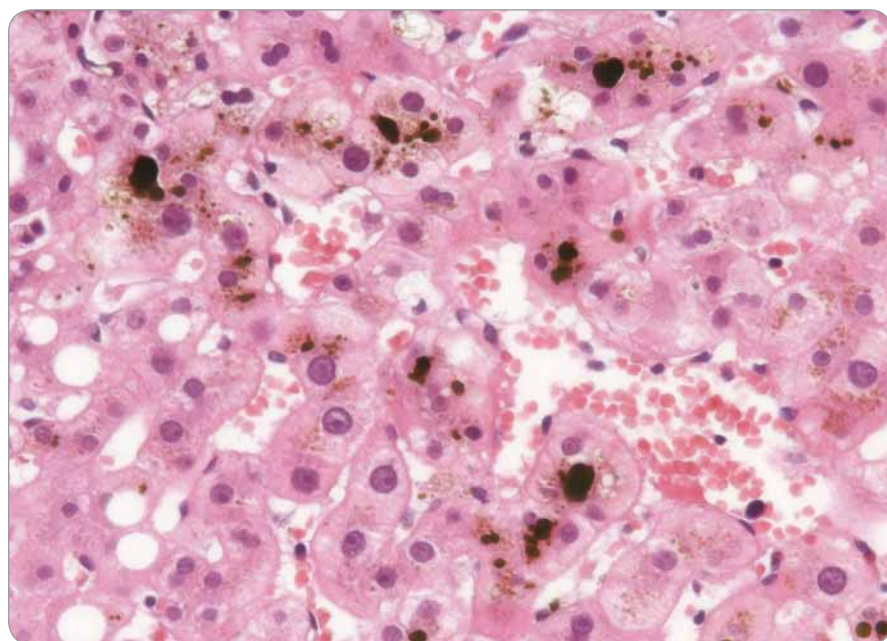


Fig. 1. Histological samples of liver tissue.

Hematoxylin and eosin staining showing the portal fields with mixed inflammation and predominantly intracellular and canalicular cholestasis.

unfavourable prognosis was thoroughly discussed with the patient and her family. The consensus was made to provide the best supportive care. The patient eventually died 74 days following the first dose of nivolumab due to tumour progression.

Discussion

The introduction of immune checkpoint inhibitors has dramatically improved the prognosis of patients with metastatic melanoma; in this regard, nivolumab has significantly improved overall survival when compared to ipilimumab or to chemotherapy [1,5].

Despite the important clinical benefits of nivolumab, immune checkpoint inhibition is associated with a broad spectrum of side effects, usually termed as irAEs, resulting from its mechanism of action, i.e. immune response enhancement [6].

Overall, the safety profile of nivolumab is favourable and any possible AEs are manageable and generally consistent. IrAEs include dermatologic, gastrointestinal, hepatic, endocrine, and other less common inflammatory events. There is no obvious pattern in the incidence, severity, or relation to nivolumab dos-

age. Most irAEs are of low-grade (i.e. grade 1–2) with relatively few of high-grade (i.e. grade 3–4). Most high-grade events are managed with corticosteroids, tumour necrosis factor-alpha antagonists, or mycophenolate mofetil [7].

Although nivolumab-related liver toxicity has been reported in the past, it was usually present in low-grade form. In this regard, patients treated with nivolumab monotherapy within clinical trials (CA209066, CA209037, CA209067, CA209017, CA209057, CA209063, CA209025, CA209205, and CA209039), showed a 6.9% incidence of liver function abnormalities. An estimated 5.1% of patients presented usually mild effects (i.e. grade 1 or 2), whereas only 1.9% were classified as grade 3 or 4. The onset of liver toxicity was usually observed after two to six cycles 1–3 months after treatment initiation (median 1.9 month). With appropriate medical therapy, most of these irAEs were resolved within a median of 5.4 weeks. Permanent discontinuation of the treatment was required in only 0.9% of patients [1,8–14].

Hepatic AEs induced by PD-1 inhibitors commonly shown as an asymptomatic increment of AST and ALT, and rarely of total bilirubin. Symptoms such

as fatigue, fever, and hepatomegaly, detected by imaging methods, may also occur [15].

A correct diagnosis, along with the assessment of a hepatic lesion aetiology, requires the combination of laboratory tests and a liver biopsy; however, it may still be challenging to reveal the aetiology of the hepatic lesion. Clinical data may provide further information and aid in determining the diagnosis, i.e. the relation between therapy start and hepatotoxicity onset, resolution time after drug cessation, time of recurrence upon re-challenge, and previous evidence of drug hepatotoxicity [16]. The differential diagnosis includes drug-induced liver injury, idiopathic autoimmune hepatitis, acute viral hepatitis, and acute alcoholic liver disease. Distinguishing between idiopathic autoimmune hepatitis and drug-induced liver injury is much more challenging in case of immunotherapy, as these two forms of liver injury have similar clinical features [17].

Further information regarding any histopathological findings in patients with anti-PD-1 induced liver injury is rather scarce. Although there are some reports (usually individual case reports or small case series) of anti-CTLA-4 monoclonal antibodies induced liver toxicity [18,19] with a similar pattern of liver injury caused by anti-PD-1 therapy. Histopathological findings of liver injury associated with anti-CTLA-4 therapy are usually described as acute hepatitis-like pattern with focal or confluent necrosis and prominent portal inflammation. However, other pathological patterns have been reported and some proportion of cholestasis may also be present in some cases. The inflammatory infiltrate is composed predominantly of CD8⁺ T-lymphocytes, admixed histiocytes, scattered plasma cells, and eosinophils [18–20].

To the best of our knowledge, there are only two reported cases, including the histopathological findings of nivolumab-induced liver injury in a patient with lung cancer and glioblastoma [21,22], but none in melanoma. In the first case, the liver biopsy showed a moderate lymphocytic inflammatory infiltrate with bile duct injury and mild

periportal necrosis. Immunohistochemical staining revealed the prevalence of CD3⁺CD8⁺ lymphocytes in the portal tract. In the latter case, the hepatocytes showed a diffuse cytoplasmic clearing, with occasional macro-vacuolar steatosis in the centrilobular area. The steatotic hepatocytes were surrounded by a rich inflammatory infiltrate, while in the portal tract, only a minimal fibrosis and scattered inflammatory cells were found. Again, the inflammatory infiltrate was represented mostly by CD8⁺ cytotoxic lymphocytes, diffusely scattered within the parenchyma.

In our case, the evaluation of the liver tissue by CD3/CD8 immunohistochemical staining and PD-L1 expression analysis showed only a small number of CD8⁺ cells in liver sinusoids and portal fields, whereas CD3⁺ cell presence was much richer at these sites. The CD3 : CD8 ratio was 5 : 1 in favour of CD3⁺ cells. PD-L1 expression was mainly detected in the endothelial cells of liver sinusoids and, sporadically, in Kupffer cells; however, it was absent in hepatocytes.

Taking into account our findings with available case reports, it could be suggested that anti-PD-1 induced liver injury likely represents heterogeneous forms of disease, ranging from autoimmune hepatitis to other forms with predominant cholangitic liver disease. In contrast to both cases mentioned above, we present a new histopathological pattern involving intracellular and canalicular cholestasis with only a mild inflammatory infiltrate. In a similar manner to the case with cholangitic hepatitis [21], we also observed a worse response to corticosteroids; therefore suggesting that a predominant cholangiolitic pattern of liver injury might require different and much more intensive therapeutic strategies. However, the specific mechanisms involved in nivolumab-induced liver injury are currently unknown.

Hepatitis with cholestasis may be induced by a wide spectrum of drugs [17]. Cholestatic patterns of liver injury can be divided into three basic categories – acute (bland or intrahepatic) cholestasis, chronic cholestasis, and a type of cholestasis termed as “cholestatic hepatitis”. The histopathological findings in acute

cholestasis usually involve bile plugs in canaliculi and bile accumulation in hepatocytes, particularly in zone 3, accompanied with mild inflammation. Chronic cholestasis pattern shows cholestatic stasis and periportal copper accumulation with some degree of induct injury. Histopathological findings of cholestatic hepatitis show a variable spectrum of inflammation and cholestasis, ranging from cases of acute hepatitis, involving a cholestatic component, to cases with minimal inflammation. The degree of inflammation in cholestatic hepatitis, predominantly consisting of neutrophilic infiltrates, tends to be less severe compared with a case of pure acute or chronic hepatitis [23].

In order to identify the correct cause of liver injury, cooperation within a multidisciplinary team, involving gastroenterologists, radiologists and preferably also pathologists, is important. The symptoms and findings might mimic other conditions, such as autoimmune hepatitis, primary biliary cholangitis, primary sclerosing cholangitis, viral hepatitis, or tumour progression, which need to be ruled out before being able to diagnose nivolumab induced immune-related liver injury.

Corticosteroids therapy is the mainstay of irAE management, in which the dose depends on a toxicity grade ranging from 0.5 to 2 mg/kg/day [24–26]. The response to corticosteroid therapy in immune mediated liver injury can be variable, especially in presence of a non-typical cholangitic pattern. When concerning our case (or a previously reported lung cancer case) [21], the response seems to be slower and the condition more resistant to immunosuppressive therapy; therefore, a higher initial dose of corticosteroids may be required. Alternatively, other immunosuppressive drugs, such as mycophenolate mofetil can be used. Regardless, it must be emphasised that patients treated with corticosteroids i.v. therapy are especially prone to infectious complications and adequate care should be paid to this issue.

Conclusion

Our case report shows the importance of vigilance from the first application

of nivolumab and the necessity of regular follow-up. Special attention must be given to the fact that hepatotoxicity might represent a severe complication of immunotherapy with a potentially fatal outcome. In concordance with previously published data, we demonstrate that cholestatic hepatitis shows a poor response to corticosteroid therapy and may justify more potent up-front immunosuppressive treatment. In order to collect more data regarding histopathological patterns associated with anti-PD-1 therapy induced liver toxicity, liver biopsy in patients with severe hepatotoxicity is warranted.

References

1. Robert C, Long GV, Brady B et al. Nivolumab in previously untreated melanoma without BRAF mutation. *N Engl J Med* 2015; 372(4): 320–330. doi: 10.1056/NEJMoa1412082.
2. Wang W, Lie P, Guo M et al. Risk of hepatotoxicity in cancer patients treated with immune checkpoint inhibitors: a systematic review and meta-analysis of published data. *Int J Cancer* 2017; 141(5): 1018–1028. doi: 10.1002/ijc.30678.
3. Zhang X, Ran Y, Wang K et al. Incidence and risk of hepatic toxicities with PD-1 inhibitors in cancer patients: a meta-analysis. *Drug Des Devel Ther* 2016; 10: 3153–3161. doi: 10.2147/DDDT.S115493.
4. Tan TC, de Boer BW, Mitchell A et al. Levetiracetam as a possible cause of fulminant liver failure. *Neurology* 2008; 71(9): 685–686. doi: 10.1212/01.wnl.0000324604.11657.c6.
5. Larkin J, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R et al. Combined nivolumab and ipilimumab or monotherapy in untreated melanoma. *N Engl J Med* 2015; 373(1): 23–34. doi: 10.1056/NEJMoa1504030.
6. Naidoo J, Page DB, Li BT et al. Toxicities of the anti-PD-1 and anti-PD-L1 immune checkpoint antibodies. *Ann Oncol* 2015; 26(12): 2375–2391. doi: 10.1093/annonc/mdv383.
7. Champiat S, Lambotte O, Barreau E et al. Management of immune checkpoint blockade dysimmune toxicities: a collaborative position paper. *Ann Oncol* 2016; 27(4): 559–574. doi: 10.1093/annonc/mdv623.
8. Weber JS, D'Angelo SP, Minor D et al. Nivolumab versus chemotherapy in patients with advanced melanoma who progressed after anti-CTLA-4 treatment (CheckMate 037): a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2015; 16(4): 375–384. doi: 10.1016/S1470-2045(15)70076-8.
9. Larkin J, Hodi FS, Wolchok JD. Combined nivolumab and ipilimumab or monotherapy in untreated melanoma. *N Engl J Med* 2015; 373(13): 1270–1271. doi: 10.1056/NEJMc1509660.
10. Borghaei H, Paz-Ares L, Horn L et al. Nivolumab versus docetaxel in advanced nonsquamous non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2015; 373(17): 1627–1639. doi: 10.1056/NEJMoa1507643.
11. Rizvi NA, Mazieres J, Planchard D et al. Activity and safety of nivolumab, an anti-PD-1 immune checkpoint inhibitor, for patients with advanced, refractory squamous non-small-cell lung cancer (CheckMate 063): a phase 2, single-arm trial. *Lancet Oncol* 2015; 16(3): 257–265. doi: 10.1016/S1470-2045(15)70054-9.
12. Motzer RJ, Escudier B, McDermott DF et al. Nivolumab versus everolimus in advanced renal-cell carcinoma.

N Engl J Med 2015; 373(19): 1803–1813. doi: 10.1056/NEJMoa1510665.

13. Younes A, Santoro A, Shipp M et al. Nivolumab for classical Hodgkin's lymphoma after failure of both autologous stem-cell transplantation and brentuximab vedotin: a multicentre, multicohort, single-arm phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2016; 17(9): 1283–1294. doi: 10.1016/S1470-2045(16)30167-X.
14. Ansell SM, Lesokhin AM, Borrello I et al. PD-1 blockade with nivolumab in relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 2015; 372(4): 311–319. doi: 10.1056/NEJMoa1411087.
15. Postow MA. Managing immune checkpoint-blocking antibody side effects. *Am Soc Clin Oncol Educ Book* 2015; 76–83. doi: 10.14694/EdBook_AM.2015.35.76.
16. Aithal GP, Watkins PB, Andrade RJ et al. Case definition and phenotype standardization in drug-induced liver injury. *Clin Pharmacol Ther* 2011; 89(6): 806–815. doi: 10.1038/clpt.2011.58.
17. Kleiner DE. The histopathological evaluation of drug-induced liver injury. *Histopathology* 2017; 70(1): 81–93. doi: 10.1111/his.13082.
18. Johncilla M, Misdraji J, Pratt DS et al. Ipilimumab-associated hepatitis: clinicopathologic characterization in a series of 11 cases. *Am J Surg Pathol* 2015; 39(8): 1075–1084. doi: 10.1097/PAS.0000000000000453.
19. Kleiner DE, Berman D. Pathologic changes in ipilimumab-related hepatitis in patients with metastatic melanoma. *Dig Dis Sci* 2012; 57(8): 2233–2240. doi: 10.1007/s10620-012-2140-5.
20. Hofmann L, Forschner A, Loquai C et al. Cutaneous, gastrointestinal, hepatic, endocrine, and renal side-effects of anti-PD-1 therapy. *Eur J Cancer* 2016; 60: 190–209. doi: 10.1016/j.ejca.2016.02.025.
21. Gelsomino F, Vitale G, D'Errico A et al. Nivolumab-induced cholangitic liver disease: a novel form of serious liver injury. *Ann Oncol* 2017; 28(3): 671–672. doi: 10.1093/annonc/mdw649.
22. Simonelli M, Di Tommaso L, Baretta M et al. Pathological characterization of nivolumab-related liver injury in a patient with glioblastoma. *Immunotherapy* 2016; 8(12): 1363–1369. doi: 10.2217/imt-2016-0057.
23. Kleiner DE, Chalasani NP, Lee WM et al. Hepatic histological findings in suspected drug-induced liver injury: systematic evaluation and clinical associations. *Hepatology* 2014; 59(2): 661–670. doi: 10.1002/hep.26709.
24. Kumar V, Chaudhary N, Garg M et al. Current diagnosis and management of immune related adverse events (irAEs) induced by immune checkpoint inhibitor therapy. *Front Pharmacol* 2017; 8: 49. doi: 10.3389/fphar.2017.00049.
25. Lakomy R, Poprach A. Side effects of modern immunotherapy and how to solve them in the clinics. *Klin Onkol* 2015; 28 (Suppl 4): 4S103–4S114. doi: 10.14735/amko20154S103.
26. Kopecky J, Kubecek O, Trojanova P et al. Adverse effects of modern treatment of malignant melanoma and their treatment/management. *Klin Onkol* 2014; 27(6): 393–400. doi: 10.14735/amko2014393.

Leptomeningeal Metastasis in a Breast Cancer Treated with Two Lines of Intrathecal Chemotherapy – a Case Report

Leptomeningeálne metastázy karcinómu prsníka liečené dvoma líniami intratekálnej chemoterapie – kazuistika

Mikudova V.^{1,2}, Rejlekova K.¹, Gyarfás J.^{2,3}, Oravcova I.², Chovanec M.¹, Mardiak J.¹, Mego M.¹

¹2nd Department of Oncology, Faculty of Medicine, Comenius University, National Cancer Institute, Bratislava

²Oncohematology Clinic, Faculty of Medicine, Comenius University, National Cancer Institute, Bratislava

³Department of Hematology, National Cancer Institute, Bratislava

Summary

Background: Leptomeningeal metastasis (LM) in breast cancer is associated with a poor prognosis. Although no randomised trial has demonstrated that intrathecal chemotherapy actually prolongs survival, this treatment is considered standard of care in this setting. The prognosis of patients with LM is poor, with a median overall survival time of less than 6 months. **Methods:** Herein, we report a case of a young woman with breast cancer who presented with LM at the time of relapse and was subsequently treated with two lines of intrathecal chemotherapy that prolonged survival. **Results:** A 28-year old woman without a significant past medical history was diagnosed with triple-negative invasive ductal carcinoma. Eight months after adjuvant treatment she developed multiple brain metastases and LM developed subsequently 1 month after finishing whole brain irradiation. Initially, she was treated with a combination of methotrexate, cytarabine and dexamethasone intrathecally but after 3 months she presented with a worsening clinical status and increased numbers of cancer cells in cerebrospinal fluid. Subsequently, she received a combination of thiotepa and methotrexate intrathecally, which resulted in a prolonged response lasting 10 months. The patient died 32 months after initial diagnosis and 18 months from LM infiltration due to disease progression in the liver and lungs as well as LM. **Conclusion:** The prognosis of patients with LM remains poor because of the limited effectiveness of currently available therapies; however, intrathecal chemotherapy could substantially prolong survival in selected patients.

Key words

leptomeningeal metastasis – breast cancer – intrathecal treatment – thiotepa

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. Michal Mego, M.D., DrSc.
2nd Department of Oncology
Faculty of Medicine
Comenius University
National Cancer Institute
Klenova 1
833 10 Bratislava, Slovak Republic
e-mail: misomego@gmail.com

Submitted/Obdržané: 7. 11. 2018

Accepted/Prijaté: 29. 11. 2018

doi: 10.14735/amko2018139

Súhrn

Východiská: Leptomeningeálne metastázy (LM) karcinómu prsníka sú asociované s nepriaznivou prognózou. Hoci žiadna randomizovaná štúdia nepotvrdila, že intratekálna liečba predlžuje prežívanie, táto liečba je považovaná za štandard. Prognóza pacientov s LM je nepriaznivá, s mediánom celkového prežívania menej ako 6 mesiacov. **Metódy:** V tejto kazuistike uvádzame prípad mladej ženy s karcinómom prsníka s LM v čase recidívy, liečenej dvoma líniami intratekálnej chemoterapie s predĺženým prežívaním. **Výsledky:** Dvadsaťosemročnej žene bez pozoruhodnej anamnézy bol diagnostikovaný triple-negatívny invazívny duktálny karcinóm. Osem mesiacov po adjuvantnej terapii sa rozvinuli mnohopočetné mozgové metastázy a následne 1 mesiac po ukončení rádioterapie na centrálny nervový systém sa vyvinuli nové LM. Iničiálne bola liečená kombináciou metotrexát, cytarabín a dexametazón intratekálne, ale po 3 mesiacoch u pacientky došlo k zhoršeniu klinického stavu a vzostupu nádorových buniek v likvore. Následne dostala kombináciu tiotepy a metotrexátu intratekálne s predĺžením odpovede v trvaní 10 mesiacov. Pacientka zomrela 32 mesiacov od stanovenia diagnózy a 18 mesiacov od infiltrácie leptomenigov v dôsledku progresie ochorenia v pečeni a pľúcach ako aj v leptomeningoch. **Záver:** Prognóza pacientov s LM zostáva nepriaznivá v dôsledku limitovanej účinnosti súčasne dostupných látok používaných v intratekálnej liečbe, avšak intratekálna chemoterapia by mohla podstatne predĺžiť prežívanie u vybraných pacientov.

Kľúčové slová

leptomeningeálne metastázy – karcinóm prsníka – intratekálna liečba – tiotepa

Introduction

Leptomeningeal metastasis (LM) is defined as the spread of tumor cells within the leptomeninges and the sub-arachnoid space. LM may be diagnosed in approximately 10% of patients with metastatic cancer in the course of disease [1]. The incidence is probably underestimated because of non-specific symptoms and signs, lack of sensitivity to diagnostic procedures and limited therapeutic options. Breast cancer (BC), lung cancer and melanoma represent the three most common causes of LM. Patients with lobular subtype and triple-negative tumors have a relatively higher risk of LM than with other types of BC [2].

Herein, we report a case of a young woman with BC who presented with

LM at the time of relapse and who was subsequently treated with two lines of intrathecal chemotherapy (CHT) with prolonged survival.

Case report

A 28-year old woman without significant past medical history presented with a 2-month history of painless resistance in the left breast. In June 2015, breast ultrasound showed hypoechoic lesion measuring 26 × 19 mm with associated axillary lymphadenopathy. Core-cut biopsy set the diagnosis of triple-negative invasive ductal carcinoma. A staging computed tomography (CT) scan confirmed no metastatic dissemination. In July 2015, subcutaneous mastectomy and axillary dissection were performed

and concluded as stage pT2pN3M0. The patient was treated with four cycles of dose-dense CHT doxorubicin/cyclophosphamide plus paclitaxel and then with adjuvant radiotherapy (RT) on the chest wall and axilla until December 2015.

In August 2016, the patient was admitted with headache and paraneoplastic syndrome of inappropriate anti-diuretic hormone secretion. Cerebral CT and magnetic resonance imaging (MRI) revealed multifocal brain metastases. A restaging CT showed no metastatic dissemination in other parenchymal organs. She received whole brain RT with total dose of 30 Gy. Subsequently, she was readmitted with meningeal syndrome (headache, photosensitivity, rigidity of the occipital muscles) in October 2016. Cerebrospinal MRI confirmed regression of intraparenchymal metastases, but cerebrospinal fluid (CSF) cytology confirmed leptomeningeal infiltration with BC cells ($0.232 \times 10^9/L$) (Fig. 1). For the intrathecal treatment, we used standard dosing of 15 mg methotrexate (MTX), 40 mg cytarabine and 4 mg dexamethasone (DXM) (total of 10 doses, twice a week) and irradiation of spinal cord until December 2016 with clinical improvement and disappearance of symptoms of meningeal irritation. At the time of dismissal, there was persistence of sphincter disorder and mild pain of lumbosacral spine and decrease of cancer cells in CSF to $0.022 \times 10^9/L$.

In January 2017, the patient presented with worsening of clinical status (ce-

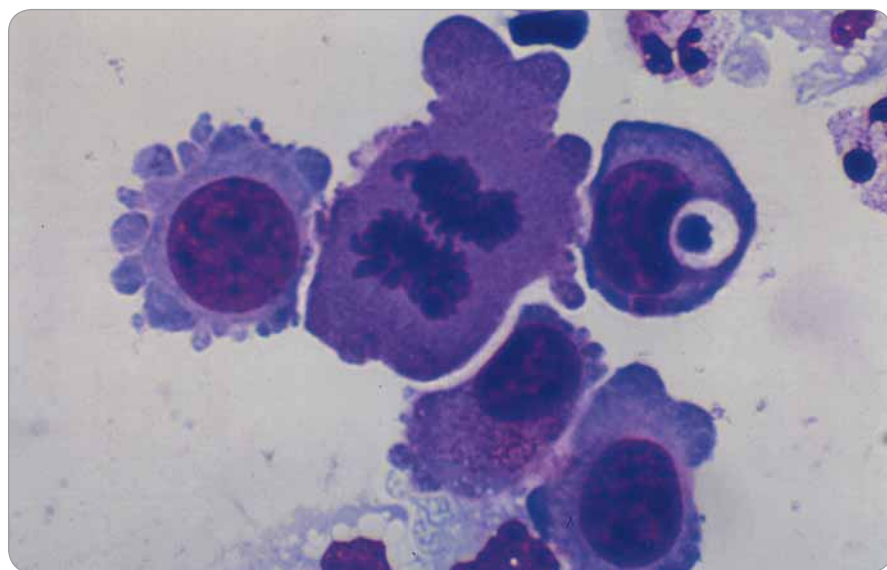


Fig. 1. Cytology in cerebrospinal fluid.

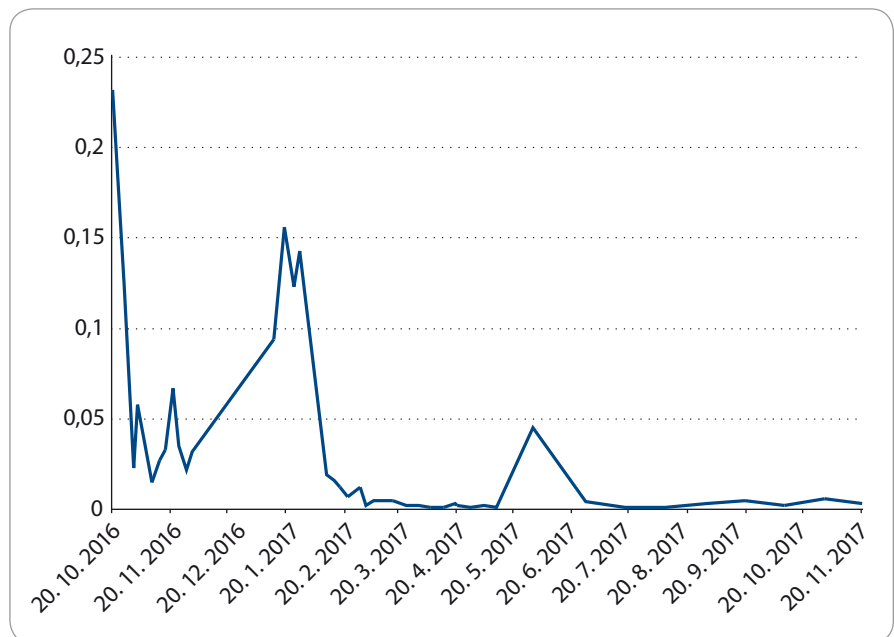
phalea, nausea and vomiting). The lumbar puncture was performed with increase of cancer cells ($0.094 \times 10^9/L$) and elevated proteinorachia (1 664 mg/L, normal range is 150–300 mg/L). The restaging CT confirmed multiple metastases in the liver. After two doses of intrathecal treatment (MTX, cytarabine and DXM), we identified elevated count of cancer elements in CSF ($0.143 \times 10^9/L$); therefore, we decided for administration of thiotepa and MTX in 2nd line. From February until November 2017, 28 doses of 10 mg thiotepa, 10 mg MTX and 4 mg DXM were administered concurrently with systemic CHT (paclitaxel 80 mg/sqm biweekly) due to the metastatic disease in the liver and lungs. In CSF, we observed a decrease of elements already after 3 doses of intrathecal treatment (Graph 1). The last cytomorphology of CSF from November 2017 was clear.

In January 2018, the patient was admitted with paraplegia and pleural effusion gradually with disorder of consciousness. The CT scan confirmed progression of liver and lung metastases. In a consideration of poor performance status, there was no indication for an aggressive approach. The patient died 32 months after initial diagnosis and 18 months after LM infiltration due to disease progression.

Discussion

LM is becoming an increasingly common complication in patients with BC. Moreover, prognosis of patients with LM is poor. There is no standardized therapy for LM because of a lack of randomized trials. The median overall survival (OS) of patients after LM diagnosis does not exceed 6 months [3]. The factors associated with increased survival are Karnofsky performance score ≥ 70 , age > 53 , luminal biological subtype of BC (ER+ PR+ HER2-), systemic therapy, intrathecal therapy and RT [4].

Although no randomized trial has demonstrated that intrathecal CHT prolongs survival in LM patients, intrathecal pharmacotherapy is considered standard of treatment across the world. Four agents are commonly used for the intrathecal treatment of LM –



Graph 1. Kinetics of cancer cells in cerebrospinal fluid ($10^9/L$).

MTX, cytarabine, including liposomal cytarabine, thiotepa and trastuzumab for HER2 positive BC with LM [5,6]. No intrathecal agent has shown a significant survival advantage over another. Toxicities of the various intrathecal agents differed. More mucositis or neurological complications such as headache were observed with MTX than with thiotepa [7]. Similarly to MTX, thiotepa functions as a myelosuppressive agent and therefore should not be used in patients with bone marrow disorders.

There is no specific treatment of LM based on molecular subtype of BC, with the exception of trastuzumab in HER2 positive subtype. In our case, we considered thiotepa as a cell cycle-nonspecific alkylating agent based on activity of alkylating agents in the triple-negative BC [8]. Niwińska et al. [9] in their prospective observational study compared the efficacy of MTX and liposomal cytarabine in patients treated intrathecally. Among treatment methods, only systemic therapy prolonged survival in patients with LM. Neither RT nor lumbar intrathecal therapy influenced survival in those patients; however, both methods alleviated signs and symptoms of LM. No difference in survival was observed in patients treated

intrathecally with MTX and those treated with liposomal cytarabine. Treatment with both drugs was comparable. Boogerd et al. [10] in a randomized study concluded that the addition of intrathecal MTX to standard systemic CHT and RT did not lead to a survival benefit, improved neurologic response in LM patients, but was associated with a substantially increased risk of neurotoxicity. The study by Grossman et al. [7] randomized patients with LM from any solid tumor primary to MTX or thiotepa. Of 52 patients, 25 had BC. The median OS was similar in both treatment arms (15.9 vs. 14.1 weeks). Their results suggested that in patients with LM, no significant difference in median survival or serious toxicity resulted from the use of MTX vs. thiotepa.

Some studies are in progress to expand the drugs for intrathecal CHT to include drugs, such as trastuzumab, for treatment of LM in patients with HER2-positive BC [6]. It was shown that patients with LM show notably high levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) in the CSF, which are associated with the poor prognosis. Chen et al. [11] examined the effect of combined systemic therapy of bevacizumab with etoposide and cisplatin in two patients who showed disease progression after

whole brain RT and intrathecal therapy. Results of this study showed decreased leptomeningeal enhancement, disappearance of cancer cells in CSF. A study by Wu et al. [12] examined the efficacy of this chemotherapeutic regimen in patients with BC and LM. After excluding patients who received previous VEGF-targeted therapies and including patients who received concomitant intrathecal MTX therapy, median OS was 4.7 months and central nervous system response rate 70%.

Conclusion

Prognosis of patients with LM remains poor because of the limited effectiveness of the currently available agents used in intrathecal therapies. The future studies should focus on developing targeted and cytotoxic drugs showing improved blood-brain barrier penetration that may provide a therapeutic advantage in patients with LM. Although there is no consensus on the treatment of LM, division of BC patients according to the different

subtypes could help in administering subtype-specific treatments. This is supported by the differential treatment response of patients with different BC subtypes without LM.

References

1. Chamberlain M, Junck L, Brandsma D et al. Leptomeningeal metastases: a RANO proposal for response criteria. *Neuro Oncol* 2017; 19(4): 484–492. doi: 10.1093/neuroonc/now183.
2. Abouharb S, Ensor J, Loghin ME et al. Leptomeningeal disease and breast cancer: the importance of tumour subtype. *Breast Cancer Res Treat* 2014; 146(3): 477–486. doi: 10.1007/s10549-014-3054-z.
3. Rudnicka H, Nawińska A, Murawska M. Breast cancer leptomeningeal metastasis – the role of multimodality treatment. *J Neurooncol* 2007; 84(1): 57–62. doi: 10.1007/s11060-007-9340-4.
4. Nawińska A, Pogoda K, Michalski W et al. Determinants of prolonged survival for breast cancer patient groups with leptomeningeal metastasis (LM). *J Neurooncol* 2018; 138(1): 191–198. doi: 10.1007/s11060-018-2790-z.
5. Le Rhun E, Weller M, Brandsma D et al. EANO-ESMO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up of patients with leptomeningeal metastasis from solid tumours. *Ann Oncol* 2017; 28 (Suppl 4): iv84–iv99. doi: 10.1093/annonc/mdx221.
6. Mego M, Sycova-Mila Z, Obertova J et al. Intrathecal administration of trastuzumab with cytarabine and methotrexate in breast cancer patients with leptomeningeal carcinomatosis. *Breast* 2011; 20(5): 478–480. doi: 10.1016/j.breast.2011.05.007.
7. Grossman SA, Finkelstein DM, Ruckdeschel JC et al. Randomized prospective comparison of intraventricular methotrexate and thiotepa in patients with previously untreated neoplastic meningitis. Eastern Cooperative Oncology Group. *J Clin Oncol* 1993; 11(3): 561–569. doi: 10.1200/JCO.1993.11.3.561.
8. Sharma P, López-Tarruella S, García-Saenz JA et al. Pathological response and survival in triple-negative breast cancer following neoadjuvant carboplatin plus docetaxel. *Clin Cancer Res* 2018; 24(23): 5820–5829. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-18-0585.
9. Nawińska A, Rudnicka H, Murawska M. Breast cancer leptomeningeal metastasis: the results of combined treatment and the comparison of methotrexate and liposomal cytarabine as intra-cerebrospinal fluid chemotherapy. *Clin Breast Cancer* 2015; 15(1): 66–72. doi: 10.1016/j.clbc.2014.07.004.
10. Boogerd W, van den Bent MJ, Koehler PJ et al. The relevance of intraventricular chemotherapy for leptomeningeal metastasis in breast cancer: a randomised study. *Eur J Cancer* 2004; 40: 2726–2733. doi: 10.1016/j.ejca.2004.08.012.
11. Chen IC, Lin CH, Jan IS et al. Bevacizumab might potentiate the chemotherapeutic effect in breast cancer patients with leptomeningeal carcinomatosis. *J Formos Med Assoc* 2016; 115(4): 243–248. doi: 10.1016/j.jfma.2015.03.005.
12. Wu PF, Lin CH, Kuo CH et al. A pilot study of bevacizumab combined with etoposide and cisplatin in breast cancer patients with leptomeningeal carcinomatosis. *BMCCancer* 2015; 15:299. doi:10.1186/s12885-015-1290-1.

IgG4 sklerozující cholangitida – zánět imitující nádor hlavy pankreatu a cholangiokarcinom

IgG4 Sclerosing Cholangitis – an Inflammation Imitating Tumour of the Pancreas and Biliary Tract

Peňázová P.¹, Andrašina T.², Novotný I.^{1,3}, Trna J.³⁻⁵, Hemmelová B.¹, Kunovský L.^{1,4}, Prochazka V.¹, Kala Z.¹

¹ Chirurgická klinika LF MU a FN Brno

² Klinika radiologie a nukleární medicíny LF MU a FN Brno

³ Gastroenterologické oddělení, Masarykův onkologický ústav, Brno

⁴ Interní gastroenterologická klinika LF MU a FN Brno

⁵ Gastroenterologická ambulance, Nemocnice Boskovice

Souhrn

Východiska: Imunoglobulin (Ig) G4 sklerozující cholangitida je vzácné zánětlivé onemocnění postihující žlučové cesty. Mezi příznaky patří obstrukční ikterus, celková slabost a váhový úbytek. Jedná se o rychle progredující onemocnění, které neléčené vede k jaterní cirhóze a portální hypertenzi, reaguje však dobře na léčbu kortikosteroidy. V laboratorních odběrech je charakteristická elevace hladin jaterních enzymů, bilirubinu, zvýšená koncentrace IgG4 a celkového IgG, někdy bývá zvýšené IgE s eozinofilií či CA 19-9. Jedná se o biliární formu IgG4 asociované nemoci, kdy je také běžné postižení více orgánů a velmi časté je souběžné postižení pankreatické. Je charakterizován atypickým nálezem v zobrazovacích metodách, který společně s klinickým nálezem napodobuje obraz maligního nádorového procesu v oblasti pankreatu a žlučových cest. Zaujímá tak důležitou roli v diferenciální diagnostice karcinomu pankreatu a cholangiokarcinomu, dále i primární sklerozující cholangitidy. **Případ:** Představujeme kazuistiku pacienta hospitalizovaného na našem pracovišti, přijatého původně pro infiltraci hlavy pankreatu. Multioborovou komisí bylo dále vyjádřeno suspicium na Klatskinův tumor a původní obraz pankreatu byl popsán jako autoimunitní pankreatitida. V dalším průběhu nastalo pro atypický obraz cholangiografie podezření na možný IgG4 zánětlivý proces, který rozběhl řetězec dalšího došetřování. **Závěr:** Diagnostika IgG4 sklerozující cholangitidy je komplexní dle tzv. HISORt kritérií, posledním krokem bývá většinou až samotná odpověď na terapii, jako se potvrdilo i v případě daného pacienta. Podstatné je vyloučení maligního nádorového procesu.

Klíčová slova

IgG4 asociovaná nemoc – imunoglobulin G – IgG4 pozitivní plazmatické buňky – sklerozující cholangitida – cholangiokarcinom – nádory slinivky břišní – cholangiografie – prednison

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

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

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

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



doc. MUDr. Jan Trna, Ph.D.
Interní gastroenterologická klinika
LF MU a FN Brno
Jihlavská 20
625 00 Brno
e-mail: jan.trna@seznam.cz

Obdrženo/Submitted: 5. 12. 2018

Přijato/Accepted: 10. 1. 2019

doi: 10.14735/amko2019143

Summary

Background: Immunoglobulin (Ig) G4 associated sclerosing cholangitis is a rare inflammatory disease of the biliary tract. Although it is a very progressive condition, it responds to steroid therapy. IgG4 associated sclerosing cholangitis can mimic pancreatic carcinoma, cholangiocarcinoma, and primary sclerosing cholangitis; therefore, it is very important to obtain a differential diagnosis. IgG4 sclerosing cholangitis is a biliary form of IgG4 related systemic disease, in which affections of more organs is affections of more organs are common, typically biliary form together with pancreatic one. Nonspecific symptoms are obstructive icterus, fatigue, and weight loss. Atypical imaging of the biliary tree and pancreas can be used to distinguish it from other diseases. Laboratory data show elevation of bilirubin, liver enzymes, IgG4 and total IgG concentrations. Sometimes IgE is also elevated with the eosinophilia, oncomarker CA 19-9 and autoimmune antibody is sometimes detected. **Case:** This article presents a case of IgG4 sclerosing cholangitis and its related findings. The patient was initially referred for suspected pancreatic tumour, the presumed diagnosis was later changed to cholangiocarcinoma type 4 with concurrent autoimmune pancreatitis. Atypical imaging in cholangiography made us suspect IgG4 inflammation and the diagnostic process began. **Conclusion:** The diagnosis of this disease uses so called HISORT criteria. It is a very complex process in which the success of steroid therapy as a final step can be conclusive, as it was in our case. It is essential to exclude a malign neoplastic growth.

Key words

IgG4 related systemic disease – immunoglobulin G – IgG4-positive plasma cells – sclerosing cholangitis – cholangiocarcinoma – cancer of pancreas – cholangiography – prednison

Úvod

Imunoglobulin (Ig) G4 sklerozující cholangitida (SC) je vzácné zánětlivé onemocnění postihující žlučové cesty. Jedná se o rychle progredující zánět, který vět-

šinou dobře reaguje na léčbu kortikosteroidy. Častým doprovodným nálezem je autoimunitní pankreatitida či jiný projev systémového IgG4 zánětu [1]. IgG4 SC je charakteristická atypickým nálezem na

zobrazovacích metodách, který napodobuje obraz maligního nádorového procesu v oblasti pankreatu či žlučových cest. Zaujímá tak důležitou roli v diferenciální diagnostice karcinomu pankreatu a cholangiokarcinomu, dále i primární SC.



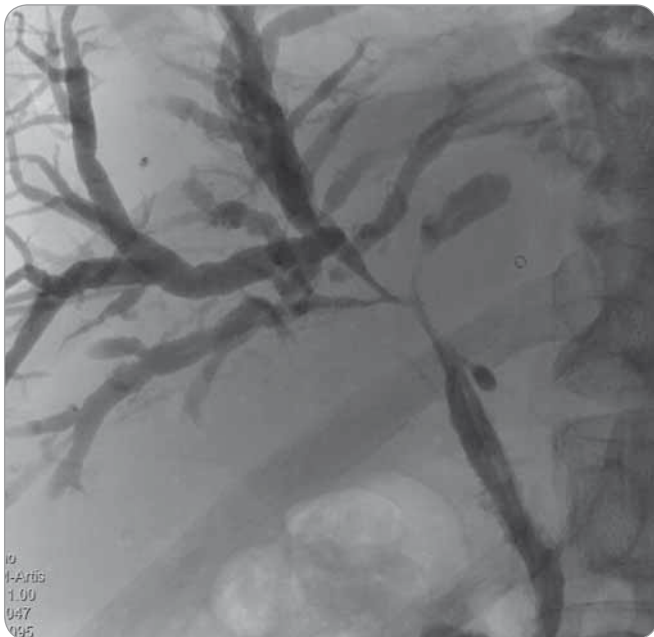
Obr. 1. Capsule-like pancreatic rim – hypodenzní lem žlázy, „klobásovitý pankreas“ (CT vyšetření s aplikací kontrastní látky).

Kazuistika

Do naší péče byl k došetření a event. operaci odeslán 66letý muž pro významný váhový úbytek, obstrukční ikterus a suspektní infiltraci hlavy pankreatu dle vyšetření počítačovou tomografií (computed tomography – CT). Pacient byl v té době recentně po tranzitorní ischemické atace při parciální trombóze pravé vnitřní jugulární žíly, z anamnestických údajů byl dlouholetým „stop-fumátorem“ s minulostí proběhlé odvykací alkoholové léčby, dále bez jiných přidružených onemocnění a bez alergií.

Doplněné endosonografické vyšetření (endoscopic ultrasound – EUS) popsalo netypický obraz infiltrace pankreatu, hypoechogenní ložisko cca 35 mm v hlavě pankreatu, stenotizující ductus choledochus i pancreaticus táhnoucí se do těla pankreatu a v těsném vztahu k mezenterickým cévám a truncus coeliacus.

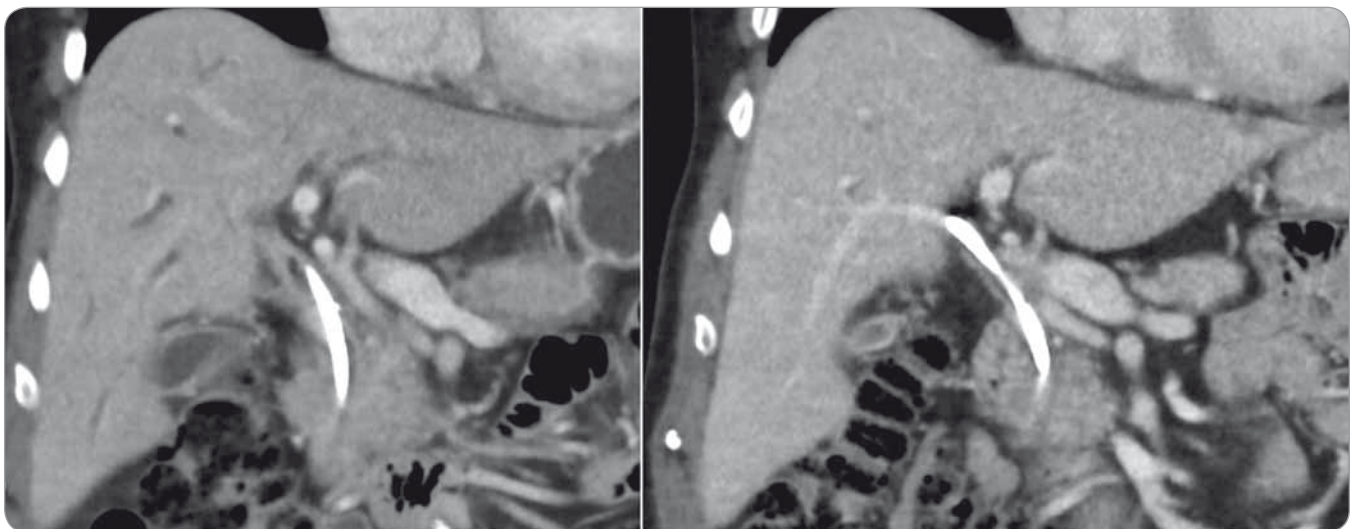
Pro nejasnost a diskrepanci nálezu bylo provedeno další CT vyšetření břicha, které nález hodnotilo jako suspektní Klatskinův tumor typu IV, tedy centrální bifurkační typ cholangiokarcinomu, a postižení pankreatu bylo popsáno jako odpovídající autoimunitní pankreatitidě (obr. 1). Shodný závěr byl stanoven i na mezioborové onkologické



Obr. 2. Cholangiografie – typ IV (stenotizace hilové oblasti).



Obr. 3. Obraz endoskopické retrográdní cholangiopankreatografie – možný typ III (suspektní stenotizace distální porce ductus choledochus)



Obr. 4. CT břicha před a po léčbě kortikosteroidy, koronární řezy.

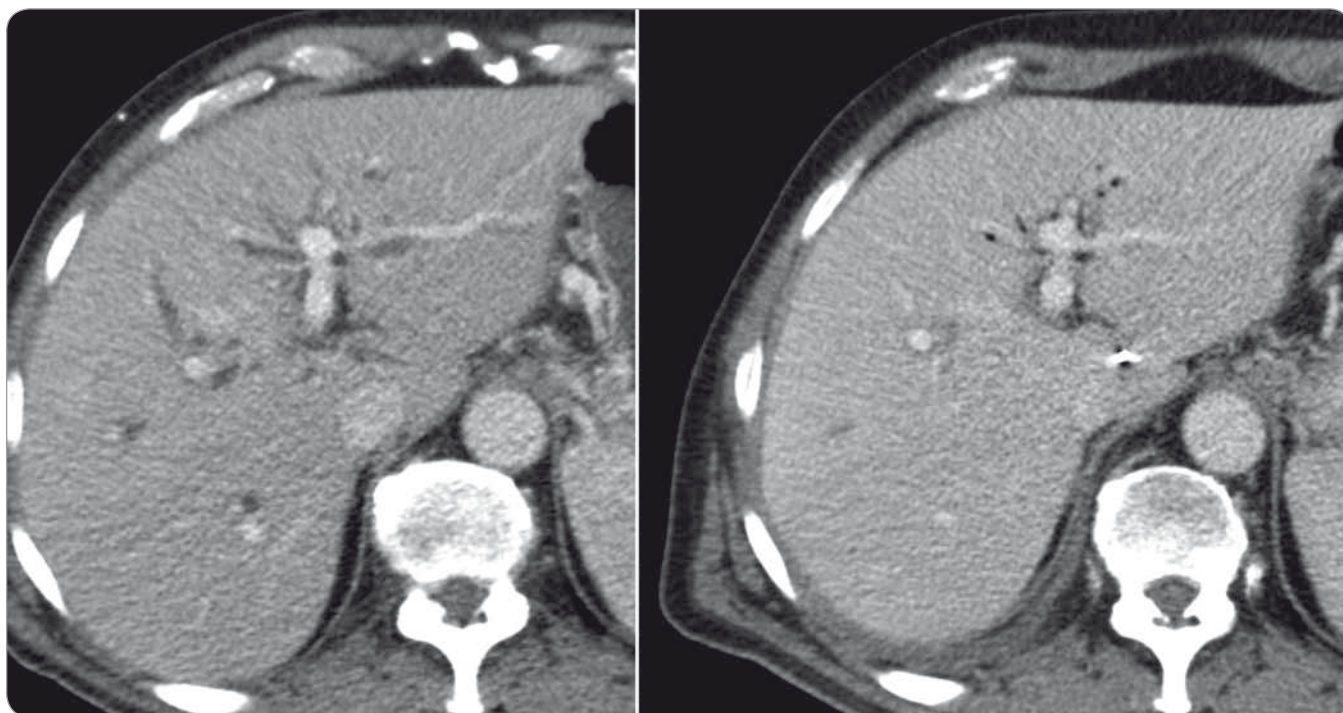
indikační komisi a pacient byl směřován k zajištění žlučových cest drenáží a k získání histologického materiálu. Drenáž žlučových cest byla provedena cestou endoskopické retrográdní cholangiopankreatografie (ERCP) se zavedením duodenobiliárního drénu, klíčková biopsie odebraná při ERCP z hilové oblasti žlučových cest neprokázala malignitu. Dle kontrolního EUS pankreatu obraz chronického zánětu s popisem stenotizace vývodů, provedena aspirační biopsie tenkou jehlou (fine ne-

edle aspiration biopsy – FNAB) slinivky, z které vyšel nález odpovídající chronické fibroproduktivní pankreatitidě, imunohistochemicky bylo vyšetření pro nedostatek materiálu nevytěžné, s nálezem pouze ojedinělých plazmatických buněk.

V mezidobí byly provedeny výměny duodenobiliárního drénu, pro nedostatečnou drenáž byla zavedena perkutánní transhepatická drenáž (PTD). Při kontrolním nástřihu PTD bylo radiologem vysloveno podezření na IgG4 SC,

a to pro atypický obraz cholangiografie (současné zúžení žlučovodů ve větvení, nerovnosti na ductus choledochus, nápadné lymfatické cévy) v souvislosti s nálezem na předchozích vyšetřeních (obr. 2, 3). Byl proveden odběr hladiny IgG4 a IgG v séru k diferenciální diagnostické rozvaze.

Vstupní laboratorní parametry při přijetí byly bilirubin 170 $\mu\text{mol/l}$, alaninaminotransferáza (ALT) 2 $\mu\text{kat/l}$, aspartátaminotransferáza (AST) 2,9 $\mu\text{kat/l}$, gama-glutamyltransferáza (GGT) 16,5 $\mu\text{kat/l}$,



Obr. 5. CT břicha před a po léčbě kortikosteroidy, transverzální řezy.



Obr. 6. Regrese nálezu na pankreatu a ductus choledochus po léčbě kortikosteroidy.

alkalická fosfatáza (ALP) 14 μ kat/l, alfa-amyláza (AMS) 0,64 μ kat/l, CA 19-9 153 kU/l; antimitochondriální protilátky (anti-mitochondrial antibodies – AMA), protilátky proti hladkému svalu (anti-smooth muscle antibodies – ASMA), autoprotilátky proti mikrozomům jater a ledvin (liver kidney microsomes autoantibodies – anti-LKM) negativní, antinukleární protilátky (ANA – antinuclear antibody) pozitivní, CEA 1,08 μ g/l negativní, AFP 1,1 kU/l negativní. Do-

plněné IgG4 bylo > 2,6 g/l (pozitivní hodnota při hladině \geq 1,35 g/l) a celkové IgG > 16,6 g/l (referenční mez je 5,4–16,3 g/l).

Výstupní hodnoty při propuštění byly bilirubin 22,1 μ mol/l, ALT 0,34 μ kat/l, AST 0,48 μ kat/l, GGT 3,02 μ kat/l, ALP 3,87 μ kat/l. Pacient byl předán do péče gastroenterologů ke sledování a zahájení terapie, počátek léčby kortikosteroidy byl však odložen po odeznění intermitentní cholangitidy a po vyřešení biliárního fluidothoraxu, který nastal jako komplikace PTD.

K doplnění časového přehledu diagnostického období je podstatné, že vyslovení podezření na IgG4 SC nastalo asi 2 týdny po převzetí pacienta do péče. Za 2 měsíce poté byla zahájena steroidní terapie nasazením prednisonu v dávce 40 mg/den na 14 dní. Dále se pokračovalo 30 mg/den dalších 14 dní a poté se dávka snížila na 20 mg/den.

Po 6 týdnech užívání došlo k poklesu bilirubinu na 10,9 μ mol/l, hodnot ALT na 3,15 μ kat/l a AST na 1,38 μ kat/l, C-reaktivní protein (CRP) a krevní obraz byly v normě.

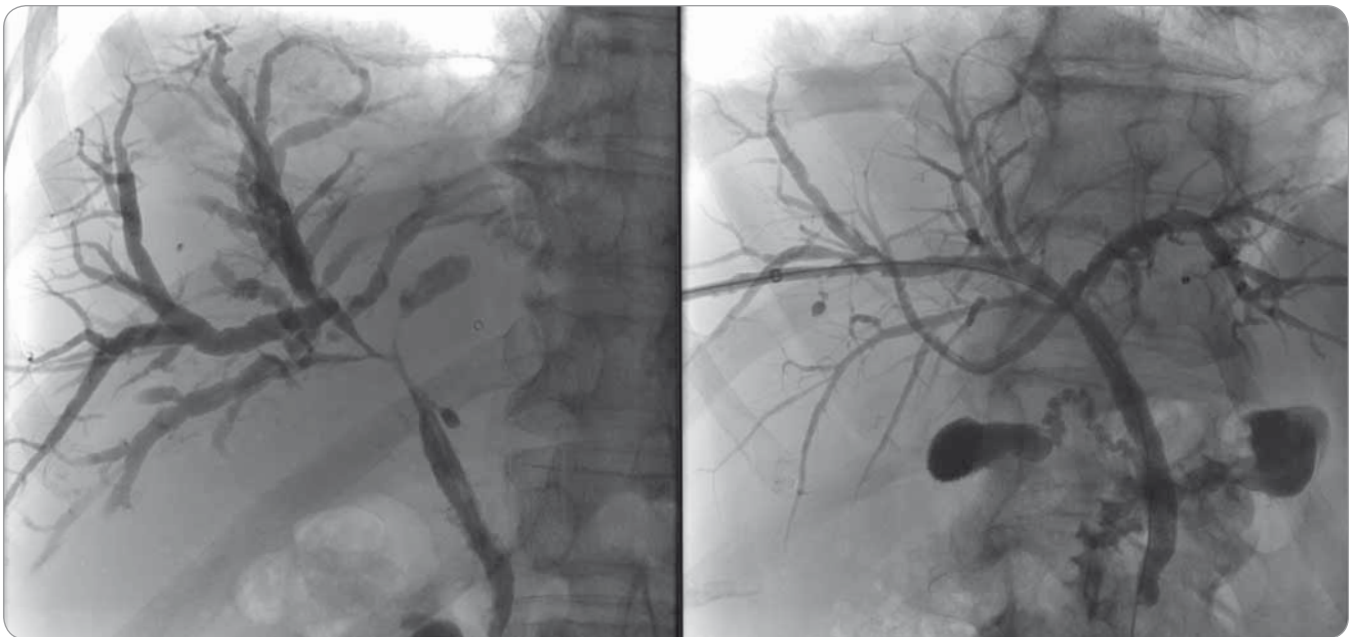
Po necelých 8 týdnech steroidní léčby bylo provedeno kontrolní CT s nálezem regrese, popsán ústup dilatace intrahe-

patických žlučových cest, původní zvýšené sycení stěny žlučovodu jen naznačené a úplná normalizace nálezu na pankreatu, bez ložiskové expanze (obr. 4–6). Vedlejším nálezem při průběhu PTD byla hypodenzní area s dvěma se vykreslujícími mikroabscesy.

Kontrolní cholangiografie přes PTD byla s většinou normalizací žlučových cest, s ojedinělými zúženými úseky a lehce prostornější periferií, dále popsaný volně průchodný ductus choledochus a obvyklý obraz žlučníku (obr. 7, 8). Vzhledem k dobrému vyprazdňování kontrastní látky byla zavedena již jen zajišťovací cévka, která se s krátkým časovým odstupem mohla extrahovat.

Po 12 týdnech terapie nastal další pokles bilirubinu na 8,2 μ mol/l, ALT na 1,42 μ kat/l a AST na 0,67 μ kat/l, prednison v dávce 20 mg/den.

Po 16 týdnech se projevil obraz postupné normalizace, celkový bilirubin 9,2 μ mol/l, ALT 0,94 μ kat/l, AST 0,80 μ kat/l, GGT 1,42 μ kat/l, ALP 1,20 μ kat/l, AMS 1,49 μ kat/l, Leu 8,3, CRP < 1. Prednison na dalším snížení se střídáním dávek 20 a 10 mg/den, dochází k úplné normalizaci jaterních testů a bilirubinu, onkormarkery CEA, AFP, CA 19-9 po léčbě negativní. Po 10 měsících od počátku léčby



Obr. 7. Cholangiografie před a po léčbě kortikosteroidy.

trvá příznivý klinický a objektivní stav, prednison již jen v dávkách 10 a 5 mg střídavě s plánem zavedení 5 mg/den jako udržovací dávky.

Diskuze

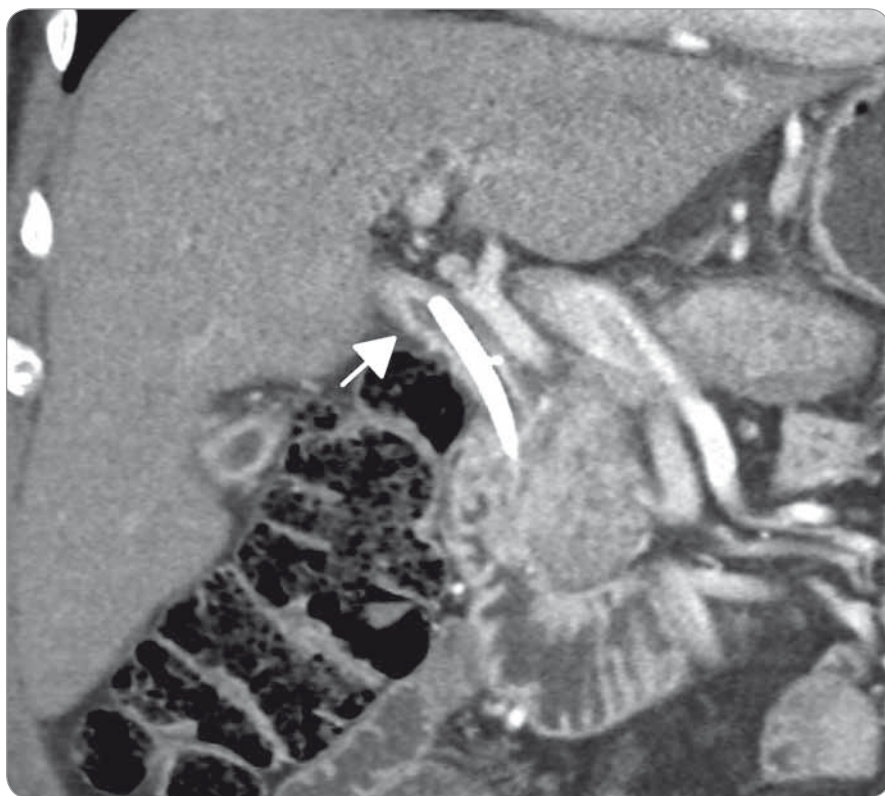
IgG4 SC je zánětlivé fibrotizující onemocnění projevující se obstrukčním ikterem při stenotizaci žlučových cest, celkovou slabostí a úbytkem na váze. Jde o rychle progredující onemocnění, které neléčené vede k jaterní cirhóze a portální hypertenzi. V laboratorních parametrech dominuje elevace hladin jaterních indikátorových, cholestatických enzymů a bilirubinu, zvýšená koncentrace IgG4 (v 70 %), popř. i celkové IgG, ve 40 % i zvýšené IgE s eozinofilií [1,2]. Někdy bývá zvýšena hladina karbohydrátového antigenu CA 19-9. Z autoprotilátek mohou být pozitivní protilátky ANA, a to až v 50 % [3]. Typicky je toto onemocnění asociované s autoimunitní pankreatitidou (AIP) I. typu (v 70–80 %) [1,4,5] a ve 40–60 % také s bronchiálním astmatem či atopickou dermatitidou [3]. IgG4 SC se vyskytuje častěji u mužů, ve věku > 50 let (s mediánem 62 let) [1]. Predispozicí jsou japonské a korejské HLA haplotypy, incidence je tedy nejvyšší v Asii, přesněji je zmapována pouze v Japonsku, kde je 1,4 na 100 000 obyvatel, s prevalencí 4,6 na 100 000 obyvatel [6].

Nejdříve se předpokládalo, že IgG4 SC je podtypem primární sklerotizující cholangitidy (PSC), ale s ohledem na od-

lišnosti zahrnující jiné věkové rozpětí, absenci souvislosti s nespecifickými střevními záněty, jiné spektrum autopro-



Obr. 8. Cholangiografie přes perkutánní transhepatický drén po léčbě kortikosteroidy.



Obr. 9. Zesílení stěny ductus choledochus, duodenobiliární drén *in situ* (CT vyšetření s aplikací kontrastní látky, koronární rekonstrukce).



Obr. 10. Zesílení stěny žlučníku (CT vyšetření s aplikací kontrastní látky, transverzální řez).

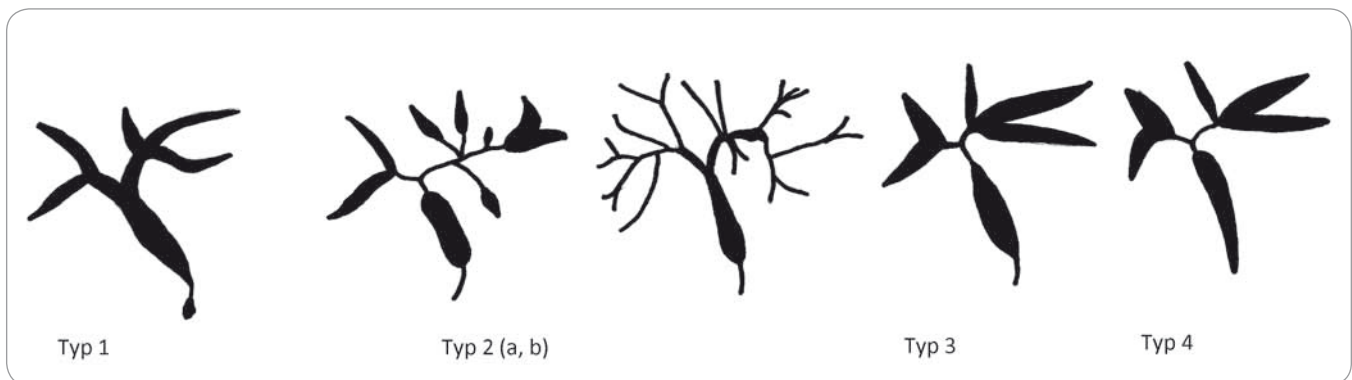
tilátek a typickou spojitost mezi IgG4 SC a zvýšenou hladinou IgG4 se od tohoto předpokladu ustoupilo. Převažuje názor, že se jedná o biliární formu IgG4 asociované nemoci (IgG4 related disease – IgG4 RD).

IgG4 RD je systémové fibrosklerozující onemocnění spojené se zvýšenou hladinou IgG4. Nejčastěji postihuje pankreas, žlučové cesty, slinné žlázy, ledviny, plíce, dýchací cesty a retroperitoneum, dále lymfatické uzliny, slzné žlázy, štítnou žlázu, prostatu a také mléčnou žlázu [7]. Toto onemocnění bylo definované v letech 2000–2005 a patří do něho již dříve popisované syndromy jako Mikulicův syndrom, Riedelova tyreoiditida, Küttnerův tumor a morbus Ormond.

Patogeneze IgG4 RD není plně objasněna, ale podkladem je jistě imunitní proces. Nebyly zatím nalezeny žádné specifické autoantilátky. Mezi častěji zvýšené a spojené s AIP patří ANA, anti-karbonanhydráza (aCA) a anti-laktoferrin (aLf) protilátky. Zvýšená hladina IgG4 v séru a ve tkáni je nejspíše vyvolaná recruitmentem IgG4 plazmocytů při zvýšené hladině cytokinů, především transformujícího růstového faktoru a interleukinu 10 (IL-10), produkovaných při chronickém zánětu. Nejpodstatnějším jevem je převaha imunitních dějů na bázi T helper 2 a T regulačních lymfocytů. Tento imunologický vzorec je stejný u alergií typu bronchiálního astmatu a atopického ekzému, s kterými se navíc choroba často pojí, jak bylo již zmíněno výše. Předpokládá se, že patogeneze tedy vzniká při chronické expozici mikrobiálním či nemikrobiálním antigenům [8].

Diagnostika IgG4 SC je komplexní a řídí se podle HISORT kritérií – sestává z jednotlivých úkonů od stanovení histologie vč. imunohistochemie (Histology) přes zobrazovací metody (Imaging), sérologické odběry (Serology), zhodnocení postižení dalších orgánů, která jsou typická pro IgG4 RD (Other organ involvement), a na závěr odpověď na terapii (Response to steroid therapy), která se může stát i tím posledním zásadním krokem ke stanovení konečné diagnózy [1].

V histologickém obraze získaného vzorku žlučových cest či jejich blízkého okolí dominuje lymfocyto-plaz-

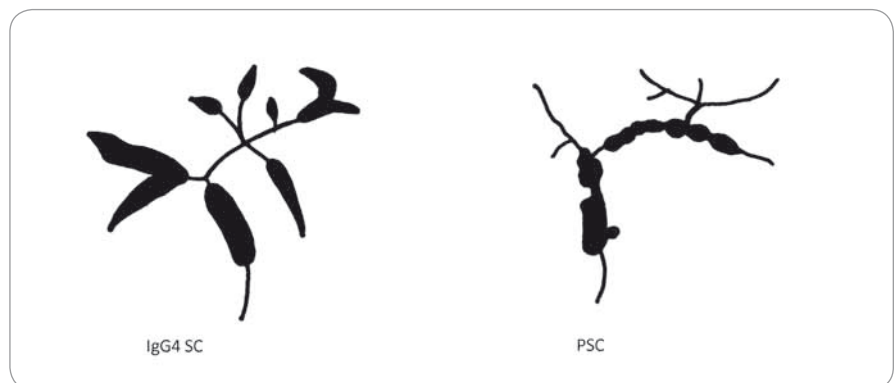


Obr. 11. Typy postižení žlučových cest, cholangiografie (upraveno dle [13]).

mocytární infiltrát, obliterující flebitida a fibrotické změny. Při imunohistochemickém barvení je průkazná přítomnost > 10 IgG4 pozitivních buněk na zorné pole u bioptického vzorku a > 50 IgG4 pozitivních buněk na pole ve tkáni resekátu. Průkazný je také poměr $\text{IgG4/IgG} > 40\%$. Limitací však může být nerovnoměrná distribuce IgG4 pozitivních buněk, nedostatečný vzorek tkáně a fenotyp fibrózy, které činí histologické vyšetření obtížným a poměrně často v konečném výsledku ne zcela výtěžným [9,10].

Obraz u IgG4 SC bývá víceméně atypický, v diferenciální diagnostice při podezření na nádorové onemocnění pankreatu či žlučových cest by se mělo na tuto skutečnost pamatovat. Dalším důležitým vodítkem je spojitost mezi IgG4 SC a AIP zmiňovaná výše, příp. současné postižení jiných orgánů. K radiodiagnostice se užívá standardně CT vyšetření a vyšetření magnetickou rezonancí (magnetic resonance imaging – MRI), dále cholangiografie – ať již méně častá MRI cholangiografie, tak klasická ERCP, anebo zobrazení cestou PTD, pokud je tato již zavedená.

U IgG4 SC na CT zobrazení je nápadné zesílení a difúzní sycení stěny žlučových cest vč. stěny žlučníku (obr. 9, 10), dále častá současná přítomnost AIP. Ta má typický obraz – difúzní nebo segmentární zvětšení slinivky se ztrátou lobulární struktury. Až u 70 % pacientů je postižena celá žláza, u 30 % pacientů je postižení jen fokální. Charakteristický je obraz „klobásovitého“ tvaru žlázy s vyhlazeným okrajem u 40–60 % pacientů (obr. 1). V postižených částech je patrné



Obr. 12. Možné rozdíly cholangiografie u imunoglobulinu G4 sklerozující cholangitidy a primární sklerotizující cholangitidy (upraveno dle [13]).

zúžení pankreatického vývodu s nepravidelnou stěnou, často přesahující délkou postižení třetinu vývodu. Dalším typickým znakem je fibróza a phlebitis obliterans týkající se malých a středních žil. Tyto změny jsou pak podkladem opožděného sycení postiženého parenchymu až v 90 % případů. Kolem slinivky může být přítomný hypodenzní lem odpovídající infiltraci okraje zánětlivými buňkami (12–40 % pacientů). Nikdy nejsou přítomné známky infiltrace cév, kalcifikace vzácně (18 % případů).

Na MRI vyšetření je slinivka T1 hypointenzní, na T2 lehce hyperintenzní. Na postkontrastních zobrazeních lze sledovat typicky opožděné sycení žlázy, v jejím okolí se nachází T1 a T2 hypointenzní lem. Na magnetické rezonanční cholangiopankreatografii je přítomno difúzní nebo segmentární zúžení a nepravidelnosti hlavního ductu. Není přítomno rozšíření vývodu před stenotickým úsekem. Typické jsou i extrapancreatické příznaky, postižení žlučových cest charakteristické stenózami se nachází až

v 68–88 % případů. Velmi vzácným nálezem jsou pseudocysty a změny v peripankreatické tukové tkáni. Po léčbě se morfologie pankreatu a zúžení ductu normalizuje, v některých případech pak zůstává po léčbě atrofie. V diferenciální diagnóze nám může pomoci sledování morfologie žlázy a ductu. V případě, že nad stenózou vývodu je ductus dilatován a je přítomna atrofie žlázy, pravděpodobně se jedná o karcinom. U autoimunní pankreatitidy se navíc lymfadenopatie peripankreaticky nachází vzácně, naopak u karcinomu je častá [11,12].

U cholangiografie se rozlišují čtyři základní typy postižení žlučových cest (obr. 11). Typ 1 popisuje stenotizaci v místě intrapancreatické části ductus choledochus, tento typ vidáme u nádorů hlavy pankreatu. U typu 2 jsou stenotizace žlučových cest intrahepatálně, jako u PSC, je možná také multifokální kombinace s postižením extrahepatálních žlučovodů. Typ 3 kombinuje první a druhý typ (obr. 3). Naopak u typu

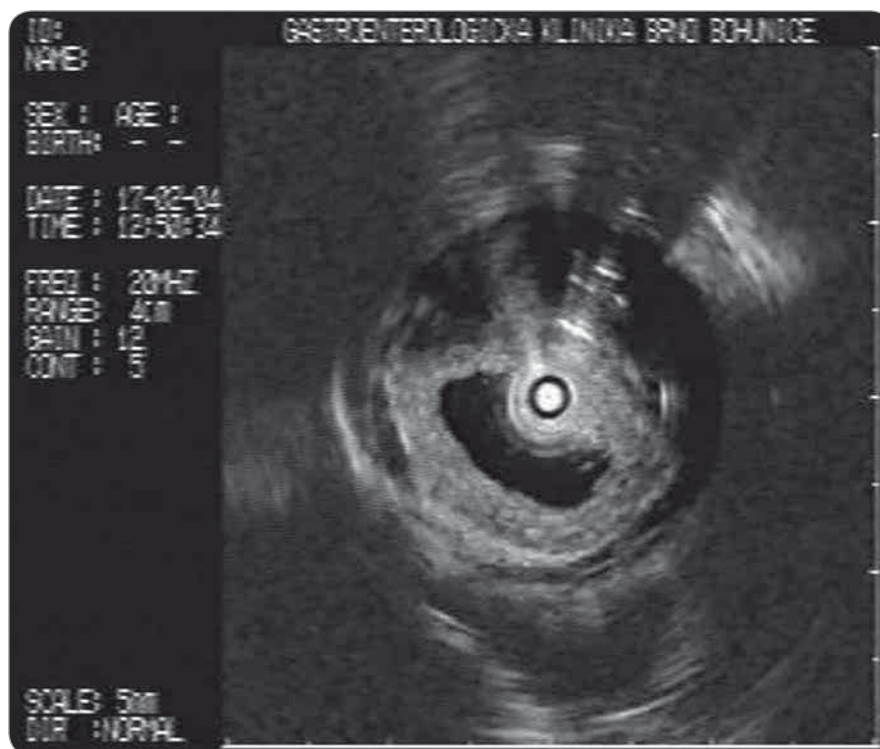
4 jsou stenotizace v oblasti hilu jaterního – zúženy jsou proximální extrahepatální cesty charakteristické pro cholangiocarcinom (obr. 2) [13]. IgG4 SC nemá specifický obraz, může napodobovat všechny typy, jelikož může postihnout kteroukoli část žlučového stromu, často bývají prodloužené striktury multifokálně se střední dilatací před stenotizací a s intra-pankreatickým zúžením z postižení pankreatu [3]. Jsou popsány některé rozdíly mezi obrazem IgG4 SC a PSC (obr. 12), ale nejsou spolehlivé.

Další metodou zobrazení pomocí endoskopie kromě ERCP je EUS a intraduktální sonografie. V ultrazvukovém zobrazení má žlučovod postižený IgG4 cholangitidou zesílenou stěnu. V lokalitách bez stenotizace síla stěny přesahuje 0,8 mm, vnější i vnitřní kontura stěny je zachovalá, ostrá, echogenita stěny je homogenní a vyšší než obvykle bývá při infiltraci cholangiocarcinomem. V takovém případě by navíc stěna choledochu v úsecích mimo infiltraci nepřesahovala 0,8 mm (obr. 13).

Zvýšené IgG4, podle kterého se nemoc nazývá, je při hladině $> 1,4$ g/l a může být doprovázené hypergamaglobulinemií (> 16 g/l). Hladina IgG4 je specifičtější při nárůstu $> 5,6$ g/l, protože obecně může být vyšší i u jiných zánětů, nebo dokonce u maligních onemocnění [14,15], či naopak bývá elevována u 5 % zdravých jedinců. Dále může být zvýšené IgE a eozinofilie [3].

Terapie kortikosteroidy může být i posledním stupněm potvrzení diagnózy. Před jejím nasazením by měla být v rámci možností vyloučena maligní příčina. Již po 4–6 týdnech léčby by měl být patrný efekt léčby jako pokles jaterních testů, bilirubinu, IgG4 a regrese nálezu na zobrazovacích metodách.

Existuje více modelů nastavení léčby, podle jednoho se podává prednison 40 mg/den po dobu 4 týdnů, následně se pokračuje udržovací dávkou 5 mg 1× týdně či 1× za 2 týdny, dle odpovědi. Relaps je poměrně častý, udává se až v 54 % případů, jeho prevencí jsou nízké udržovací dávky prednisonu nebo imunomodulační léčby jako azathioprin a mykofenolát mofetil. V případě relapsu se nasazují vyšší dávky či např. biologická léčba anti-CD20 rituximabem [1,3].



Obr. 13. Intraduktální sonografické zobrazení choledochu – difúzně zesílená stěna, homogenní, vyšší echogenity, ostré kontury stěny (pozn.: jiný pacient).

Závěr

Klinický obraz, věk, pohlaví, zjištěné laboratorní hodnoty, atypická cholangiografie a současná přítomnost AIP odpovídaly u našeho pacienta charakteristikám IgG4 SC. Následovalo potvrzení zvýšenou hladinou IgG4 a hraničním celkovým IgG, a především v závěru pozitivní odpovědí na léčbu kortikosteroidy. Z HISORT kritérií byla většina potvrzena, jen histologický parametr ne, což bylo nejspíše na bázi nedostatečného vzorku tkáně či na podkladě nerovnoměrné distribuce IgG4 buněk.

Za úvahu týkající se záchytu onemocnění stojí možnost plošného odebrání IgG4 protilátek ze séra, které však nemá dostatečnou diagnostickou hodnotu. Diagnostika tohoto onemocnění je mnohem komplexnější. Větší podezření na IgG4 SC může nastat při postižení dalších orgánů upozorňujícím tak na systémovou formu IgG4 RD.

Při atypickém obraze pankreatu na zobrazovacích metodách a nevysvětlené obstrukci žlučových cest je důležité v rámci diferenciální diagnostiky myslet na IgG4 SC, avšak ne na úkor oddalování léčby případného maligního procesu,

který je naopak třeba vstupně vyloučit. Naše kazuistika je příkladem tohoto postupu.

Literatura

1. Ghazale A, Chari ST, Zhang L et al. Immunoglobulin G4-associated cholangitis: clinical profile and response to therapy. *Gastroenterology* 2008; 134(3): 706–715. doi: 10.1053/j.gastro.2007.12.009.
2. Culver EL, Sadler R, Bateman AC et al. Immunoglobulin E, eosinophils and mast cells in atopic individuals provide novel insights in IgG4-related disease. *J Hepatol* 2016; 64(2): S646. doi: 10.1016/S0168-8278(16)01206-X.
3. Culver EL, Barnes E. IgG4-related sclerosing cholangitis. *Clin Liver Dis* 2017; 10(1): 9–16. doi: 10.1002/cld.642.
4. Muhi A, Ichikawa T, Motosugi U et al. Mass-form in g autoimmune pancreatitis and pancreatic carcinoma: differential diagnosis on the basis of computed tomography and magnetic resonance cholangiopancreatography, and diffusion-weighted imaging findings. *J Magn Reson Imaging* 2012; 35(4): 827–36. doi: 10.1002/jmri.22881.
5. Nishino T, Toki F, Oyama H et al. Biliary tract involvement in autoimmune pancreatitis. *Pancreas* 2005; 30(1): 76–82.
6. Kanno A, Masamune A, Okazaki K et al. Nation wide epidemiological survey of autoimmune pancreatitis in Japan in 2011. *Pancreas* 2015; 44(4): 535–539. doi: 10.1097/MPA.0000000000000325.
7. Dítě P, Trna J, Kinkor Z et al. Unusual multiorgan immunoglobulin G4 inflammation: autoimmune pancreatitis, mikulicz syndrome and IgG4 mastitis. *Gut Liver* 2013; 7(5): 621–624. doi: 10.5009/gnl.2013.7.5.621.
8. Webster GJ, Pereira SP, Chapman RW. Autoimmune pancreatitis/IgG4-associated cholangitis and primary sclerosing cholangitis – overlapping or separate

diseases? *J Hepatol* 2009; 51(2): 398–402. doi: 10.1016/j.jhep.2009.04.010.

9. Deshpande V, Zen Y, Chan JK et al. Consensus statement on the pathology of IgG4-related disease. *Mod Pathol* 2012; 25(9): 1181–1192. doi: 10.1038/modpathol.2012.72.
10. Bateman AC, Culver EL. IgG4-related disease – experience of 100 consecutive cases from a specialist centre. *Histopathology* 2017; 70(5): 798–813. doi: 10.1111/his.13136.
11. Trna J, Kala Z (eds). *Klinická pankreatologie*. 1. vyd. Praha: Mladá fronta 2016.
12. Hur BY, Lee JM, Lee JE et al. Magnetic resonance imaging findings of the mass-forming type of autoimmune pancreatitis: comparison with pancreatic adenocarcinoma. *J Magn Reson Imaging* 2012; 36(1): 188–197. doi: 10.1002/jmri.23609.
13. Ohara H, Okazaki K, Tsubouchi H et al. Clinical diagnostic criteria of IgG4-related sclerosing cholangitis 2012. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2012; 19(5): 536–542. doi: 10.1007/s00534-012-0521-y.
14. Mendes FD, Jorgensen R, Keach J et al. Elevated serum IgG4 concentration in patients with primary sclerosing cholangitis. *Am J Gastroenterol* 2006; 101(9): 2070–2075. doi: 10.1111/j.1572-0241.2006.00772.x.
15. Dítě P, Novotný I, Lata J et al. Autoimunitní pankreatitida a IgG4 pozitivní sklerotizující cholangitida. *Vnitř Lék* 2011; 57(3): 254–257.

STUDIO MEDICÍNA

Diskusní televizní pořad redakce Terapie

Aktuálně vysíláme:

KREV JAKO POLITICKÁ PRIORITA EU

Anémie, ztráta krve a transfuze jsou tři nezávislé rizikové faktory ovlivňující výsledky chirurgické léčby. Měla by být „kondice krve“ dlouhodobě systematicky sledována praktickými lékaři? A proč Evropská komise doporučuje zavést ve všech státech EU koncept „patient blood management“?

Hosté: prof. Miroslav Ryska, MUDr. Dagmar Seidlová, MUDr. Petr Šonka



Premiéra každý měsíc na PRAHA TV (celostátně v síti O2 TV a UPC anebo v Praze a Středočeském kraji na kanále 46 v rámci regionálního multiplexu bezplatného pozemního digitálního vysílání)



Reprízy každý den v různých časech anebo kdykoli na internetu prahatv.eu

**V archivu ke zhlédnutí
mimo jiné:**

**VIROVÉ HEPATITIDĚ
C BRZY ODZVONÍ**
Šíření nemoci by podle plánu WHO mělo být do roku 2030 globálně zcela zastaveno

**PNEUMOKOK
JE SKRYTÝ ZABIJÁK**
I proto mají senioři očkování zdarma – ale nevyžívají jej...

Aktuality z odborného tisku

Comparison of an Oral Factor Xa Inhibitor With Low Molecular Weight Heparin in Patients With Cancer With Venous Thromboembolism – Results of a Randomized Trial (SELECT-D)

Young AM, Marshall A, Thirlwall J et al.

J Clin Oncol 2018; 36(20): 2017–2023. doi: 10.1200/JCO.2018.78.8034.



Venózní tromboembolická nemoc (venous thromboembolism – VTE) je u pacientů se zhoubnými nádory častým onemocněním. Standardní léčbou pro tyto pacienty je dlouhodobé podávání subkutánního nízkomolekulárního heparinu. V této multicentrické, randomizované, otevřené, pilotní studii byli zařazeni pacienti s aktivním karcinomem, kteří prodělali symptomatickou plicní embolii, náhodnou plicní embolii nebo symptomatickou proximální hlubokou žilní trombózu. Následně pak byli léčeni dalteparinem (200 IU/kg denně 1. měsíc, poté 150 IU/kg denně po dobu 2–6 měsíců) nebo rivaroxabanem (15 mg 2× denně po dobu 3 týdnů, poté 20 mg 1× denně po dobu celkem 6 měsíců). Primárním cílem byla recidiva VTE po dobu 6 měsíců. Bezpečnost byla hodnocena na základě existence závažného krvácení a klinicky relevantního nevýznamného krvácení. Do každé skupiny bylo náhodně rozděleno 203 pacientů, z nichž 58 % mělo metastatické onemocnění. Dvacet šest pacientů prodělalo recidivující VTE (dalteparin, n = 18; rivaroxaban, n = 8). Šestiměsíční kumulativní míra recidivy VTE byla 11 % (95% CI 7–16) s dalteparinem a 4 % (95% CI 2–9) s rivaroxabanem (HR 0,43; 95 % CI 0,19–0,99). Šestiměsíční kumulativní míra závažného krvácení byla 4 % (95% CI 2–8) pro dalteparin a 6 % (95% CI 3–11) pro rivaroxaban (HR 1,83; 95% CI 0,68–4,96). Odpovídající míra nezávažného krvácení byla 4 % (95% CI 2–9) a 13 % (95% CI 9–19) (HR 3,76; 95% CI 1,63–8,69). Rivaroxaban byl v této studii spojen s relativně nízkou recidivou VTE, ale vyšším rizikem klinicky relevantního nezávažného krvácení ve srovnání s dalteparinem.

Microsatellite Instability Is Associated With the Presence of Lynch Syndrome Pan-Cancer

Latham A, Srinivasan P, Kemel Y et al.

J Clin Oncol 2019; 37(4): 286–295. doi: 10.1200/JCO.18.00283.



Testování mikrosatelitové nestability (microsatellite instability – MSI) a jejich defektů (mismatch repair deficiency – MMR-D) je tradičně prováděno u pacientů s kolorektálním karcinomem a karcinomem endometria v rámci screeningu Lynchova syndromu (LS). Průkaz efektivity imunoterapie u nádorů s vysokou frekvencí MSI (MSI with high-frequency – MSI-H) a/nebo MMR-D nyní podporuje testování MSI u všech pokročilých solidních nádorů. V této analýze byl hodnocen stav MSI za použití cíleného sekvenování další generace, přičemž tumory byly klasifikovány jako MSI-H, MSI-ndeterminate nebo mikrosatelitně stabilní. Odpovídající zárodečná DNA byla analyzována na mutace v LS asociovaných genech (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, EPCAM). U pacientů s LS s nádory MSI-H/I bylo provedeno imunohistochemické barvení MMR-D. U 15 045 pacientů s > 50 typy zhoubných nádorů byl LS identifikován u 16,3 % (53 z 326) pacientů s MSI-H, u 1,9 % (13 z 699) MSI-intermediate pacientů a u 0,3 % (37 z 14 020) pacientů s tumory mikrosatelitně stabilními pro mikrosatelity ($p < 0,001$). U pacientů s LS s nádory MSI-H/I mělo 50% (33 z 66) nádory jiné než kolorektální či endometroidní karcinom, a to např. uroteliální karcinom, karcinom prostaty, pankreatu, adrenokortikoidní, tenkého střeva, sarkom, mezoteliom, melanom, karcinom žaludku a zhoubné nádory ze zárodečných buněk. U pacientů, kteří neměli kolorektální ani endometroidní karcinom, 45 % (15 z 33) nesplňovalo kritéria genetického testování pro LS na základě osobní nebo rodinné anamnézy. Imunohistochemické barvení LS pozitivních nádorů MSI-H/I prokázalo MMR-D v 98,2 % (56 z 57) případů. MSI-H/MMR-D je tak prediktivní pro LS napříč mnohem širším spektrem malignit, než bylo dosud známo. Tyto údaje podporují genetické testování LS u pacientů s nádorem MSI-H/MMR-D bez ohledu na typ zhoubného nádoru či rodinnou anamnézu.

Risk of Cancer in Infertile Women – Analysis of Us Claims Data

Murugappan G, Li S, Lathi RB et al.

Hum Reprod 2019; pii: dez018. doi: 10.1093/humrep/dez018.



V retrospektivní analýze, zaměřené na hodnocení rizika vzniku zhoubných nádorů, byl v letech 2003–2016 hodnocen vztah infertility ke vzniku zhoubných nádorových onemocnění. Neplodné ženy jsou dle předchozích výzkumů vystaveny vyššímu riziku vzniku hormonosenzitivních nádorů. Informace o riziku vzniku negynekologických malignit jsou vzácné a protichůdné a efekt těhotenství na tyto asociace rizik je znám pouze u menšiny typů zhoubných nádorů. Celkově bylo porovnáno 64 345 neplodných žen s 3 128 345 plodnými pacientkami, které vyhledaly rutinní gynekologickou péči. Ženy s předchozí diagnózou malignity nebo malignity zjištěné do 6 měsíců byly vyloučeny. Neplodné ženy měly celkově vyšší riziko vzniku zhoubného nádoru ve srovnání

s plodnými ženami (2,0 vs. 1,7 %, upravený poměr rizika (aHR) 1,18; CI 1,12–1,24). Riziko karcinomu dělohy (0,10 vs. 0,06 %, aHR 1,78; CI 1,39–2,28), vaječníků (0,14 vs. 0,09 %, aHR 1,64; CI 1,33–2,01), plic (0,21 vs. 0,21 %, aHR 1,38; CI 1,01–1,88), štítné žlázy (0,21 vs. 0,16 %, aHR 1,29; CI 1,09–1,53), leukemie (0,10 vs. 0,06 %, aHR 1,55; CI 1,21–1,98), jater a žlučníku (0,05 vs. 0,03 %, aHR 1,59; CI 1,11–2,30) bylo vyšší u neplodných žen ve srovnání s plodnými ženami. V analýze podskupiny žen v každé kohortě, která otěhotněla a porodila, bylo riziko karcinomu dělohy a vaječníků u neplodných a plodných žen podobné. Na základě těchto výsledků lze říci, že neplodné ženy mohou mít vyšší riziko některých zhoubných nádorových onemocnění.

DPYD Genotype-Guided Dose Individualisation of Fluoropyrimidine Therapy in Patients With Cancer – a Prospective Safety Analysis

Henricks LM, Lunenburg CATC, de Man FM et al.

Lancet Oncol 2018; 19(11): 1459–1467. doi: 10.1016/S1470-2045(18)30686-7.



Léčba fluoropyrimidiny může vést k závažné toxicitě až u 30 % pacientů a je často výsledkem snížené aktivity klíčového metabolického enzymu dihydropyrimidindehydrogenázy, většinou způsobené genetickými variantami v genu kódujícím dihydropyrimidindehydrogenázu (DPYD). V této analýze byl hodnocen vliv prospektivního screeningu na čtyři nejvýznamnější varianty DPYD (DPYD*2A [rs3918290, c.1905+1G>A, IVS14+1G>A], c.2846A>T [rs67376798, D949V], c.1679T>G [rs55886062, DPYD*13, I560S], a c.1236G>A [rs56038477, E412E, v haplotypu B3]) na bezpečnost pacientů a následnou individualizaci dávky na podkladě DPYD analýzy v běžné klinické praxi. Studijní populaci tvořili dospělí pacienti s nádorovým onemocněním, u nichž byla indikována protinádorová léčba na bázi fluoropyrimidinu (kapecitabin nebo fluorouracil) v kombinaci s jinými chemoterapeutiky nebo radioterapií. Způsobilí byli pacienti se všemi typy nádorů. Byla provedena prospektivní genotypizace pro DPYD*2A, c.2846A>T, c.1679T>G a c.1236G>A. Heterozygotní DPYD variantní aleloví nosiči obdrželi počáteční dávku redukovanou o 25 % (c.2846A>T a c.1236G>A) nebo o 50 % (DPYD*2A a c.1679T>G) a pacienti s DPYDwt byli léčeni podle standardních postupů. Následně byla porovnána incidence toxicity mezi nosiči variantní alely DPYD a pacienty DPYDwt. Bylo zařazeno 1 181 pacientů; 78 pacientů nebylo hodnoceno, protože retrospektivně nesplnili kritéria pro zařazení. Ze 1 103 hodnotitelných pacientů bylo 85 (8 %) heterozygotními nosiči variant alely DPYD a 1 018 (92 %) pacientů mělo DPYDwt. Závažná toxicita související s fluoropyrimidinem byla celkově vyšší u nosičů genotypových variant DPYD – 33 (39 %) z 85 pacientů, než u pacientů DPYDwt – 231 (23 %) z 1 018 pacientů; $p = 0,0013$. Prospektivní genotypování DPYD bylo proveditelné v rutinní klinické praxi a snížení dávky založené na genotypu DPYD zlepšilo bezpečnost pacientů při léčbě fluoropyrimidinem. Pro nosiče DPYD*2A a c.1679T>G bylo 50% počáteční snížení dávky adekvátní. U nosičů c.1236G>A a c.2846A>T je vhodné větší snížení dávky o 50 % (místo 25 %). Vzhledem k tomu, že fluoropyrimidiny patří mezi nejčastěji používané protinádorové léky, tato zjištění naznačují, že zavedení individualizovaného dávkování řízeného DPYD genotypem by mělo být novým standardem péče.

Avelumab Plus Axitinib vs. Sunitinib for Advanced Renal-Cell Carcinoma

Motzer RJ, Penkov K, Haanen J et al.

N Engl J Med 2019; 380(12): 1103–1115. doi: 10.1056/NEJMoa1816047.



Ve této studii fáze III bylo testováno použití kombinace avelumab + axitinib u dříve neléčených pacientů s pokročilým karcinomem ledvin ve srovnání se standardem péče sunitinibem. Nemocní byli randomizováni v poměru 1 : 1 k léčbě avelumabem (10 mg/kg) intravenózně každé 2 týdny + axitinib (5 mg) perorálně 2× denně nebo sunitinib (50 mg) perorálně 1× denně po dobu 4 týdnů (6týdenního cyklu). Celkem bylo zařazeno 886 pacientů, 442 nemocných dostalo avelumab + axitinib, 444 pacientů bylo léčeno sunitinibem. U 560 pacientů s PD-L1 pozitivními nádory (63,2 %) bylo průměrné přežití bez progresse onemocnění 13,8 měsíce s avelumabem + axitinibem ve srovnání se 7,2 měsíce se sunitinibem (HR pro progresi onemocnění nebo úmrtí 0,61; CI 0,47–0,79; $p < 0,001$); v celkové populaci byl medián přežití bez progresse 13,8 vs. 8,4 měsíce (HR 0,69; 95% CI 0,56–0,84; $p < 0,001$). Mezi pacienty s PD-L1-pozitivními nádory byla objektivní odpověď 55,2 % v rameni s avelumabem + axitinibem a 25,5 % v rameni se sunitinibem; při mediánu sledování celkového přežití 11,6 a 10,7 měsíce u obou skupin, 37 a 44 pacientů zemřelo. Nežádoucí účinky během léčby se vyskytly u 99,5 % pacientů ve skupině léčené avelumab + axitinibem, u 99,3 % pacientů ve skupině léčené sunitinibem; tyto příhody byly stupně ≥ 3 u 71,2 a 71,5 % pacientů v příslušných skupinách. Závěrem autoři uvádí, že přežití bez progresse bylo významně delší u avelumabu + axitinibu než u sunitinibu u pacientů, kteří dostávali tyto látky jako léčbu 1. linie pro pokročilý karcinom ledviny.

Články vybrala a komentovala
MUDr. Jana Halámková, Ph.D.

Klinika komplexní onkologické péče, Masarykův onkologický ústav, Brno

The International Classification of Diseases for Oncology Integrated with the Melanoma Histogenetic Model

Mezinárodní klasifikace nemocí pro onkologii integrovaná s histogenetickým modelem melanomu

Roncati L., Piscioli F.

Department of Medical and Surgical Sciences, Institute of Pathology, University Hospital of Modena, Italy

Malignant melanoma can be defined, quite simply, as a malignant neoplasm derived from melanocytes; however, there is great histological and, consequently, clinical variability from case to case [1]. In order to try to overcome this intrinsic difficulty, various classification systems have been proposed over the years; in this regard, the World Health Organization (WHO) introduced its notorious classification about half a century ago [2]. Currently, the International Classification of Diseases for Oncology (ICD-O), provided by the WHO International Agency for Research on Cancer (IARC), distinguishes the *in situ* forms from invasive ones, recognising among these four main morphological subtypes – nodular melanoma, superficial spreading melanoma, lentigo maligna

melanoma and acral lentiginous melanoma [3]. The ICD-O classification includes further morphological codes, such as balloon cell melanoma, regressing melanoma, amelanotic melanoma, melanoma in junctional nevus, melanoma in precancerous melanosis, desmoplastic melanoma, neurotropic melanoma, mucosal lentiginous melanoma, melanoma in giant pigmented nevus / congenital melanocytic nevus, mixed epithelioid and spindle cell melanoma, epithelioid cell melanoma, spindle cell melanoma (not otherwise specified), spindle cell melanoma (type A), spindle cell melanoma (type B) and malignant blue nevus [3]. Alongside a strictly morphological classification, a histogenetic model, based on the concept of tumour progression, is regaining ground [4,5]. In

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.



Dr. Luca Roncati, M.D., PhD

Department of Medical and Surgical Sciences

Institute of Pathology

University Hospital of Modena

Policlinico

via del Pozzo, 71

I-41124 Modena, Italy

e-mail: emailmedical@gmail.com

Submitted/Obdrženo: 24. 12. 2018

doi: 10.14735/amko2019155

Tab. 1. Melanoma progression model.

The non-tumorigenic radial growth phase encompasses the intraepidermal lesions, namely lentigo maligna and *in situ* melanoma, and the microinvasive forms, that means ultra-thin melanoma and the vast majority of thin melanoma. Only a small quota of thin melanoma, burdened by an aggressive biological behavior, shows an early tumorigenic vertical growth phase. Contrariwise, a late tumorigenic vertical growth phase is constantly present in all thick and ultra-thick melanoma.

Melanoma progression model

non-tumorigenic radial growth phase (RGP)	tumorigenic vertical growth phase (VGP)
intraepidermal RGP	early VGP
microinvasive RGP	late VGP

fact, at the onset, a melanoma is characterised by a non-tumorigenic radial growth phase (RGP), inside the epidermis (intraepidermal) or within the papillary dermis (microinvasive), devoid of metastatic potential, which may be followed, early or late, by a tumorigenic vertical growth phase (VGP), with deeper extension in the dermis or beyond, nodular confluence, mitotic activity and

metastatic capacity (tab. 1). The unique exception to this is represented by nodular melanoma, in which either RGP is rapidly overrun by VGP or the tumour arises directly from dermal melanocytes [6]. Today, the Breslow depth remains the single most important prognostic factor for clinically localised primary melanoma – it allows the identification of melanoma as ultra-thin (≤ 0.5 mm), thin (≤ 1 mm), thick (> 1 mm) or ultra-thick (> 6 mm) [7,8]. The systematic application of the histogenetic model to the Breslow depth explains the debated reason why some thin melanoma behave aggressively, because they possess an early tumorigenic VGP inside them [9]. Moreover, any diagnostic report should also be accompanied by further well-known microstaging attributes, such as Clark level, mitotic count, lymphovascular invasion, perineural in-

filtration, ulceration, satellitosis, tumour infiltrating lymphocytes and, if available, sentinel lymph node status [10,11]. In conclusion, we believe that a renewed histogenetic approach to melanoma diagnosis deserves a wide scientific dissemination, for a better clinical management of individual cases in the era of personalised medicine.

References

1. Roncati L, Piscioli F, Pusioli 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.
2. Duncan LM. The classification of cutaneous melanoma. *Hematol Oncol Clin North Am* 2009; 23(3): 501–513. doi: 10.1016/j.hoc.2009.03.013.
3. Fritz A, Percy C, Jack A et al (eds). International classification of diseases for oncology (ICD-O). 3rd ed. Geneva: WHO Press 2013: 70–71.
4. 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.
5. 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.
6. Greenwald HS, Friedman EB, Osman I. Superficial spreading and nodular melanoma are distinct biological entities: a challenge to the linear progression model. *Melanoma Res* 2012; 22(1): 1–8. doi: 10.1097/CMR.0b013e32834e6aa0.
7. Roncati L, Piscioli F, Pusioli T. Sentinel lymph node in thin and thick melanoma. *Klin Onkol* 2016; 29(5): 393–394.
8. Meguerditchian AN, Asubonteng K, Young C, et al. Thick primary melanoma has a heterogeneous tumor biology: an institutional series. *World J Surg Oncol* 2011; 9: 40. doi: 10.1186/1477-7819-9-40.
9. 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.
10. 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.
11. Piscioli F, Pusioli T, Roncati L. Higher predictive value of sentinel lymph node biopsy in patients with histological subcategorization of thin melanoma. *Int J Dermatol* 2017; 56(5): e93–e94. doi: 10.1111/ijd.13548.

Tailoring Nutritional Interventions with Molecular Pathophysiology of Cancer Cachexia – a Possible Solution to an Old Problem

Prizpůsobení nutričních intervencí molekulární patofyziologii nádorové kachexie – jak vyřešit dlouhodobý problém

Mortazavi H.

Gerontological Care Research Center, Department of Geriatric Nursing, School of Nursing and Midwifery, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran

Dear Sir,

Despite significant advances in providing palliative and supportive care to patients undergoing advanced cancer treatment, between 50 and 80% of them suffer from malnutrition and cachexia and approximately 25% of cancer deaths are related to cancer-induced cachexia [1,2]. Cancer-induced cachexia is a chronic, progressive, involuntary loss of skeletal muscle mass that can lead to malnutrition and progressive functional damage of patients who suffer from cancer such that supporting conventional nutritional regimens cannot revert those pathophysiological changes [3]. Cancer cachexia is associated with anorexia, early satiation, and asthenia and it is pathophysiology characterised by the release of pro-inflammatory cytokines, increase in muscle protein breakdown and negative energy balance due to the reduced food ingestion and abnormal metabolism. In addition, the systemic inflammatory response and the hypermetabolism status following cancer and its treatments can lead to increased resting energy consumption. Furthermore, cancer treatment can cause gastrointestinal motility defects, gastrointestinal mucosal damage, and impaired appetite, which contribute to the deterioration of malnutrition [4].

Cancer cachexia can profoundly diminish the physical function and tolerance

to anticancer therapy, and consequently reduce the chance of survival of affected patients. It is associated with increased toxicity from chemotherapy and is a cause of poor outcomes for some patients [1,5]. Hence, cancer cachexia remains a challenging clinical syndrome and an important unmet need in the palliative care of patients who suffer from cancer [1].

Given that preventing loss of muscle mass is an important part of the cancer treatment, cancer-related cachexia should be reversed by either treating the cancer or increasing nutritional intake [3,4]. However, because of the complexity and difficulty of treatment in advanced cancer, increasing the nutritional intake remains one of the only available choices in building and preserving muscle mass in the treatment of cancer cachexia [4,6]. Accordingly, to get the best out of the nutritional interventions, the dietary intake should be matched with the underlying pathophysiology of cancer-associated cachexia and the total demand of protein requirements with the overall health status of patients who suffer from cancer [6]. However, a possible explanation for the high prevalence of cancer-induced cachexia is that limited nutrition-oriented interventions or specialised nutrition support have focused on the presumed pathophysiology of cancer cachexia and many of the

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.



Hamed Mortazavi, M.D.

Gerontological Care Research Center
Department of Geriatric Nursing
School of Nursing and Midwifery
North Khorasan University of Medical Sciences
Dowlat Blvd.
Bojnurd, 9414975516, Iran
e-mail: mortazaviham@yahoo.com

Submitted/Obdrženo: 20. 12. 2018

doi: 10.14735/amko2019157

current interventions are based on the pathophysiology of chronic diseases-related cachexia [4]. Previous studies showed that early and tailored nutritional intervention might be optimal for these patients in terms of reducing the body weight loss due to the nutrition-associated adverse events [6,7]. Therefore, prior to designing and de-

veloping future nutrition-oriented clinical trials, researchers should logically select and adjust the proposed nutritional interventions and tailor those interventions with the established molecular mechanisms underlying cancer-related cachexia, which includes muscle protein breakdown, negative energy balance and abnormal metabolism as well as pro-inflammatory action of reactive oxygen species. In addition, a future study is needed for designing and implementing intensive, personalised nutrition counselling programmes

for cachectic cancer patients that theoretically could counteract the assumed pathophysiology.

References

1. Vagnildhaug OM, Balstad TR, Almberg SS et al. A cross-sectional study examining the prevalence of cachexia and areas of unmet need in patients with cancer. *Support Care Cancer* 2018; 26(6): 1871–1880. doi: 10.1007/s00520-017-4022-z.
2. Gullett NP, Mazurak V, Hebbbar G et al. Nutritional interventions for cancer-induced cachexia. *Curr Probl Cancer* 2011; 35(2): 58–90. doi: 10.1016/j.currprobcancer.2011.01.001.
3. Solheim TS, Laird BJ, Balstad TR et al. Cancer cachexia: rationale for the MENAC (Multimodal-Exercise, Nutrition and Anti-inflammatory medication for Cachexia) trial. *BMJ Support Palliat Care* 2018; 0: 1–8. doi: 10.1136/bmjspcare-2017-001440.
4. Sadeghi M, Keshavarz-Fathi M, Baracos V et al. Cancer cachexia: diagnosis, assessment, and treatment. *Crit Rev Oncol Hematol* 2018; 127: 91–104. doi: 10.1016/j.critrevonc.2018.05.006.
5. Mortazavi H. Could art therapy reduce the death anxiety of patients with advanced cancer? An interesting question that deserves to be investigated. *Indian J Palliat Care* 2018; 24(3): 387–388. doi: 10.4103/IJPC.IJPC_7_18.
6. Kapoor N, Tewfik I, Naufahu J et al. The impact of tailored nutrition intervention and dietary counseling on body weight in female cancer cachexia patients in India. *J Clin Oncol* 2014; 32 (Suppl 31): abstr. 67.
7. Aoyama T, Imataki O, Mori K et al. Nutritional risk in allogeneic stem cell transplantation: rationale for a tailored nutritional pathway. *Ann Hematol* 2017; 96(4): 617–625. doi: 10.1007/s00277-016-2910-9.

Onkologie v obrazech

Radiodermatitis necrotica, akutní či chronický postradiační vřed

Čoupek P.

Klinika radiační onkologie, Masarykův onkologický ústav, Brno

Jde o kožní postradiační reakci 3. stupně, která se dnes objevuje velmi vzácně a je tedy mezi klinickými onkology méně známá. Může se objevit po velmi vysoké dávce záření, nejčastěji na rentgenovém ozařovači, kde bývá maximální dávka záření na kůži. Projevuje se zpočátku jako fialové zarudnutí, zduření, často s palčivou bolestí, v místě do 3–4 týdnů dochází k rozpadu tkání. Při frakcionovaném ozaření se tento akutní postradiační vřed může objevit až za 8–12 týdnů po skončení radiote-

rapie. Povrch vředu bývá pokrytý žlutými krustami, často je sekundárně infikován bakteriemi. Po odstranění krust zůstává krvácející mokvavá spodina. Vřed je velmi bolestivý, obtížně se hojí, někdy hojení trvá měsíce i roky. Špatné hojení je způsobeno poškozením vitality buněk a trvalými změnami na cévách. Bolest vředu je obvykle ukazatelem, že nekróza ještě pokračuje do šířky a hloubky. Někdy nedojde ke zhojení vůbec a akutní vřed přechází ve vřed chronický.



MUDr. Petr Čoupek
Klinika radiační onkologie
Masarykův onkologický ústav
Žlutý kopec 7
656 53 Brno
e-mail: coupek@mou.cz

Obdrženo/Submitted: 28. 2. 2019



Obr. 1. Akutní postradiační vřed, stav po radioterapii na rentgenovém ozařovači.



Obr. 2. Akutní postradiační vřed v popliteální krajině.



Obr. 3. Akutní postradiační vřed po rentgenovém ozaření spinocelulárního karcinomu ušního boltce.



Obr. 4. Chronický postradiační vřed.

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.

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
prof. MUDr. Ladislav Dušek, Ph.D., Brno
prof. MUDr. Tomáš Eckschlager, CSc., Praha
prof. 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

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

výkonný redaktor

prof. MUDr. Marek Svoboda, Ph.D.

MUDr. Ivo Kocák, Ph.D.
MUDr. Rudolf Nenučil, CSc.
MUDr. Jiří Novák

prof. MUDr. Pavel Klener, DrSc., Praha
doc. MUDr. Alexandra Kolenová, Ph.D., Bratislava
Andrea Lancia, M.D., Rome
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

prof. MUDr. Jan Klusterský, Brusel
prof. MUDr. Josef Koutecký, DrSc., Praha
prof. RNDr. Jan Kovařík, DrSc., Brno
prof. MUDr. Ivan Koza, DrSc., Bratislava

prof. RNDr. Ondřej Slabý, Ph.D.
doc. RNDr. Sabina Ševčíková, Ph.D.
prof. MUDr. Jan Žaloudík, CSc.

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

doc. MUDr. Jozef Mardiak, CSc., Bratislava
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. Barbora Ševčíková, e-mail: barbora.sevcikova@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 2019 činí 540 Kč (22 eur).

Informace o předplatném a objednávky předplatitelů: 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 15. 4. 2019

OPDIVO® – imunoterapie, která dává šanci více pacientům

OPDIVO® (nivolumab)



ZKRÁCENÉ INFORMACE O PŘÍPRAVKU

Tento léčivý přípravek podléhá dalšímu sledování.

Název přípravku: OPDIVO 10 mg/ml koncentrát pro infuzní roztok. **Složení:** Nivolumabum 10 mg v 1 ml koncentrátu. **Indikace:** * **Melanom:** v monoterapii/kombinaci s ipilimumabem u pokročilého (neresekovatelného nebo metastatického) melanomu u dospělých. **Adjuvantní léčba melanomu:** monoterapie u pokročilého nebo metastatického NSCLC po předchozí chemoterapii u dospělých. **Renální karcinom (RCC):** monoterapie pokročilého RCC po předchozí terapii u dospělých; v kombinaci s ipilimumabem terapie pokročilého RCC v první linii u dospělých se středním nebo vysokým rizikem. **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 rekurentního nebo metastazujícího SCCHN progresujícího 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 a způsob podání:** * **Monoterapie:** buď 240 mg i.v. infuzí (30 min) každé 2 týdny (všechny indikace) nebo 480 mg i.v. infuzí (60 min) každé 4 týdny (pouze indikace melanom a renální karcinom); u adjuvantní léčby melanomu 3 mg/kg i.v. infuzí (60 min) každé 2 týdny. **Kombinace s ipilimumabem:** **Melanom:** 1 mg/kg nivolumabu i.v. infuzí (30 min) s ipilimumabem 3 mg/kg i.v. infuzí (90 min) každé 3 týdny u prvních 4 dávek, dále nivolumab i.v. infuzí 240 mg (30 min) každé 2 týdny nebo 480 mg každé (60 min) 4 týdny, první dávka za 3 týdny (240 mg) resp. 6 týdnů (480 mg), a pak dále každé 2 týdny, resp. 4 týdny. **RCC:** 3 mg/kg nivolumabu i.v. infuzí (30 min) s ipilimumabem 1 mg/kg i.v. infuzí (90 min) každé 3 týdny u prvních 4 dávek, dále nivolumab i.v. infuzí 240 mg (30 min) každé 2 týdny nebo 480 mg každé (60 min) 4 týdny, první dávka za 3 týdny (240 mg) resp. 6 týdnů (480 mg), a pak dále každé 2 týdny, resp. 4 týdny. **Léčba vždy pokračuje, dokud je pozorován klinický přínos nebo dokud ji pacient snáší, u adjuvantní léčby melanomu po dobu max. 12 měsíců. Další podrobnosti viz SPC. **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. 5 měsíců po poslední dávce). Podle závažnosti NÚ se nivolumab vysadí a podají se kortikosteroidy. Po zlepšení se dávka kortikosteroidů snižuje postupně po dobu min. 1 měsíce. V případě závažných, opakujících se nebo 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, která není metabolizována cytochromem P450 (CYP) ani jinými enzymy metabolizujícími léky. Je třeba se vyhnout podávání systémových kortikosteroidů nebo jiných imunosupresiv na počátku a před zahájením léčby. Lze je nicméně použít k léčbě imunitně podmíněných nežádoucích účinků. **Těhotenství a kojení:** Nivolumab se nedoporučuje podávat během těhotenství a fertilním 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 dále i hypotyreóza, hypertyreóza, snížená chuť k jídlu, bolest hlavy, dyspnoe, kolitida, zvracení, bolest břicha, artralgie, muskuloskeletální bolest, horečka, hypoglykémie 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. **Dostupná balení:** 4 ml nebo 10 ml koncentrátu v injekční lahvičce, 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 poslední revize textu: leden 2019. Přípravek je hrazen z veřejného zdravotního pojištění v indikaci pokročilý maligní melanom u monoterapii, pokročilý renální karcinom u monoterapii, nemalobuněčný karcinom plic a klasický Hodgkinův lymfom.**

Název přípravku: YERVOY 5 mg/ml koncentrát pro infuzní roztok. **Složení:** Ipilimumabum 5 mg v 1 ml koncentrátu. **Terapeutické indikace:** * **Melanom:** Monoterapie pokročilého (neresekovatelného nebo metastazujícího) melanomu u dospělých a dospívajících ve věku 12 let a starších; v kombinaci s nivolumabem léčba pokročilého (neresekovatelného nebo metastazujícího) melanomu u dospělých. **Renální karcinom (RCC):** v kombinaci s nivolumabem terapie pokročilého RCC v první linii u dospělých se středním nebo vysokým rizikem. **Dávkování a způsob podání:** * **Melanom:** **Monoterapie:** Indukční režim: 3 mg/kg i.v. infuzí (90 min) každé 3 týdny, celkem 4 dávky. Celý indukční režim (4 dávky) je třeba dodržet dle tolerance, bez ohledu na vzhled nových lézí nebo růst existujících lézí. **Kombinace s nivolumabem:** 3 mg/kg ipilimumabu i.v. infuzí (90 min) s 1 mg/kg nivolumabu i.v. infuzí (30 min) každé 3 týdny u prvních 4 dávek, dále nivolumab v monoterapii i.v. infuzí 240 mg (30 min) každé 2 týdny nebo 480 mg (60 min) každé 4 týdny, první dávka za 3 týdny (240 mg) resp. 6 týdnů (480 mg), a pak dále každé 2 týdny, resp. 4 týdny. **RCC:** 1 mg/kg ipilimumabu i.v. infuzí (30 min) s nivolumabem 3 mg/kg i.v. infuzí (30 min) každé 3 týdny u prvních 4 dávek, dále nivolumab i.v. infuzí 240 mg (30 min) každé 2 týdny nebo 480 mg (60 min) každé 4 týdny, první dávka za 3 týdny (240 mg) resp. 6 týdnů (480 mg), a pak dále každé 2 týdny, resp. 4 týdny. U kombinované léčby léčba pokračuje, dokud je pozorován klinický přínos nebo dokud ji pacient snáší. Další podrobnosti viz SPC. **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na léčivou látku nebo na kteroukoli pomocnou látku. **Zvláštní upozornění:** Imunitně podmíněné nežádoucí účinky, které mohou být závažné nebo život ohrožující, se mohou týkat GIT, jater, kůže, nervové, endokrinní nebo jiné orgánové soustavy. Pokud není identifikována jiná etiologie, je nutno průjem, zvýšenou frekvenci stolice, krvavou stolicí, zvýšení jaterních testů, vyrážku a endokrinní poruchy považovat za zánětlivé a související s ipilimumabem. U pacientů se závažnou aktivní autoimunitní chorobou, kde je další imunitní aktivace potenciálně bezprostředně život ohrožující, se přípravek nemá podávat. **Interakce:** Ipilimumab je lidská monoklonální protilátka, která není metabolizována cytochromem P450 (CYP) ani jinými enzymy metabolizujícími léky. Je třeba se vyhnout podávání systémových kortikosteroidů nebo jiných imunosupresiv na počátku a před zahájením léčby. Lze je nicméně použít k léčbě imunitně podmíněných nežádoucích účinků. Použití antikoagulancií zvyšuje riziko GIT krvácení; pacienti se souběžnou léčbou antikoagulancií musí být pečlivě monitorováni. **Těhotenství a kojení:** Ipilimumab se nedoporučuje podávat během těhotenství a fertilním ženám, které nepoužívají účinnou antikoncepci. Není známo, zda se ipilimumab vylučuje do lidského mléka. **Nežádoucí účinky:** * **Velmi časté:** snížená chuť k jídlu, průjem, zvracení, nauzea, vyrážka, svědění, únava, reakce v místě injekce, pyrexie, v kombinaci s nivolumabem dále i hypotyreóza, hypertyreóza, bolest hlavy, dyspnoe, kolitida, bolest břicha, artralgie, muskuloskeletální bolest, zvýšení AST, ALT, celkového bilirubinu, alkalické fosfatázy, lipázy, amylázy, kreatininu, dále hyperglykémie, hypoglykémie, lymfopenie, leukopenie, neutropenie, trombocytopenie, anemie, hypokalcemie, hyperkalcemie, hypokalemie, hypomagnezemie, hyponatremie. **Další nežádoucí účinky – 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. **Dostupná balení:** 10 ml nebo 40 ml koncentrátu v injekční lahvičce, 1 injekční lahvička. **Držitel rozhodnutí o registraci:** Bristol-Myers Squibb Pharma EEIG, Uxbridge Business Park, Sanderson Road, Uxbridge, Middlesex UB8 1DH, Velká Británie. **Registrační číslo:** EU/1/11/698/001-2. Datum poslední revize textu: leden 2019. Přípravek je hrazen z veřejného zdravotního pojištění v indikaci pokročilý maligní melanom u monoterapii.**

Výdej těchto léčivých přípravků je vázán na lékařský předpis. Dříve, než je předepíšete, přečtěte si, prosím, úplné znění příslušného Souhrnu údajů o přípravku. Podrobné informace o těchto přípravcích jsou uveřejněny na webových stránkách Evropské lékové agentury (EMA) <http://ema.europa.eu> nebo jsou dostupné u zástupce držitele rozhodnutí o registraci v ČR: Bristol-Myers Squibb spol. s r. o., Budějovická 778/3, 140 00 Praha 4, tel.: +420 221 016 111, www.b-ms.cz.

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

1506CZ1900188-01, datum schválení 21. 1. 2019

Úhrada od
1.1.2019

BAVENCIO[®] (avelumab)
je **PRVNÍ A JEDINOU** schválenou
imunoterapií pro pacienty
s metastatickým karcinomem
z Merkelových buněk (mMCC)^{1,2}

V preklinických
modelech ovlivňuje
BAVENCIO[®] (avelumab)
vrožený i adaptivní
imunitní systém³⁻⁵

**Míra objektivní
odpovědi na léčbu**

**51 % u dosud
neléčených
pacientů²**

• (n=20; 95% CI: 35 – 68)

**33 % u předléčených
pacientů²**

• (n=29; 95% CI: 23 – 44)

**Dlouhodobá odpověď
na léčbu**

**u 73 % dosud neléčených pacientů
s odpovědí trvá odpověď
alespoň 6 měsíců²**

• (95 % CI: 46 – 88)

**u 67 % předléčených pacientů
s odpovědí trvá odpověď
alespoň 24 měsíců²**

• (95 % CI: 46 – 81)

**Zařazování pacientů do studie (kohorty B)
s léčbou avelumabem v 1. linii stále pokračuje⁶**

Zkrácená informace o přípravku BAVENCIO[®] (avelumabum)

Název přípravku a složení: BAVENCIO 20 mg/ml koncentrát pro infuzní roztok. Jeden ml koncentrátu obsahuje avelumabum 20 mg a další pomocné látky. Jedna injekční lahvička s 10 ml roztoku obsahuje avelumabum 200 mg a další pomocné látky. **Indikace:** Přípravek BAVENCIO je indikován v monoterapii pro léčbu dospělých pacientů s metastatickým karcinomem z Merkelových buněk (MCC). **Dávkování a způsob podání:** Doporučená dávka přípravku BAVENCIO je 10 mg/kg tělesné hmotnosti podávaná intravenózně v průběhu 60 minut každé 2 týdny. Přípravek BAVENCIO by se měl podávat podle doporučeného plánu až do progresu onemocnění nebo nepřijatelné toxicity. Pacienti musí být před prvními 4 infuzemi přípravku BAVENCIO premedikováni pomocí antihistaminika a paracetamolu. **Nežádoucí účinky:** Nejčastější nežádoucí účinky stupně ≥ 3 byly anemie (6,0 %), dyspnoe (3,9 %) a bolest břicha (3,0 %). Závažnými nežádoucími účinky byly nežádoucí reakce související s imunitou a reakce spojené s infuzí. Více informací v úplné verzi SPC. **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na léčivou látku nebo na kteroukoli pomocnou látku přípravku. **Zvláštní upozornění:** Pečlivě sledovat reakce spojené s infuzí a nežádoucí účinky související s imunitou. **Fertilita, těhotenství a kojení:** Pacientky ve fertilním věku musí během užívání přípravku BAVENCIO a jeden měsíc po poslední dávce avelumabu používat vysoce účinnou metodu antikoncepce. Podávání avelumabu v těhotenství se nedoporučuje, pokud klinický stav ženy léčbu avelumabem nevyžaduje. Kojícím ženám by mělo být doporučeno, aby nekojily během léčby a po dobu nejméně 1 měsíce po poslední dávce v důsledku možných závažných nežádoucích účinků na kojené novorozence. **Interakce:** Nejsou očekávány. **Uchovávání:** Uchovávejte v chladničce (2°C – 8°C). Chraňte před mrazem. Uchovávejte v původním obalu, aby byl přípravek chráněn před světlem. **Velikost balení:** 10 ml koncentrátu v injekční lahvičce (sklo třídy I) s halobutylovou pryžovou zátkou a hliníkovým uzávěrem s odnímatelným plastovým víčkem. Balení obsahuje 1 injekční lahvičku. **Registrační číslo:** EU/1/17/1214/001. **Držitel rozhodnutí o registraci:** Merck Europe B.V., Amsterdam, Nizozemsko. **Datum poslední revize textu:** 08/2018. Lék je vydáván pouze na lékařský předpis a je hrazen z prostředků veřejného pojištění.

▼ Tento léčivý přípravek podléhá dalšímu sledování. To umožní rychlé získání nových informací o bezpečnosti. Žádáme zdravotnické pracovníky, aby hlásili jakákoli podezření na nežádoucí účinky. Podrobnosti o hlášení nežádoucích účinků viz bod 4.8 SPC.

Před předepsáním léčivého přípravku, se prosím seznámte s úplným zněním Souhrnu údajů o přípravku, které obdržíte na adrese společnosti Merck spol. s r.o.

REFERENCE: 1. European Medicines Agency [Internet]. Public summary of opinion on orphan designation. EU/3/16/1781. What treatments are available? aktualizováno 14. prosince 2016; citováno 1. listopadu 2017. Dostupné z: http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/orphans/2016/12/human_orphan_001884.jsp&mid=WC0b01ac058001d12b. 2. BAVENCIO[®] (avelumab) SPC. Datum revize textu: 08/2018. 3. Heery CR et al. Avelumab for metastatic or locally advanced previously treated solid tumours (JAVELIN Solid Tumor): a phase 1a, multicohort, dose-escalation trial. *Lancet Oncol.* 2017; 18: 587–98. 4. Hamilton G et al. Avelumab: combining immune checkpoint inhibition and antibody-dependent cytotoxicity. *Expert Opin Biol Ther.* 2017;17(4):515–523. 5. Boyerinas B et al. Antibody-dependent cellular cytotoxicity activity of a novel anti-PD-L1 antibody Avelumab (MSB0010718C) on human tumor cells. *Cancer Immunol Res.* 2015;3(10):1148–1157. 6. Avelumab in Subjects With Merkel Cell Carcinoma (JAVELIN Merkel 200). Aktualizováno: listopad 2017 společnosti EMD Serono. Dostupné z: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02155647>. 7. dostupné na: <http://www.sukl.cz/sukl/seznam-cen-a-uhrad-lp-pzlu-k-1-1-2019>