

# KLINICKÁ ONKOLOGIE

Z obsahu:

Zhubné nádory krčka maternice v gravidite

Role exozomů u nádorových onemocnění

Nemoc těžkých řetězců imunoglobulinu gama



TECENTRIQ® + NAB-PAKLITAXEL

# PRODLUŽTE ŽIVOT PACIENTŮM S POKROČILÝM TNBC\* S PD-L1\*\* EXPRESÍ<sup>1</sup>

**TECENTRIQ** ▼  
atezolizumab  
EFEKTIVNÍ KOMBINACE

**INDIKACE:** Přípravek TECENTRIQ® v kombinaci s nab-paklitaxelem je indikován k léčbě dospělých pacientů s neresekovatelným lokálně pokročilým nebo metastazujícím triple negativním karcinomem prsu (TNBC), jejichž nádory vykazují expresi PD-L1  $\geq 1\%$  a dosud nebyli léčeni chemoterapií pro metastazující onemocnění.<sup>1</sup>

\* TNBC = triple negativní karcinom prsu. \*\* PD-L1 = ligan receptoru programované buněčné smrti 1.

#### Zkrácená informace o přípravku

**TECENTRIQ 840 mg koncentrát pro infuzní roztok. Účinná látka:** atezolizumabum **Indikace:** Přípravek Tecentriq je jako monoterapie indikován k léčbě dospělých pacientů s lokálně pokročilým nebo metastazujícím urotelálním karcinomem (UK) • po předchozí chemoterapii obsahující platinu, nebo • u pacientů, kteří jsou považováni za nezpůsobilé k léčbě cisplatinou a jejichž nádory mají expresi PD-L1  $\geq 5\%$ . Přípravek Tecentriq je jako monoterapie indikován k léčbě dospělých pacientů s lokálně pokročilým nebo metastazujícím NSCLC po předchozí chemoterapii. Pacientům s NSCLC s aktivními mutacemi EGFR nebo přestavbami ALK má být také podávána cílená léčba před podáním přípravku Tecentriq. Přípravek Tecentriq je v kombinaci s nab-paklitaxelem indikován k léčbě dospělých pacientů s neresekovatelným lokálně pokročilým nebo metastazujícím triple negativním karcinomem prsu (TNBC), jejichž nádory mají expresi PD-L1  $\geq 1\%$  a kteří nebyli léčeni chemoterapií pro metastazující onemocnění. **Dávkování: Přípravek Tecentriq v monoterapii:** Doporučená dávka přípravku Tecentriq je: • 840 mg podávána intravenózně každé dva týdny nebo • 1 680 mg podávána intravenózně každé čtyři týdny. **Přípravek Tecentriq v kombinaci s nab-paklitaxelem v 1. linii u TNBC:** Doporučená dávka přípravku Tecentriq je 840 mg podaná formou intravenózní infuze, po které následuje nab-paklitaxel 100 mg/m<sup>2</sup>. Během každého 28denního cyklu je přípravek Tecentriq podáván ve dnech 1, 15 a nab-paklitaxel je podáván ve dnech 1, 8 a 15. **Způsob podání:** Přípravek Tecentriq je pro intravenózní podání. Úvodní dávka přípravku Tecentriq musí být podávána po dobu 60 minut. Pokud je první infuze dobře snášena, mohou být následující infuze podávány po dobu 30 minut. Doporučuje se, aby pacienti byli léčeni přípravkem Tecentriq, dokud nedojde ke ztrátě klinického přínosu nebo k nevládnutelné toxicitě. U pacientů s TNBC se doporučuje, aby byli pacienti léčeni přípravkem Tecentriq do progresse onemocnění nebo do nevládnutelné toxicity. Snížení dávky atezolizumabu se nedoporučuje. Doporučení pro úpravu dávkování u konkrétních nežádoucích účinků naleznete v SPC. Pacienti s dříve neléčeným UK a TNBC mají být k léčbě vybíráni na základě potvrzené exprese PD-L1 validovaným testem. **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na atezolizumab nebo na kteroukoli pomocnou látku. **Upozornění:** Z důvodu snadnější zpětné zjistitelnosti biologických léčivých přípravků má být obchodní název a číslo šarže podávaného přípravku zřetelně zaznamenány v pacientově dokumentaci. **Byly pozorovány imunitně podmíněné nežádoucí účinky postihující více než jeden tělesný systém.** Většina imunitně podmíněných nežádoucích účinků vyskytujících se v průběhu léčby atezolizumabem byla reverzibilních při přerušení podávání atezolizumabu a zahájení léčby kortikosteroidy a/ nebo podpůrné péče. Při podezření na imunitně podmíněné nežádoucí účinky musí být provedeno důkladné posouzení za účelem potvrzení etiologie a vyloučení jiných příčin. Podle závažnosti nežádoucího účinku je třeba ukončit podávání atezolizumabu a zahájit léčbu kortikosteroidy. Podrobné informace týkající se jednotlivých imunitně podmíněných nežádoucích reakcí a doporučení pro léčbu naleznete v Souhrnu údajů o přípravku. Všichni lékaři, kteří předepisují přípravek Tecentriq, musejí dobře znát Pokyny a informace pro lékaře týkající se léčby. Předepisující lékař musí s pacientem probrat rizika léčby přípravkem Tecentriq. Pacient dostane kartu pacienta a bude poučen, aby ji nosil stále u sebe. **Klinicky významné interakce:** S atezolizumabem nebyly provedeny žádné formální studie farmakokinetické lékové interakce. Protože se atezolizumab z cirkulace odstraňuje katabolismem, neočekávají se žádné metabolické lékové interakce. Před zahájením léčby atezolizumabem je třeba se vyvarovat užívání systémových kortikosteroidů nebo imunosupresiv. Systémové kortikosteroidy a imunosupresiva ale lze použít k léčbě imunitně podmíněných nežádoucích účinků po zahájení léčby atezolizumabem. **Hlavní klinicky významné nežádoucí účinky:** Nejčastějšími nežádoucími účinky (> 10 %) byly únava, snížená chuť k jídlu, nauzea, kašel, dušnost, horečka, průjem, vyrážka, muskuloskeletální bolest, bolest zad, zvracení, astenie, artralgie, pruritus a infekce močových cest. Bezpečnost atezolizumabu v kombinaci s jinými léčivými přípravky byla hodnocena u 3425 pacientů s různými typy nádorů. Nejčastějšími nežádoucími účinky ( $\geq 20\%$ ) atezolizumabu v kombinaci s jinými léčivými přípravky byly u pacientů s různým typem nádorů anémie, neutropenie, nauzea, únava, alopecie, trombocytopenie, průjem, vyrážka, zácpa, periferní neuropatie, snížená chuť k jídlu. Imunitně podmíněné nežádoucí účinky, které se vyskytly u < 5 % pacientů, zahrnovaly: pneumonitida, kolitida, hepatitida. U < 1 % pacientů se vyskytly: insuficience nadledvin, hypofyzitida, diabetes mellitus, meningoencefalitida, neuropatie, myastenický syndrom, pankreatitida, myokarditida, nefritida a myozitida, hypertyreóza. **Těhotenství a kojení:** Ženy ve fertilním věku musí během léčby atezolizumabem a 5 měsíců po poslední dávce používat účinnou antikoncepci. O použití atezolizumabu u těhotných žen nejsou k dispozici žádné údaje. Atezolizumab se nemá během těhotenství užívat, pokud klinický stav ženy nevyžaduje léčbu atezolizumabem. Není známo, jestli je atezolizumab vylučován do lidského mléka. Nelze vyloučit riziko pro novorozence/kojence. Je třeba učinit rozhodnutí, jestli ukončit kojení nebo ukončit podávání atezolizumabu s ohledem na prospěch kojení pro dítě a prospěch léčby pro ženu. **Balení přípravku:** 1 injekční lahvička s uzávěrem z butylové pryže a hliníkovým uzávěrem s plastovým šedým odtrhávacím víčkem obsahující 14 ml koncentrátu pro infuzní roztok. **Podmínky uchování:** Uchovávejte v chladničce (2 °C - 8 °C). Chraňte před mrazem. Uchovávejte injekční lahvičku v krabičce, aby byl přípravek chráněn před světlem. **Držitel registračního rozhodnutí:** Roche Registration GmbH, Emil-Barell-Strasse 1, 79639 Grenzach-Wyhlen, Německo. **Registrační číslo:** EU/1/17/1220/002. **Poslední revize textu:** 13. 5. 2020\_v2.0. **Výdej léčivého přípravku je vázán na lékařský předpis.** Léčivý přípravek není hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění. Další podmínky viz [www.sukl.cz](http://www.sukl.cz).

**Tento léčivý přípravek podléhá dalšímu sledování. To umožní rychlé získání nových informací o bezpečnosti. Žádáme zdravotnické pracovníky, aby hlásili jakákoli podezření na nežádoucí účinky na [www.sukl.cz](http://www.sukl.cz)/nahlasit-nezadouci-ucinek.** Další informace o přípravku získáte z platného Souhrnu údajů o přípravku Tecentriq, nebo na adrese: Roche s.r.o., Futurama Business Park Bld F, Sokolovská 685/136f, 186 00 Praha 8, telefon: 220 382 111. Podrobné informace o tomto přípravku jsou uveřejněny na webových stránkách Evropské lékové agentury (EMA) <http://www.ema.europa.eu/>.

REFERENCE: 1. Souhrn údajů o přípravku Tecentriq (datum poslední revize textu 13. 5. 2020).

Roche s.r.o., Futurama Business Park Bld F, Sokolovská 685/136f, 186 00 Praha 8, telefon: 220 382 111, [www.roche.cz](http://www.roche.cz)

M-CZ-00000628



## Karcinom děložního hrdla v graviditě

Karcinom děložního hrdla sám o sobě způsobuje mnohdy nemalé obtíže. Jeho vznik je spojován se sexuálně přenosnou infekcí lidským papilomavirem (Human papillomavirus – HPV), zejména s „high risk“ onkogenní skupinou. Promořenost HPV infekcí v populaci je cca 80 %. Infekci HPV si mohou vzájemně sexuální partneři předávat. Pokud není imunitní systém schopen přetrvávající HPV infekci v epitelu děložního hrdla zničit, dochází k perzistenci viru. Vlivem dalších faktorů, např. kouřením cigaret, pohlavní promiskuitou, koincidencí dalších sexuálně přenosných chorob, vrozenými či získanými imunodeficitními stavy, dlouhodobou imunosupresivní terapií atd. vznikají ideální podmínky pro zabudování HPV virionu do buněčného genomu s nastartováním přednádorových až nádorových změn. Při pravidelných gynekologických preventivních kontrolách může být onemocnění zatím diagnostikováno a řešeno již ve stádiu prekancerózy. „Low grade“ skvamózní intraepiteliální léze je nutné pravidelně sledovat. U prokázaných „high grade“ skvamózních intraepiteliálních lézí je primárně terapeuticky volena konizace děložního hrdla. Provedení konizace může za určitých podmínek ztěžovat možnost bezproblémového otěhotnění

a zvyšovat riziko potratovosti či předčasného porodu. V rámci prevence je v České republice od roku 2012 zavedena celoplošná vakcinace proti HPV infekci. V kombinaci s kvalitním screeningovým programem je vizí minimalizace výskytu karcinomů děložního hrdla. Dle mého názoru při dnešních možnostech ve zdravotnictví by měla být vakcinovaná proti „high risk“ HPV každá žena. V případě, že žena trpí imunodeficitními stavy v anamnéze a vakcinace u ní není vhodná, měla by mít „HPV bezpečného sexuálního partnera“, který je navakcinován proti infekci „high risk“ HPV. V současné době nových životních příležitostí dochází v populaci k přesunu plánování gravidit do vyšších věkových kategorií, kde je i vyšší incidence karcinomu děložního hrdla. To ztěžuje rozhodování v léčebném postupu u žen, které si přejí zachování fertility.

Úskalí karcinomu děložního hrdla nám přináší gravidita. Snahou je volit individuální přístup s ohledem na zachování těhotenství do viability plodu. Pokud bychom žili v ideálním světě, tak by každá žena otěhotněla se zdravým děložním hrdlem a porodníkům a zejména rodičkám by nenastávaly životní strasti. Bohužel tomu tak není. Žena může mít v těle HPV infekci v latentní fázi několik let, aniž

by docházelo ke klinickým projevům. Při HPV pozitivitě v průběhu gravidity může dojít k postupnému rozvoji přednádorových až nádorových změn. Diagnosticky je primárně odběr biopsie děložního hrdla na histologickou verifikaci. V rámci terapeutického managementu je třeba brát v úvahu nejen v jakém je žena týdnu gravidity, ale i stadium nemoci. Z chirurgických modalit je možné provedení konizace či trachelektomie děložního hrdla až po radikální hysterektomii. Lymfadenektomie se provádí pouze v indikovaných případech. V graviditě je možné aplikovat i chemoterapii, jejíž podávání je časováno spíše do II. trimestru pro minimalizaci fetálního poškození. Radioterapie je v graviditě kontraindikována. V rámci terapeutického managementu je nutno zdůraznit multioborovou spolupráci.

Osobně považuji za velice zajímavý článek „Zhubné nádory krčka matrice v graviditě“ MUDr. Nocarové, kde je komplexně probírána problematika diagnostiky a léčby karcinomu děložního hrdla u gravidních žen. Článek mohu vřele doporučit všem příznivcům Klinické onkologie.

*MUDr. Lucie Mouková, Ph.D.  
Oddělení gynekologické onkologie,  
MOÚ Brno*

# Obsah | Contents

## Editorial

**Karcinom děložního hrdla v graviditě** 243

## PŘEHLEDY | REVIEWS

**Integrovaná diagnostika difúzních gliomů** 248

Integrated diagnostics of diffuse gliomas

Hendrych M., Valeková H., Kazda T., Lakomý R., Šána J., Jančálek R., Slabý O., Hermanová M.

**Úloha CDK12 v rozvoji nádorů** 260

The role of CDK12 in tumor biology

Dzimková M., Procházková J., Klát J., Kohoutek J.

**Zhubné nádory krčka matrice v graviditě** 268

Cervical cancer in pregnancy

Nocarová L., Ondruš D.

**Role exozomů u nádorových onemocnění** 274

Role of exosomes in malignancies

Vodičková M., Gregorová J., Ždárská M., Vlachová M., Ševčíková S.

## PŮVODNÍ PRÁCE | ORIGINAL ARTICLES

**Nemoc těžkých řetězců imunoglobulinu gama** 280

Gamma-heavy chain disease

Kušnierová P., Zeman D., Jelínek T., Hájek R.

**Hematologická toxicita u IMRT/VMAT v kurativní léčbě análního karcinomu** 286

Haematotoxicity in IMRT/VMAT curatively treated anal cancer

Lohynská R., Nýdlová A., Drbohlavová T., Mazaná E., Jirkovská M., Veselský T., Malinová B., Stankušová H.

**Efficacy of pectoral nerve block type II versus thoracic paravertebral block for analgesia in breast cancer surgery** 296

Efektivita blokády pektorálního nervu typu II oproti torakální paravertebrální blokáde v analgézii po operácii tumoru prsníka

Martsiniv V. V., Loskutov O. A., Strokan A. M., Pylypenko M. M., Bondar M. V.

Pacienti jsou smyslem  
všeho, co děláme.  
Inspirují nás.  
Motivují nás.

Bojujeme s nádorovými  
onemocněními

**Bristol Myers Squibb je globální  
biofarmaceutická společnost. 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.  
Nakonec bude náš úspěch měřen jedinou věcí:  
jak úspěšně dokážeme změnit  
životy pacientů.



KAZUISTIKY | CASE REPORTS

**Atypický průběh typického karcinoidu plic**

Atypical course of typical lung carcinoid  
Jakubíková L.

302

**Akademická studie XR-TEMinDREC – kombinace konkomitantní neoadjuvantní chemoradioterapie následované lokální excizí operačním rektoskopem a akcelerovanou dispenzarizací u pacientů s mírně pokročilými stadii nízce sedícího adenokarcinomu konečníku a její průběh v MOÚ**

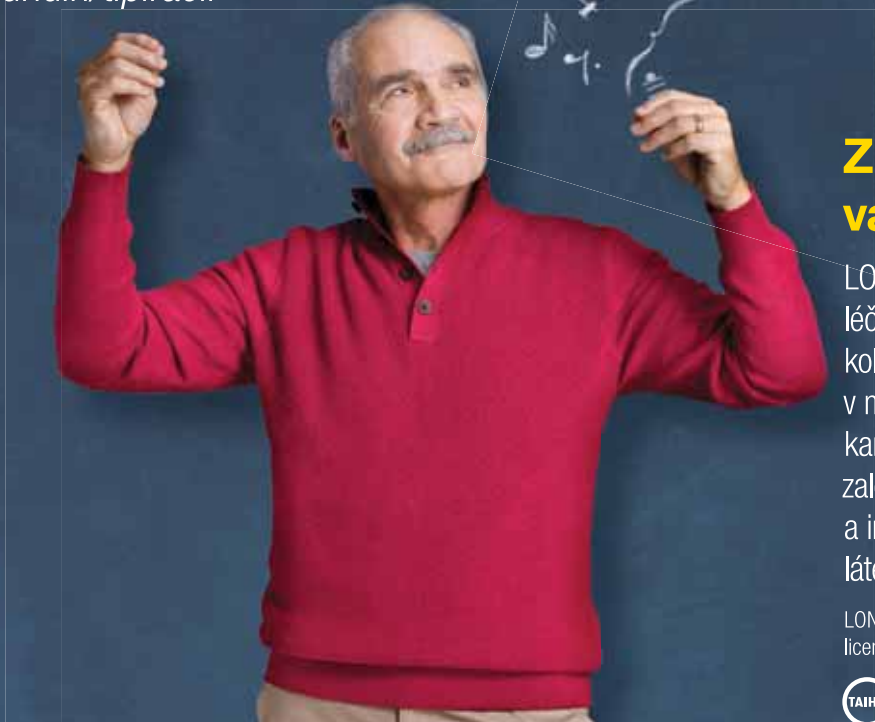
Academic Study XR-TEMinDREC – Combination of the Concomitant Neoadjuvant Chemoradiotherapy Followed by Local Excision Using Rectoscope and Accelerated Dispensarisation and Further Treatment of the Patients with Slightly Advanced Stages of Distant Localized Rectal Adenocarcinoma in MOÚ  
Ondrák M., Fiala L., Pospíšil P., Kocáková I., Pacal M.

309

# Léčba předléčených pacientů s mCRC

## Více času na zážitky

**Lonsurf**<sup>®</sup>  
trifluridin/tipiracil



### Změňte budoucnost vašich pacientů s mCRC

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

LONSURF<sup>®</sup> je vyvíjen společností Servier a Taiho, a na základě licence obchodován v příslušných teritoriích.

TAIHO TAIHO PHARMACEUTICAL CO., LTD.



**Zkrácená informace o přípravku Lonsurf<sup>®</sup>:** Tento léčivý přípravek podléhá dalšímu sledování.

**SLOŽENÍ\***: Lonsurf 15 mg/6,14 mg: jedna potahovaná tableta obsahuje trifluridinum 15 mg a tipiracilum 6,14 mg (jako tipiracili hydrochloridum). Lonsurf 20 mg/8,19 mg: jedna potahovaná tableta obsahuje trifluridinum 20 mg a tipiracilum 8,19 mg (jako tipiracili hydrochloridum). **INDIKACE\*\***: V monoterapii k léčbě dospělých pacientů s metastazujícím kolorektálním karcinomem, kteří byli v minulosti léčeni nebo nejsou vhodnými kandidáty pro dostupné terapie zahrnující chemoterapie založené na fluoropyrimidinu, oxaliplatině a irinotekanu, anti-VEGF látek a anti-EGFR látek. V monoterapii k léčbě dospělých pacientů s metastazujícím karcinomem žaludku včetně adenokarcinomu gastroesofageální jizevce, kteří byli dříve léčeni alespoň dvěma režimy systémové terapie pro pokročilé stadium onemocnění. **\*\* DÁVKOVÁNÍ A ZPŮSOB PODÁNÍ\***: Dávkování: Doporučená úvodní dávka je 35 mg/m<sup>2</sup>/dávku, podávaných perorálně dvakrát denně 1. až 5. den a 8. až 12. den každého 28denního cyklu do 1 hodiny po ranním a večerním jídle. Dávkování přípravku se počítá podle plochy povrchu těla a nesmí překročit 80 mg v 1 dávce. Úpravy dávkování jsou možné podle individuální bezpečnosti a snášenlivosti: jsou povoleny 3 snížení dávky na minimální hodnotu dávky 20 mg/m<sup>2</sup> dvakrát denně, zvýšení dávky není povoleno poté, co byla snížena. U pacientů s těžkou poruchou funkce ledvin se doporučuje úvodní dávka 20 mg/m<sup>2</sup> dvakrát denně. Na základě individuální bezpečnosti a snášenlivosti je povoleno jedno snížení dávky na minimální dávku 15 mg/m<sup>2</sup> dvakrát denně. Zvýšení dávky není povoleno poté, co byla snížena. **\*\* V případě hematologické a/nebo nehematologické toxicity mají pacienti dodržovat kritéria pro přerušování dávkování, opětovné zahájení léčby a snížení dávky viz Souhrn údajů o přípravku. **\*\* KONTRAINDIKACE\***: Hypersenzitivita na léčivé látky nebo na kteroukoli pomocnou látku. **ZVLÁŠTNÍ UPOZORNĚNÍ\***: Útlum kostní dřeně: Před zahájením terapie, a dále v intervalech potřebných k monitorování toxicity je nutno provádět vyšetření kompletního krevního obrazu, minimálně však před každým léčebným cyklem. Léčba nesmí být zahájena, je-li absolutní počet neutrofilů < 1,5 × 10<sup>9</sup>/l, počet trombocytů < 75 × 10<sup>9</sup>/l, nebo pokud má pacient nevyřešenou klinicky významnou nehematologickou toxicitu stupně 3 nebo 4 z předchozí léčby. Stav pacienta je třeba pečlivě sledovat a, je-li to klinicky indikováno, mají být nasazena adekvátní opatření. **Gastrointestinální toxicita**: antiemetika, léky proti průjmům a další opatření mají být nasazena, je-li to klinicky indikováno, úpravy dávkování (odložení a/nebo snížení) se mají aplikovat tak, jak je třeba. **Porucha funkce ledvin**: Přípravek Lonsurf se nedoporučuje k použití u pacientů s terminálním stadiem onemocnění ledvin (s clearance kreatininu [CrCl] < 15 ml/min nebo vyžadující dialýzu). **\*\* Pacienti s poruchou funkce ledvin mají být pečlivě monitorováni v průběhu léčby přípravkem Lonsurf\*\***; pacienti se středně těžkou a těžkou poruchou funkce ledvin by měli být častěji monitorováni kvůli hematologické toxicitě. **Porucha funkce jater**: přípravek Lonsurf se nedoporučuje k použití u pacientů s výchozí středně těžkou nebo těžkou poruchou funkce jater. **Proteinurie**: doporučuje se sledovat proteinurii za pomoci diagnostického proužku pro analýzu moči před zahájením a během léčby. **Pomocné látky**: laktosa. **INTERAKCE\***: Opatření je zapotřebí při používání léčivých přípravků, které jsou substráty pro nukleosidové transportéry CNT1, ENT1 a ENT2, inhibitory OCT2 a MATE1, a substráty lidské thymidin-kinázy (zidovudin). **FERTILITA\* TĚHOTENSTVÍ A KOJENÍ\***: Nedoporučuje se. **ANTIKONCEPCE\***: Muži i ženy musí používat účinnou antikoncepci v průběhu léčby a ještě 6 měsíců po ukončení léčby. **ÚČINKY NA SCHOPNOST ŘÍDIT A OBSLUHOVAT STROJE\***: může být pozorována únava, závrať nebo malátnost. **NEŽÁDOUCÍ ÚČINKY\***: **Velmi časté**: Neutropenie, leukopenie, anemie, trombocytopenie, snížená chuť k jídlu, průjem, nauzea, zvracení, únava. **Časté**: Infekce dolních cest dýchacích, febrilní neutropenie, lymfopenie, hypalbuminemie, dysgeuzie, periferní neuropatie, dušnost, bolest břicha, zácpa, stomatitida, orální poruchy, hyperbilirubinemie, syndrom palmoplantární erytrodysestezie, vyrážka, alopecie, pruritus, suchá kůže, proteinurie, pyrexie, edém, zánět sliznic, malátnost, zvýšená hladina jaterních enzymů, zvýšená hladina alkalické fosfatázy v krvi, snížení tělesné hmotnosti. **Méně časté**: Septický šok, střevní infekce, plicní infekce, infekce žlučových cest, chřipka, infekce močových cest, gingivitida, herpes zoster, tinea pedis, kandidózní infekce, bakteriální infekce, infekce, neutropenická sepsis\*\*, infekce horních cest dýchacích, konjunktivitida, nádorová bolest, pancytopenie, granulocytopenie, monocytopenie, erytropenie, leukocytóza, monocytóza, dehydratace, hyperglykemie, hyperkalemie, hypokalemie, hypofosfatemie, hypernatremie, hyponatremie, hypokalcemie, dna, úzkost, insomnie, neurotoxicita, dysestezie, hyperestezie, hypestezie, synkopa, parestezie, pocit pálení, letargie, závrať, bolest hlavy, snížení zrakové ostrosti, rozostřené vidění, diplopie, katarakta, suché oči, vertigo, ušní diskomfort, angina pectoris, arytmie, palpitace, embolie, hypertenze, hypotenze, zčervenání, plicní embolie, pleurální výpotek, rinorea, dysfonie, orofaryngeální bolest, epistaxe, kašel, hemoragická enterokolitida, gastrointestinální krvácení, akutní pankreatitida, ascites, ileus, subileus, kolitida, gastritida, refluxní gastritida, ezofagitida, porucha vyprazdňování žaludku, abdominální distenze, anální zánět, ulcerace v ústech, dyspepsie, gastroesofageální refluxní nemoc, proktalgie, bukalní polyp, krvácení dásní, glossitida, periodontální nemoc, onemocnění zubu, říhání, flatulence, zápach z úst, hepatotoxicita, biliární dilatace, olupování kůže, kopřivka, fotosenzitivní reakce, erytém, akné, hyperhidróza, puchýře, porucha nehtů, otok kloubů, artralgie, bolest kostí, myalgie, svalová a kosterní bolest, svalová slabost, svalové křeče, bolest končetin, renální selhání, neinfekční cystitida, porucha mikce, hematurie, leukocyturie, menstruační porucha, zhoršení celkového tělesného zdravotního stavu, bolest, pocit změně tělesné teploty, xeróza, diskomfort\*\*, zvýšená hladina kreatininu v krvi, elektrokardiogram: prodloužený interval QT, zvýšení INR, prodloužení APTT, zvýšená hladina ury v krvi, zvýšená hladina laktátdehydrogenázy v krvi, pokles celkové hladiny proteinů, vzestup C-reaktivního proteinu, pokles hematokritu. Post-marketingové zkušenosti: hlášeny případy intersticiálního plicního onemocnění. **PŘEDÁVKOVÁNÍ\* VLASTNOSTI\***: Trifluridin je antineoplastický analog nukleosidů založený na thymidinu a tipiracil-hydrochlorid je inhibitor thymidin-fosforylázy (TPázy). Po zachycení nádorovými buňkami je trifluridin fosforylován thymidin-kinázou, dále metabolizován na substrát kyseliny deoxyribonukleové (DNA) a přímo inkorporován do DNA, čímž narušuje funkci DNA a brání proliferaci buněk. Po perorálním podání je však trifluridin rychle rozkládán TPázou a ihned metabolizován efektem prvního průchodu, proto je do složení přidán inhibitor TPázy, tipiracil-hydrochlorid. **PODMÍNKY UCHOVÁVÁNÍ\***: Nevyžaduje žádné zvláštní podmínky uchovávání. **BALENÍ\***: Balení obsahuje 20, 40 nebo 60 potahovaných tablet. Datum poslední revize textu: 04/2020, Registrační číslo: EU/1/16/1096/001-006, Držitel registračního rozhodnutí: Les Laboratoires Servier, 50 rue Carnot, 92284 Suresnes cedex, Francie, www.servier.com. Před předepsáním přípravku si přečtěte Souhrn údajů o přípravku. Výdej léčivého přípravku je vázán na lékařský předpis. Přípravek je hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění v indikaci kolorektálního karcinomu, není hrazen v indikaci karcinomu žaludku, viz Seznam cen a úhrad léčivých přípravků: <http://www.sukl.cz/sukl/seznam-leciv-a-pzu-hrazeny-ze-zdrav-pojisteni> Přípravek k dispozici v lékárnách. Další informace lze vyžádat na adrese Servier s.r.o., Na Florenci 2116/15, 110 00 Praha 1, tel.: (+420) 222 118 111, [www.servier.cz](http://www.servier.cz)**

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

\*\* všimněte si prosím změn v informaci o léčivém přípravku Lonsurf

# Integrovaná diagnostika difúzních gliomů

## Integrated diagnostics of diffuse gliomas

Hendrych M.<sup>1</sup>, Valeková H.<sup>2</sup>, Kazda T.<sup>3</sup>, Lakomý R.<sup>4</sup>, Šána J.<sup>5</sup>, Jančálek R.<sup>2</sup>, Slabý O.<sup>5</sup>, Hermanová M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> I. ústav patologie, LF MU a FN u sv. Anny v Brně

<sup>2</sup> Neurochirurgická klinika LF MU a FN u sv. Anny v Brně

<sup>3</sup> Klinika radiační onkologie LF MU a MOÚ Brno

<sup>4</sup> Klinika komplexní onkologické péče LF MU a MOÚ Brno

<sup>5</sup> CEITEC – Středoevropský technologický institut, MU Brno

### Souhrn

Klasifikace nádorů centrálního nervového systému (CNS) Světové zdravotnické organizace (World Health Organization – WHO) zaznamenala v posledních letech zásadní změny. V současnosti platná revidovaná WHO klasifikace nádorů CNS z roku 2016 zavádí koncept tzv. integrované diagnostiky, inkorporující kromě histopatologického morfologického nálezu a imunofenotypu i molekulárně-genetické charakteristiky nádoru. Výsledná integrovaná diagnóza tedy zahrnuje jak tradiční morfologické a růstové charakteristiky nádoru vč. jeho histopatologického gradu, tak konkrétní molekulární biomarkery. Klasifikace nádorů založená na kombinaci fenotypu a genotypu nádorů umožňuje přesnější prognostickou stratifikaci, zvyšuje objektivitu diagnostiky a umožňuje lépe predikovat odpověď na protinádorovou léčbu. V roce 2017 bylo současně ustanoveno mezinárodní konsorcium (The Consortium to Inform Molecular and Practical Approaches to CNS Tumor Taxonomy – not official WHO (cIMPACT-NOW)), které v obdobích mezi vydáním jednotlivých WHO klasifikací nádorů CNS tvoří a formuluje praktická doporučení pro integrovanou diagnostiku nádorů CNS a budoucí WHO klasifikaci. Začlenění molekulárních biomarkerů do integrované diagnostiky zásadním způsobem změnilo zejména klasifikaci difúzních gliomů, které v sobě zahrnují jednotky s odlišnými morfologickými charakteristikami, genetickými alteracemi a biologickým chováním. Přehledová práce shrnuje základní morfologické, imunofenotypické a molekulárně genetické charakteristiky difúzních gliomů v rámci integrované diagnostiky dle platné WHO klasifikace nádorů CNS 2016 a následných doporučení diagnostických postupů.

### Klíčová slova

difúzní gliomy – integrovaná diagnóza – WHO 2016

Tato práce byla podpořena Ministerstvem zdravotnictví České republiky – Koncepční rozvoj výzkumné organizace (MMCI 00209805) a Grantovou agenturou Masarykovy univerzity (MUNI/A/1562/2018).

This work was supported by grant of the Ministry of Health of the Czech Republic – Conceptual Development of a Research Organization (MMCI 00209805) and Grant Agency of Masaryk University (MUNI/A/1562/2018).

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. Michal Hendrych**

I. ústav patologie

FN u sv. Anny v Brně

Pekařská 53

656 91 Brno

e-mail: [michal.hendrych@fnusa.cz](mailto:michal.hendrych@fnusa.cz)

Obdrženo/Submitted: 3. 1. 2020

Přijato/Accepted: 2. 2. 2020

doi: 10.14735/amko2020248



## Summary

Recently, the World Health Organization (WHO) classification of tumours of the central nervous system (CNS) has brought essential changes. The currently valid revised WHO 2016 classification of CNS tumours introduced the concept of integrated diagnostics, which incorporated not only histopathological morphological finding and immunophenotype but also molecular-genetic characteristics of the tumour. Thus, the final integrated diagnosis comprises the traditional morphological and growth pattern characteristics of a tumour including histopathological grade and also specific molecular biomarkers. The classification of tumour based on a combination of both tumour phenotype and genotype enables more precise prognostic stratification, increases the objectivity of diagnostics and prediction of response to treatment. In 2017, an international platform, The Consortium to Inform Molecular and Practical Approaches to CNS Tumor Taxonomy – not official WHO (cIMPACT-NOW), was established to create and formulate practical recommendations for integrated diagnostics of CNS tumours and upcoming WHO classification. The incorporation of molecular biomarkers into the integrated diagnostics radically changed the classification of diffuse gliomas, which include entities with different morphological characteristics, genetic alterations and biological behaviour. This review article summarizes essential morphological, immunophenotypical and molecular genetic characteristics of diffuse gliomas within the scope of integrated diagnostics according to the valid WHO classification of tumours of the CNS and subsequent recommendations of diagnostic approaches.

## Key words

diffuse gliomas – integrated diagnosis – WHO 2016

## Úvod

Gliomy představují nejčastější primární nádory mozku, reprezentující až 75 % primárních malignit mozku, s nejvyšším zastoupením glioblastomu. Definujícím znakem difúzních astrocytárních a oligodendroglálních nádorů je difúzní infiltrativní charakter růstu v mozku či míše bez zřetelného ohraničení nádorového infiltrátu.

V rámci integrované diagnostiky dle revidované WHO klasifikace nádorů centrálního nervového systému (CNS) 2016 [1] jsou difúzní astrocytární a oligodendroglální nádory klasifikovány na základě mutačního statu IDH (izocitrátdehydrogenázy) jako IDH-mutované nebo IDH-wildtype difúzní gliomy (tab. 1). IDH-mutované nádory jsou dále členěny na IDH-mutované astrocytární nádory a oligodendroglomy, IDH-mutované, s kódelecí 1p/19q. IDH-mutované low grade difúzní gliomy (WHO grade (G) II) se vyznačují potenciálem progresu v high grade anaplastické gliomy (WHO G III). resp. u astrocytárně diferencovaných nádorů až v glioblastom (WHO G IV). Glioblastomy vznikající progresí z IDH-mutovaných astrocytomů nižšího gradu jsou označovány jako sekundární glioblastomy, na rozdíl od primárních *de novo* vznikajících, téměř výhradně IDH-wildtype glioblastomů. Samostatně definovanou jednotku představuje v rámci nové integrované diagnostiky difúzní středocharový gliom, s mutací K27M v genech pro histon 3 (H3) [2].

Integrovaná diagnostika gliomů samostatně vyčleňuje skupinu gliomů, pro

kteří je typický ohraničený typ růstu, postrádají mutace *IDH* genů a jsou často nositeli alterací genu *BRAF*. Jde o pilocytární astrocytom WHO G I, pleomorfní xantastrocytom WHO G II nebo III a subependymální obrovskobuněčný astrocytom WHO G I [2].

Integrovaná diagnostika vyžaduje aplikaci rozsáhlého spektra molekulárně-patologických a genetických vyšetření do rutinní diagnostické praxe. V současnosti jsou široce využívány zejména metodiky detekující alterace jednotlivých genů a jejich genových produktů (imunohistochemie, cytogenetické přístupy (např. fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH), techniky polymerázové řetězové reakce (polymerase chain reaction – PCR) a Sangerova metoda či pyrosequencing). Metody sekvenování nové generace (next generation sequencing, NGS) umožňují současné analýzy více genů, jak na přítomnost mutací a fúzí, tak na detekci změn počtu kopií příslušných genů. V současnosti jsou komerčně dostupné genové panely pro identifikaci genetických alterací v mozkových nádorech vč. gliomů, umožňující v rutinní diagnostické praxi vyšetření biomarkerů s významem nejen diagnostickým, ale i prognostickým a prediktivním.

Doporučené diagnostické postupy difúzních gliomů respektují platnou revidovanou WHO klasifikaci nádorů CNS 2016 a inkorporují recentní doporučení mezinárodního konsorcia neuropatologů a klinických neuroonkologů (The Consortium to Inform Molecular and Practical Approaches to

CNS Tumor Taxonomy – not official WHO (cIMPACT-NOW)), které prezentuje praktická doporučení pro tkáňovou diagnostiku mozkových nádorů na základě nových informací a recentních zjištění [3].

## Histologická klasifikace a grading difúzních gliomů

Diagnostickou kaskádu zahajuje standardní histopatologické vyšetření a posouzení růstových charakteristik nádoru, jeho diferenciací a stanovení histopatologického gradu. Difúzní gliomy jsou charakterizovány infiltrativním typem růstu v mozkové tkáni, neostrým ohraničením nádorového infiltrátu, průkaznou přítomností reziduální tkáně CNS mezi buňkami nádorového infiltrátu, klesající denzitou nádorových buněk směrem od centra nádoru do periferie a přítomností vysoce specifických tzv. sekundárních struktur difúzně rostoucího gliomu v okraji invazivní fronty gliomu. Zde identifikujeme infiltraci nádorovými buňkami perineuronálně (obraz tzv. perineuronální satelitózy), perivaskulárně a subpiálně. Imunohistochemický průkaz exprese neurofilament v reziduálních axonech mezi nádorovými buňkami podporuje průkaz infiltrativního charakteru růstu difúzních gliomů a jejich diferenciální diagnostiku vzhledem ke gliomům s ohraničeným typem růstu. Tato diferenciální diagnostika je komplikovaná zejména v případech, kdy je pro diagnostické účely k dispozici pouze centrum tumoru a posouzení okraje invazivní fronty difúzně rostoucího gliomu není možné [1].

**Tab. 1. WHO 2016 klasifikace difúzních gliomů vč. recentních doporučení cIMPACT-NOW.**

Difúzní infiltrující astrocytární a oligodendroglální nádory	ICD-O	WHO grade	Diagnostické biomarkery (WHO 2016 definující tučně vyznačeny)
difúzní astrocytom, IDH-mutovaný (mt)	9440/3	II	<b>IDH1/2 mutace</b> , ztráta exprese ATRX
gemistocytární astrocytom, IDH-mutovaný (varianta)	9411/3	II	
difúzní astrocytom, IDH-wildtype (wt)*	9400/3	(II)**	mutace promotoru <i>TERT</i> , amplifikace <i>EGFR</i> , +7/-10
difúzní astrocytom, NOS	9400/3	II	-
anaplastický astrocytom, IDH-mutovaný	9401/3	III	<b>IDH1/2 mutace</b> , ztráta exprese ATRX
anaplastický astrocytom, IDH-wildtype*	9401/3	(III)**	mutace promotoru <i>TERT</i> , amplifikace <i>EGFR</i> , +7/-10
anaplastický astrocytom, NOS	9401/3	III	-
glioblastom, IDH-wildtype	9440/3	IV	
obrovskobuněčný glioblastom (varianta)	9441/3	IV	mutace promotoru <i>TERT</i> , amplifikace <i>EGFR</i> , +7/-10, mutace H3-G34
gliosarkom (varianta)	9442/3	IV	
epiteloidní glioblastom (provizorní varianta)*	9440/3	IV	
glioblastom, IDH-mutovaný (sekundární glioblastom)	9445/3	IV	<b>IDH1/2 mutace</b> , ztráta exprese ATRX
glioblastom, NOS	9440/3	IV	-
difúzní středočarový gliom, H3 K27M-mutovaný	9385/3	IV	<b>mutace H3-K27M</b>
oligodendrogliom, IDH-mutovaný, s kodelecí 1p/19q	9450/3	II	<b>IDH1/2 mutace, kodelece 1p/19q</b> , mutace promotoru <i>TERT</i>
oligodendrogliom, NOS	9450/3	II	-
anaplastický oligodendrogliom, IDH-mutovaný, s kodelecí 1p/19q	9451/3	III	<b>IDH1/2 mutace, kodelece 1p/19q</b> , mutace promotoru <i>TERT</i>
anaplastický oligodendrogliom, NOS	9451/3	III	-
oligoastrocytom, NOS*	9382/3	II	-
anaplastický oligoastrocytom, NOS*	9382/3	III	-

\*provizorní jednotka ve WHO 2016 klasifikaci nádorů CNS

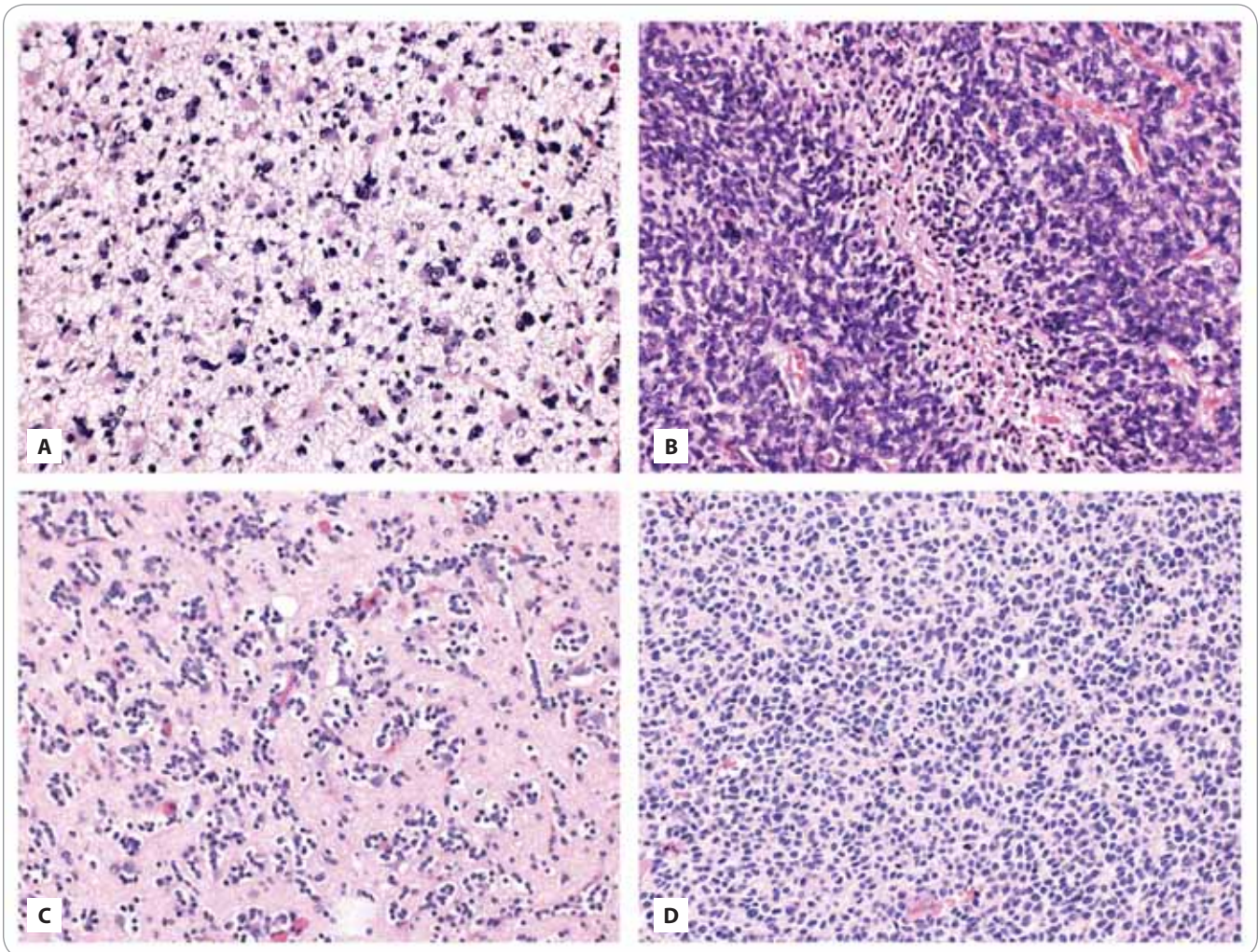
\*\*dle doporučení cIMPACT-NOW difúzní a anaplastické astrocytomy, IDHwt, ve kterých byly identifikována amplifikace *EGFR* a/nebo kompletní ztráta chromozomu 10 v kombinaci se ziskem chromozomu 7 (-10/+7) a/nebo mutace v promotorové oblasti genu *TERT*, klasifikovat jako difúzní astrocytární gliomy, IDHwt, s molekulárními znaky glioblastomu, WHO grade IV

cIMPACT-NOW – mezinárodní konsorcium neuropatologů a neuroonkologů The Consortium to Inform Molecular and Practical Approaches to CNS Tumor Taxonomy – not official WHO, ICD-O – mezinárodní klasifikace onemocnění pro onkologii, NOS – Not Otherwise Specified

Difúzní gliomy morfologicky vykazují známky astrocytární (fibrilární či méně často gemistocytární) nebo oligodendroglální diferenciace. Konvenční známky fibrilární astrocytární diferenciace nádorových buněk zahrnují přítomnost buněk s nenápadnou cytoplazmou, s protáhlými hyperchromními jádry, s jadernými atypiami a nepravidelnostmi jaderných kontur. Gemistocytárně diferencované buňky se vyzna-

čují objemnou eosinofilní cytoplazmou a krátkými větvíci se výběžky. Oligodendroglálně diferencované buňky jsou charakterizovány přítomností uniformních kulatých či oválných jader, ostrými jadernými hranicemi, jemně zrnitým chromatinem a perinukleárním projasněním cytoplazmy, s charakteristickou sítí jemných větvíci se kapilár na pozadí (obr. 1) [4,5]. U části difúzních gliomů lze morfologicky prokázat pří-

tomnost směsné populace nádorových buněk, oligo- a astrocytárně diferencovaných, či přechodných buněčných typů. Současná klasifikace nádorů CNS WHO 2016 jednotku oligoastrocytomu prakticky eliminovala, difúzní a anaplastický oligoastrocytom představují pouze provizorní jednotky, které jsou ve většině případů po provedení molekulárních testů a integrované diagnostiky re-klasifikovány jako astrocytomy (IDH-



**Obr. 1. Typická morfologie infiltrujících gliomů.**

A) Difúzní astrocytom, středně celulární nádorová proliferace tvořena atypickými fibrilárními astrocyty.

B) Glioblastom, hypercelulární tumor s palisádující nekrózou.

C) Oligodendrogliom, středně celulární proliferace oválných buněk s perinukleárním projasněním v síti bohatě větvených kapilár.

D) Anaplastický oligodendrogliom, hypercelulární proliferace s brskní mitotickou aktivitou.

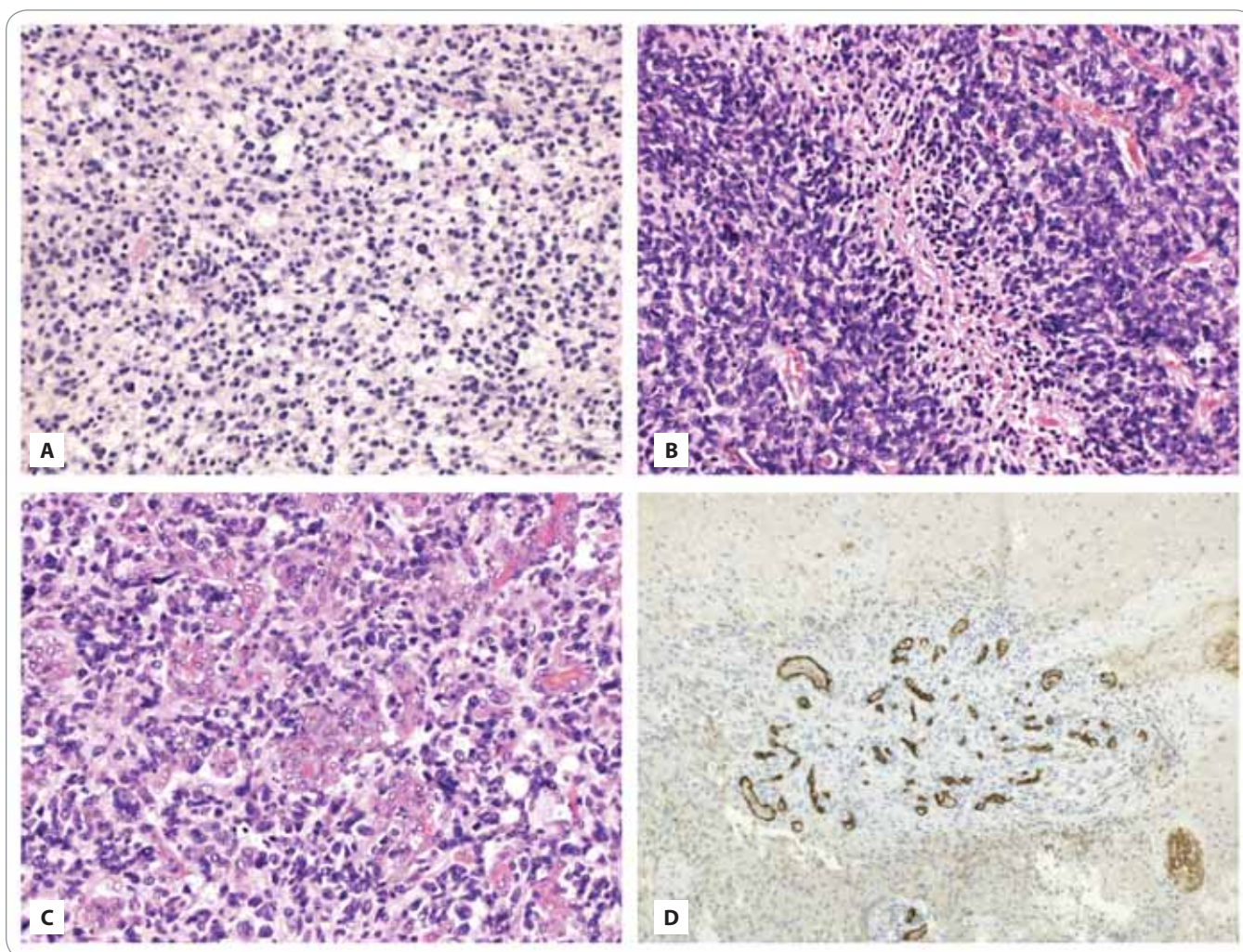
A–D) Hematoxylin-eozin, původní zvětšení 200×

-mutované nebo IDH-wildtype) či oligodendrogliomy (IDH-mutované, s kódelecí 1p/19q) příslušných gradů. Pouze v případě, že molekulární testy nemohou být provedeny či jejich výsledky jsou nekonkluzivní, je oprávněná diagnóza oligoastrocytomu resp. anaplastického oligoastrocytomu, NOS (Not Otherwise Specified) resp. NEC (Not Elsewhere Specified). Zcela raritně byly popsány případy difúzních gliomů s distinktními komponentami astrocytární a oligodendroglíální, morfologicky i molekulárně geneticky, které však v současném klasifikačním schématu nepředstavují samostatně definované jednotky [6].

Glioblastomy mohou vykazovat i morfologii sarkomatoidní, epiteloidní či obrovskobuněnou, reflektovanou v platné WHO klasifikaci přítomností variantních jednotek této jednotky (tab. 1). Gliomatosis cerebri nepředstavuje v klasifikaci WHO 2016 distinktní jednotku, reprezentuje infiltrativní charakter růstu difúzních astrocytárních a oligodendroglíálních tumorů. Zrušení této jednotky je však kontroverzní [1].

Grading difúzních gliomů je v rámci WHO 2016 klasifikace nádorů CNS stále založen na histopatologickém morfologickém vyšetření, vychází z hodnocení celularity, přítomnost cytonukleárních

ních atypií (jaderné i buněčné variability, tvarové i velikostní, hyperchromazie jader), známek anaplazie (ztráty diferenciacie), signifikantní mitotické aktivity a přítomnosti mikrovaskulárních proliferátů a nekros. WHO G II difúzních astrocytomů je definován přítomností jaderných atypií, WHO G III anaplastické astrocytomy jsou charakterizovány zvýšenou mitotickou aktivitou, obvykle provázenou i výraznějšími cytonukleárními atypiami a hypercelularitou, definujícím znakem WHO G IV glioblastomů je pak přítomnost mikrovaskulárních proliferátů a/nebo nekros, geografických či často palisádujících. Konvenční oli-



**Obr. 2. Grading.**

A) Cytonukleární atypie a briskní mitotická aktivita u anaplastického astrocytomu.

B) Palisádující nekróza zachycena v glioblastomu.

C+D) Glomeruloidní vaskulární proliferát zastížen u glioblastomu.

D) Imunohistochemické vyšetření exprese CD31.

A–C) Hematoxylin-eozin, původní zvětšení 200×, D) Původní zvětšení 100×

godendrogliomy představují WHO G II difúzní gliomy, přičemž hypercelularita, přítomnost jaderných atypií, nekrotizace, mikrovaskulárních proliferátů a briskní mitotické aktivity podmiňuje diagnózu WHO G III anaplastického oligodendrogliomu (obr. 2) [1].

Výjimku z tohoto schématu představuje difúzní středočarový gliom, H3-K27-mutovaný, který je vzhledem ke své nepříznivé prognóze vždy klasifikován jako WHO G IV, bez ohledu na morfologicky stanovený grade. Obdobně by dle recentních doporučení mezinárodního konsorcia CIMPACT-NOW měly být klasifikovány gradem IV také difúzní astrocy-

tární gliomy, IDH-wildtype, s molekulárními znaky glioblastomu [7].

#### **IDH mutační analýza a diferenciální diagnostika IDH-mutovaných difúzních gliomů**

Součástí standardního diagnostického postupu je v rámci integrované diagnostiky stanovení mutačního statutu IDH (schéma 1). Mutace R132 genu *IDH1* nebo R172 genu *IDH2* byly prokázány v 80–90 % adultních WHO G II a GIII difúzních astrocytomů, oligodendrogliomů a sekundárních glioblastomů. Izocitrátdehydrogenáza představuje

enzym, který je zodpovědný za konverzi izocitrátu na  $\alpha$ -ketoglutarát v citrátovém cyklu. Mutovaná forma IDH navíc získává schopnost katalyzovat redukci  $\alpha$ -ketoglutarátu na D-2-hydroxyglutarát, onkometabolit, který interferuje s celou řadou buněčných procesů a nepřímo inhibuje transkripci důležitých tumor supresorových genů a přispívá ke vzniku IDH-mutovaného difúzního gliomu [8]. Mutace R132H genu *IDH1* vznikající substitucí c.395G>A a vedoucí k záměně argininu za histidin v polypeptidovém řetězci (mutace měnící smysl; missense mutation) představuje nejčastější mutaci a je detekovatelná imunohistochemicky vy-

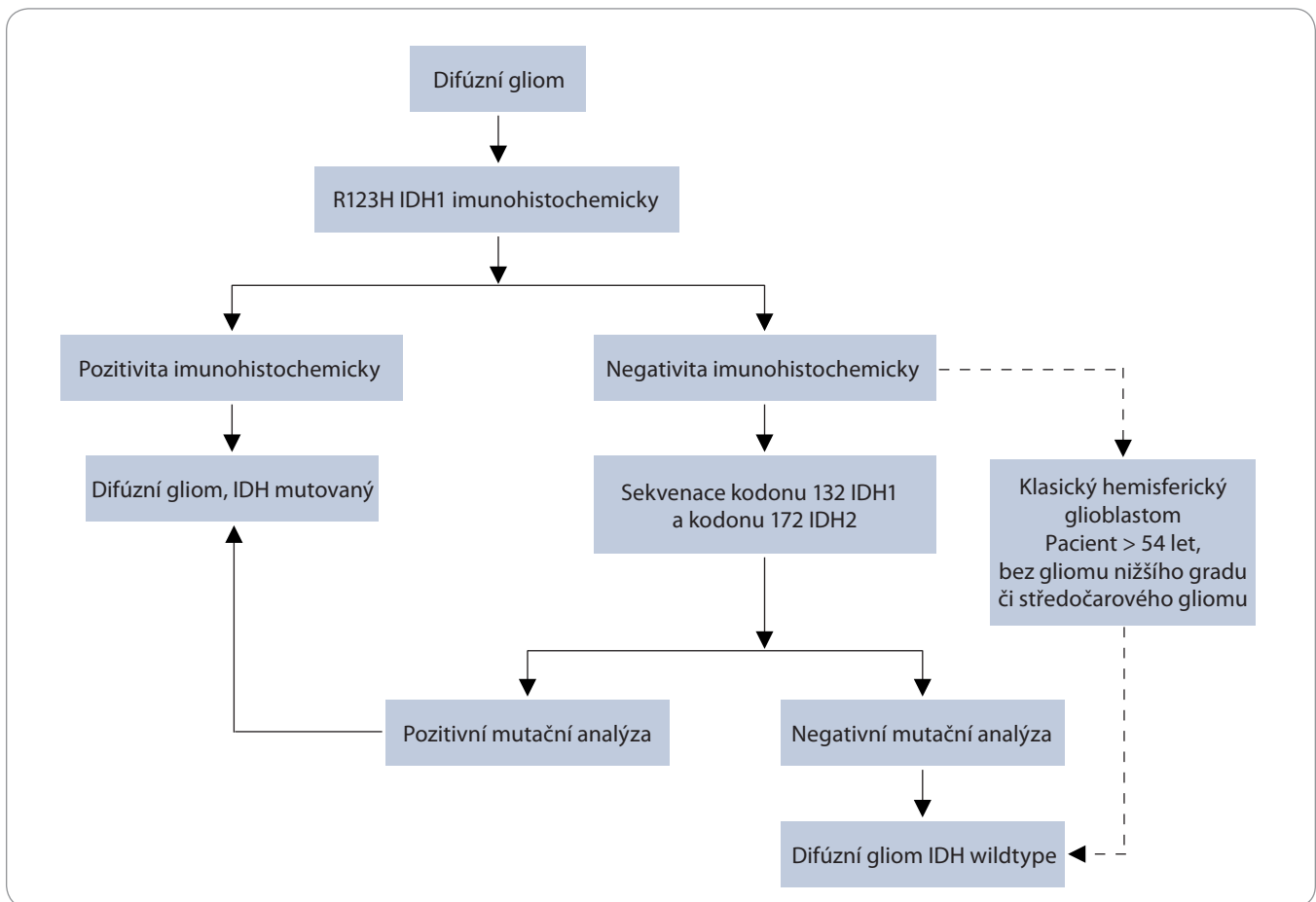


Schéma 1. Algoritmus pro vyšetření genů IDH. IDH – izocitrátdehydrogenáza

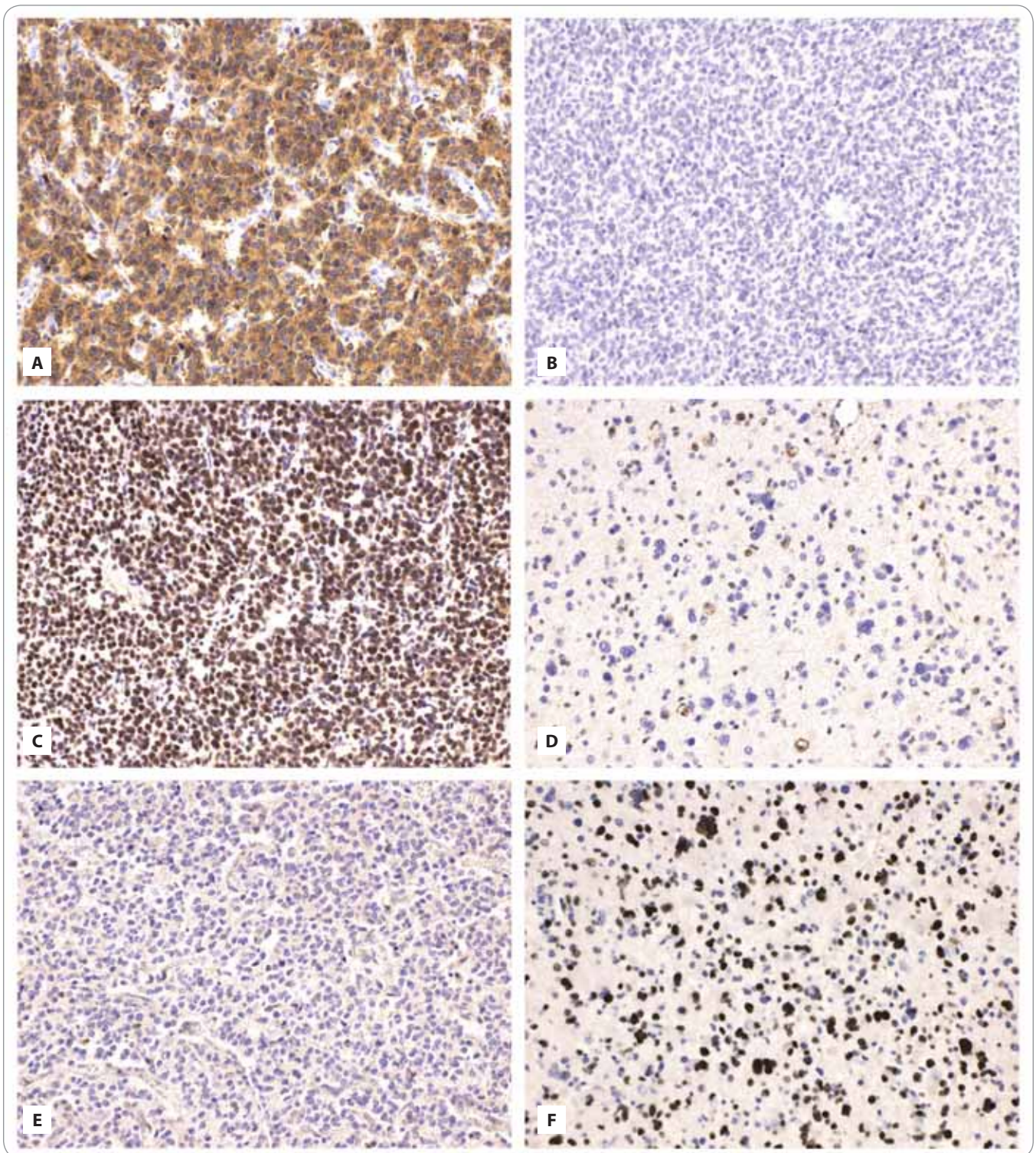
soce senzitivní a specifickou protilátkou proti takto mutovanému proteinu. Imunohistochemicky prokázaná pozitivita IDH1–R132H (obr. 3A) potvrzuje diagnózu IDH-mutovaného difúzního gliomu. U imunohistochemicky IDH1–R132H negativních nádorů (obr. 3B) je za účelem identifikace vzácnějších mutací *IDH* genů indikována sekvenace kodonu 132 genu *IDH1* a kodonu 172 genu *IDH2* [9]. Sekvenace genů *IDH* není v případě negativity imunohistochemického vyšetření indikována u pacientů starších 54 let, s histologicky klasickým glioblastomem v nestředočarové lokalizaci, bez gliomu nižšího gradu či gliomu ve středočarové lokalizaci v anamnéze. V těchto případech je pravděpodobnost výskytu mutace *IDH* zanedbatelná a pro průkaz statu IDH-wildtype je dostačující negativní imunohistochemické vyšetření exprese IDH1-R132H [10].

Integrovaná diagnostika difúzních gliomů definuje oligodendrogliomy

jako nádory IDH mutované, s kódelecí 1p/19q. Vyšetření kódelecí 1p/19q tedy stratifikuje IDH-mutované astrocytomy a IDH-mutované oligodendrogliomy s kódelecí 1p/19q. Genotyp je v rámci integrované diagnostiky nadřazen fenotypu difúzního gliomu. IDH-mutovaný difúzně rostoucí gliom je klasifikován jako oligodendrogliom i v případě astrocytární morfologie, pokud je prokázána kódelec 1p/19q. Pro diagnózu oligodendrogliomu je rozhodující pouze kompletní ztráta obou chromozomálních ramének asociována se signifikantně delším přežíváním pacientů. Inkompletní chromozomální ztráty v předmětných lokalizacích nejsou pro diagnózu oligodendrogliomu určující, a naopak jsou často identifikovány v astrocytárních tumorech [11]. Pro detekci delecí 1p/19q je v praxi nejčastěji využívána fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH), která se však vyznačuje rizikem falešně pozitivního výsledku prů-

kazu kódelecí 1p/19q vzhledem k tomu, že nejčastěji využívané a komerčně dostupné proby se vází na distální konce ramének chromozomů 1 a 19, s čímž je spojeno riziko průkazu pouze fokální delecí. Doporučené postupy molekulárního testování kódelecí 1p/19q tedy zahrnují metodiky umožňující identifikaci kompletních ztrát chromozomálních ramének (např. MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification), array CGH (comparative genomic hybridization) nebo analýza variability počtu kopií vybraných sekvencí (copy number variation; CNV) pomocí NGS). Možné a v budoucnu žádoucí je využití FISH s komerčně dostupnými probami detekujícími proximálnější úseky sledovaných chromozomálních ramének.

V IDH-mutovaných astrocytomech je častá alterace genu *ATRX* (a-thalassemia mental retardation syndrom X-linked), obvykle provázená i mutacemi v tumor supresorového genu *TP53*. *ATRX*



**Obr. 3. Imunohistochemické vyšetření exprese IDH1-R132H, ATRX a p53.**

A) Pozitivní reakce prokazující mutaci R132H genu *IDH1*.

B) Negativní reakce vylučující mutaci R132H genu *IDH1*.

C) Wildtype nukleární exprese ATRX.

D) Ztráta nukleární exprese ATRX v jádrech nádorových buněk při zachované nukleární expresi v nenádorových buňkách – průkaz mutace genu *ATRX*.

E) Wildtype nukleární exprese p53.

F) Akumulace mutovaného proteinu p53 intranukleárně.

A–F) Původní zvětšení 200×

představuje protein hrající roli v zachování chromatinové struktury telomer. Inaktivační mutace *ATRX* je asociovaná s procesem alternativního prodlužování telomer, esenciálního procesu poskytující nádorové buňce schopnost se nekonečně množit [12]. Jaderná exprese *ATRX* je rutinně vyšetřována imunohistochemicky, mutace *ATRX* jsou obvykle asociovaný se ztrátou jaderné exprese *ATRX* (obr. 3C, D). Hodnocení imunohistochemických vyšetření exprese *ATRX* vyžaduje velkou pozornost, je citlivé na postupy v preanalytické fázi (např. fixaci) a pro průkaz ztráty jaderné exprese *ATRX* v nádorových buňkách indikující přítomnost mutovaného *ATRX* je nutná přítomnost interní pozitivní kontroly – průkazná exprese *ATRX* v buňkách nenádorového pozadí, endoteliálních, zánětlivých, atd. v hodnoceném úseku.

Interpretace výsledků imunohistochemického vyšetření exprese p53 vyžaduje rovněž velkou pozornost. Většina mutací *TP53* jsou tzv. „missense“ mutace, v důsledku kterých dochází k jaderné akumulaci proteinu. Imunohistochemické vyšetření není senzitivní ani specifické pro průkaz mutací *TP53* a musí být inter-

pretováno v kontextu s morfologií a dalšími imunohistochemickými a molekulárně genetickými nálezy. Pouze případy vykazující extenzivní a silnou jadernou pozitivitu p53 ve více než 10 % gliálních buněk mohou být s velkou pravděpodobností interpretovány jako p53 pozitivní/*TP53* mutované a současně absence jaderné positivity p53 nevylučuje mutovaný *TP53* (např. v důsledku delece *TP53*) (obr. 3E, F) [13].

Doporučení cIMPACT-NOW konsorcia umožňuje integrovanou diagnózu IDH-mutovaného astrocytomu pro případ difúzních gliomů histologicky s astrocytární morfologií, s imunohistochemicky prokázanou ztrátou jaderné exprese *ATRX* a/nebo silnou difúzní imunopozitivou p53 bez nutnosti dalšího testování na přítomnost kodelecí 1p/19q. Genotyp difúzního gliomu *IDH/ATRX* a/nebo *TP53* mutovaný je tedy konzistentní s diagnózou astrocytomu [7].

V diagnostickém algoritmu je nutné vzít v úvahu i skutečnost, že ne všechny mutace *ATRX* jsou asociovaný se ztrátou jaderné exprese *ATRX* a přítomnost jaderné exprese *ATRX* v IDH-mutovaném nádoru nevylučuje diagnózu astrocytomu. U IDH-mutovaných difúzních gliomů se zachovalou jadernou expresí *ATRX* a bez signifikantní imunopozitivity p53 je tedy indikováno vyšetření kodelecí 1p/19q pro vyloučení diagnózy oligodendrogliomu i v případech, kdy morfologický histopatologický nálezn není pro oligodendrogliom typický (schéma 2).

Telomerázová reverzní transkriptáza (*TERT*) představuje funkční jednotku enzymu telomerázy, která se uplatňuje v procesu zachování délky telomer při buněčném dělení, zamezující jejich zkracování. Mutace v promotorové oblasti genu *TERT* byly prokázány i v difúzních gliomech, v oligodendrogliomech a primárních glioblastomech. Mutace promotoru *TERT* se téměř nevyskytují v IDH-mutovaných astrocytomech, kde se preferenčně uplatňuje v procesu zachování délky telomer mutovaný *ATRX*, obvykle provázený i mutacemi *TP53*. Sekvence promotorové oblasti genu *TERT* představuje účinný nástroj pro detekci této alterace, imunohistochemický průkaz *TERT* nekoreluje s mutačním stavem *TERT*. Amplifikace *TERT* či rearanže promotoru *TERT* představují alternativní mechanismy zachování délky telomer [12].

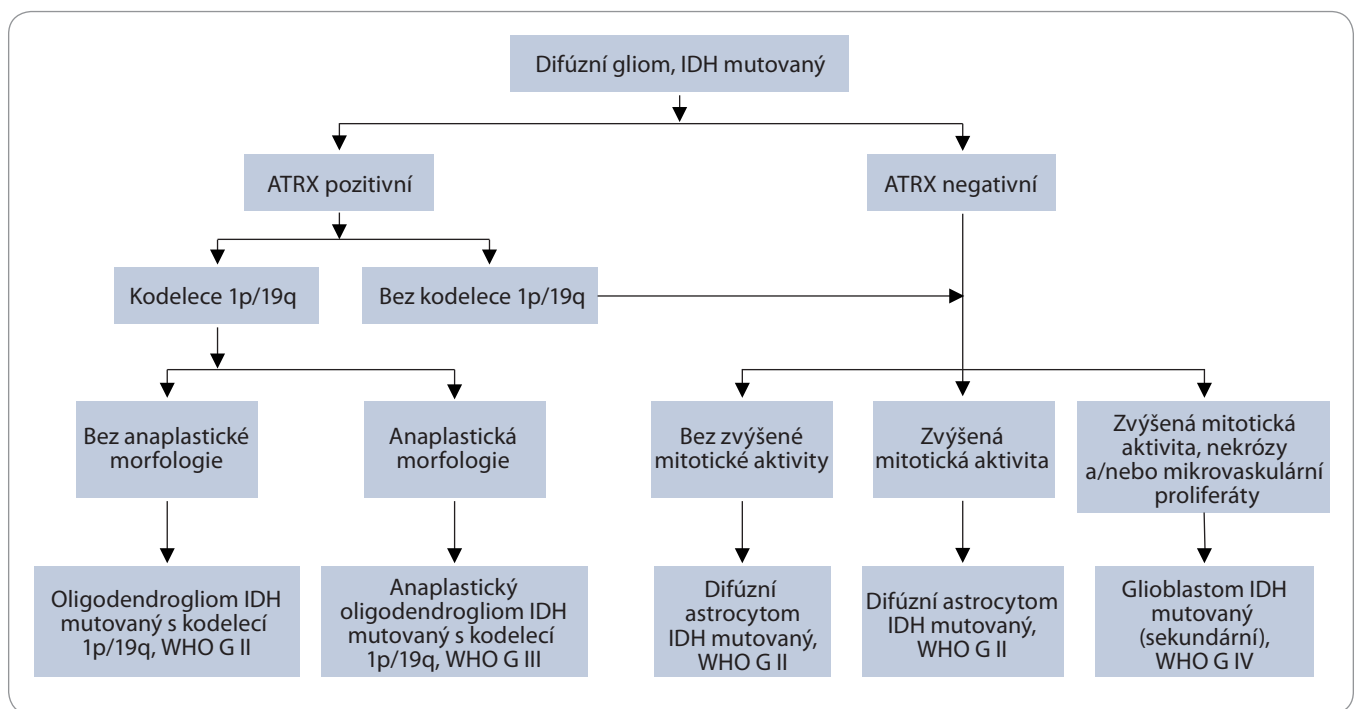


Schéma 2. Diagnostický algoritmus IDH-mutovaných difúzních gliomů. IDH – izocitrátdehydrogenáza

### IDH-wildtype difúzní gliomy

Většina difúzně/infiltrativně rostoucích gliomů bez mutace v genech *IDH1/2* vykazuje morfologické charakteristiky glioblastomu a je takto klasifikována (glioblastom, IDH-wildtype, WHO G IV). Ztráta jaderné exprese *ATRX* v IDH-wildtype difúzních gliomech obvykle není vyjádřena.

IDH-wildtype difúzní astrocytomy (WHO G II) a anaplastické astrocytomy (WHO G III) představují v platné WHO 2016 klasifikaci nádorů CNS provizorní jednotky a zahrnují v sobě nádory s rozdílným biologickým chováním a prognózou [1].

U dospělých se IDH-wildtype difúzní a anaplastické astrocytomy vyskytují poměrně často, zejména ve vyšších věkových skupinách. Ve srovnání s hlavními onkologickými diagnózami jako jsou nádory prsu, plic nebo prostaty se však jedná o onemocnění vzácná. Přes absenci morfologických znaků WHO grade IV glioblastomu často vykazují molekulárně-patologické alterace typické pro IDH-wildtype glioblastomy, vyznačují se nepříznivou prognózou a predisponují k obdobnému biologickému chování jako primární glioblastom, přestože morfologicky nesplňují kritéria pro zařazení do WHO grade IV kategorie. cIMPACT-NOW konsorcium tedy doporučuje u wildtype difúzních a anaplastických astrocytomů vyšetření genetických alterací typických pro glioblastom a v případě prokázané amplifikace genu pro receptor epidermálního růstového faktoru (*EGFR*) na 7. chromozomu a/nebo mutace v promotoru *TERT* a/nebo kompletní ztráty chromozomu 10 v kombinaci se získáním chromozomu 7 (-10/+7), klasifikovat tyto nádory jako difúzní astrocytární gliomy, IDH-wildtype, s molekulárními znaky glioblastomu, WHO grade IV (schéma 3). Amplifikaci genu *EGFR* s následnou overexpresí *EGFR* receptorů vykazuje 40–50 % IDH-wildtype glioblastomů. U asi poloviny *EGFR* amplifikovaných primárních glioblastomů lze prokázat přítomnost intragenové delecce exonů 2–7 produkující trvale aktivní variantu *EGFR*, tzv. *EGFRvIII*. Přítomnost této delecční varianty *EGFR* lze prokázat imunohistochemicky, standardní průkaz amplifikace *EGFR* je metodou FISH [14].

Až 40 % IDH-wildtype glioblastomů vykazuje hypermetylací promotoru genu *MGMT* (O-6-metylguanin-DNA metyltransferáza), což je asociováno s lepší odpovědí na terapii alkylačními agens vč. temozolomidu, nejčastěji používaného cytostatika v neuroonkologii. Vyšetření metylace promotoru *MGMT* u IDH-wildtype high grade gliomů tedy přináší důležité informace prediktivního charakteru, průkaz hypermetylace promotoru *MGMT* může identifikovat pacienty profitující z terapie alkylačními agens a ovlivnit klinický a terapeutický management pacienta [15]. Příkladem je léčba pacientů s glioblastomem, kteří jsou starší 70 let. Na základě výsledků německé studie NOA-08 a skandinávské studie Nordic trial byl stanoven nový léčebný postup, založený na testování metylace *MGMT* promotoru [16,17]. Obě dvě studie prospektivně srovnávaly samotnou pooperační radioterapii se samotnou pooperační chemoterapií temozolomidem. Na základě jejich výsledků je možné u této kohorty pacientů v případě prokázané metylace promotoru *MGMT* indikovat samotnou chemoterapii (podávanou v domácím prostředí, ve formě tablet) a tohoto staršího vulnerabilního pacienta nevystavovat náročnému ozařování, které je pro tyto pacienty často organizačně komplikované (každodenní cestování na pracoviště radiční onkologie). Vyšetření metylačního stavu promotoru pro *MGMT* se provádí nejčastěji metylačně specifickou PCR, MS-MLPA (methylation-specific multiplex ligation probe amplification) nebo analýzou teplot tání s vysokým rozlišením (high resolution melting analysis – HRM) po bisulfitové konverzi nemetylovaných cytosinů na uracil. Posledně zmiňovaná metoda je sice na zpracování více náročná, avšak oproti dvěma předchozím snižuje riziko falešně pozitivních výsledků [18].

Další terapeutické konsekvence výše diskutovaných biomarkerů přesahují rámec textu, proto odkazujeme čtenáře na práce zabývající se touto topikou [19–23].

### Difúzní astrocytomy pediatrického typu

Přestože jsou pediatrické difúzní astrocytomy od svých adultních protějšků

morfologicky nerozlišitelné, liší se jak geneticky, tak prognosticky. Na rozdíl od adultních jsou pediatrické difúzní astrocytomy pouze vzácně nositeli mutace genů *IDH*, *ATRX*, *TP53* a zároveň se vyznačují výrazně nižším rizikem progresu do high grade gliomů, což je spojené s lepší prognózou. V pediatrických difúzních gliomech (IDH-wildtype a H3-wildtype) jsou časté alterace v genech *BRAF*, *FGFR1*, *MYB* či *MYBL1*, resp. jiné alterace MAPK signální dráhy.

Dle doporučení cIMPACT konsorcia [24] byla navržena klasifikace pediatrických difúzních astrocytomů, IDH-wildtype/H3-wildtype, WHO G II histologického gradu následovně:

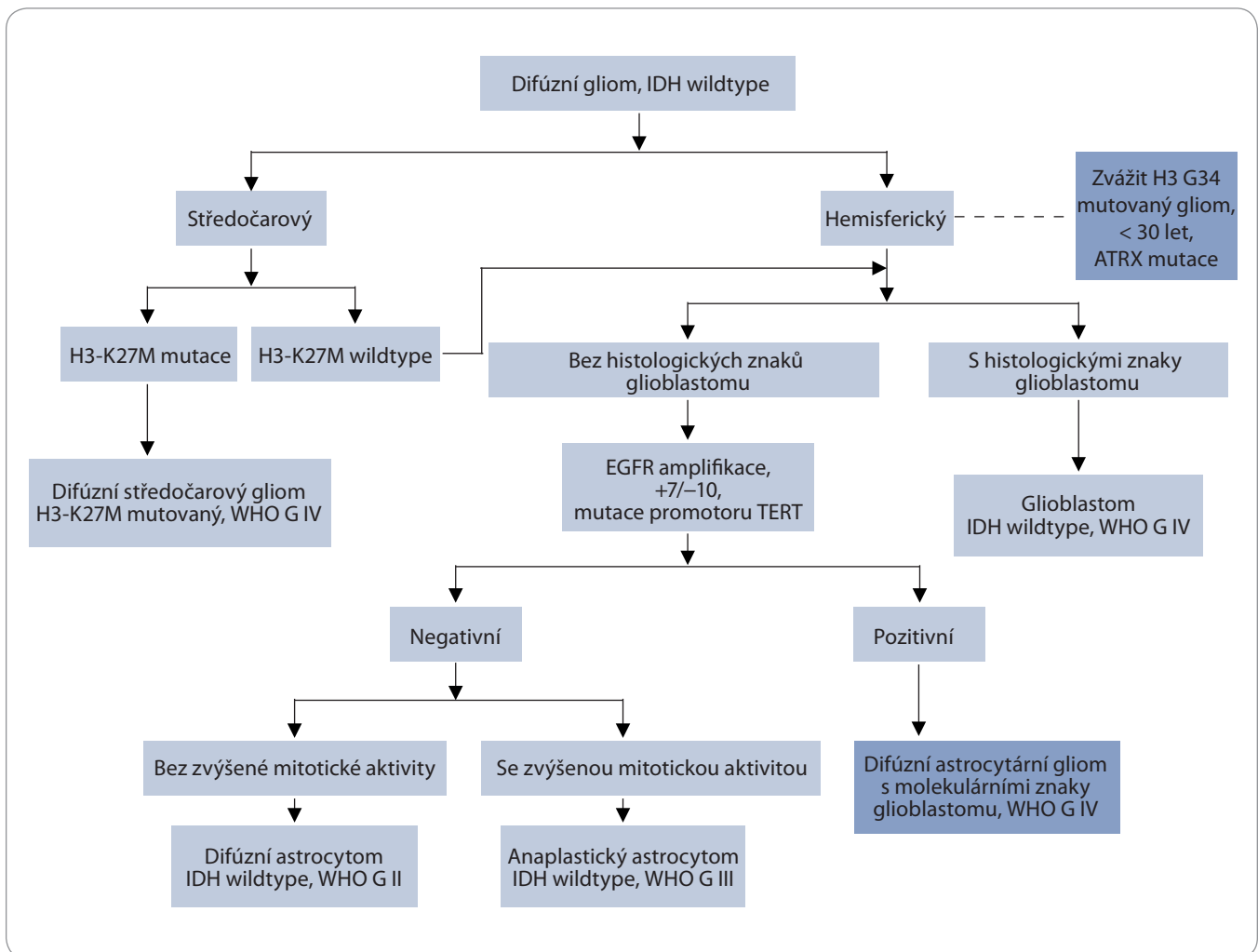
- Difúzní gliom, MYB-alterovaný
- Difúzní gliom, MYBL-alterovaný
- Difúzní gliom, *FGFR1* TKD duplikovaný
- Difúzní gliom, *FGFR1*-mutovaný
- Difúzní gliom, *BRAF*-mutovaný (bez delecce *CDKN2A/B*)
- Difúzní gliom, s jinými alteracemi MAPK signální dráhy

Pediatrické difúzní astrocytomy s IDH mutací se chovají obdobně jako adultní a vyskytují se výhradně u dětí starších 14 let [25].

Samostatnou, v rámci integrované diagnostiky definovanou, jednotku představuje dále blíže specifikovaný prognosticky nepříznivý difúzní středocharový gliom, H3-K27-mutovaný.

U adolescentů a mladých dospělých byly rovněž popsány difúzní gliomy postihující mozkové hemisféry, IDH-wildtype, s mutacemi v genu *H3F3A* v pozici G34 (H3 G34 mutované) a ve většině případů s prokázanou ztrátou jaderné exprese *ATRX* a/nebo signifikantní imunopozitivitou p53. Vyznačují se high grade biologickým chováním, s pouze mírně příznivější prognózou ve srovnání s ostatními subtype IDH-wildtype glioblastomů [25]. Hypermetylace promotoru *MGMT* byla popsána u většiny H3 G34-mutovaných nádorů, což pravděpodobně přispívá k lepší prognóze těchto nádorů. H3 G34-mutované nádory v současné integrované diagnostice nepředstavují definovanou jednotku, je doporučováno zařazení do kategorie „NEC“ (Not Elsewhere Classified) a popisná diagnóza zahrnující





**Schéma 3. Diagnostický algoritmus IDH-wildtype difúzních gliomů.**

Tmavě modře podbarvené jednotky jsou součástí doporučení CIMPACT-NOW a nejsou specifikovány v platné WHO klasifikaci nádorů centrálního nervového systému 2016.

CIMPACT-NOW – mezinárodní konsorcium neuropatologů a klinických neuroonkologů, IDH – izocitrátdehydrogenáza

morfologii, grading a molekulární profil nádoru [26].

### Difúzní středočarový gliom, H3-K27-mutovaný

Je definován jako infiltruující středočarový high grade gliom s dominující astrocytární diferenciací a mutací K27M v genech pro histon 3 (*H3F3A* nebo *HIST1H3B/C*). Vyskytuje se častěji v dětském věku, může však postihovat i dospělé. Typicky postihuje středočarové struktury, tj. mozkový kmen, thalamus nebo míchu, postižení mozečku je vzácné. Difúzní středočarové gliomy, H3 K27M-mutované se vyznačují nepříznivou prognózou a jsou klasifikovány jako WHO G IV gliomy bez ohledu na mor-

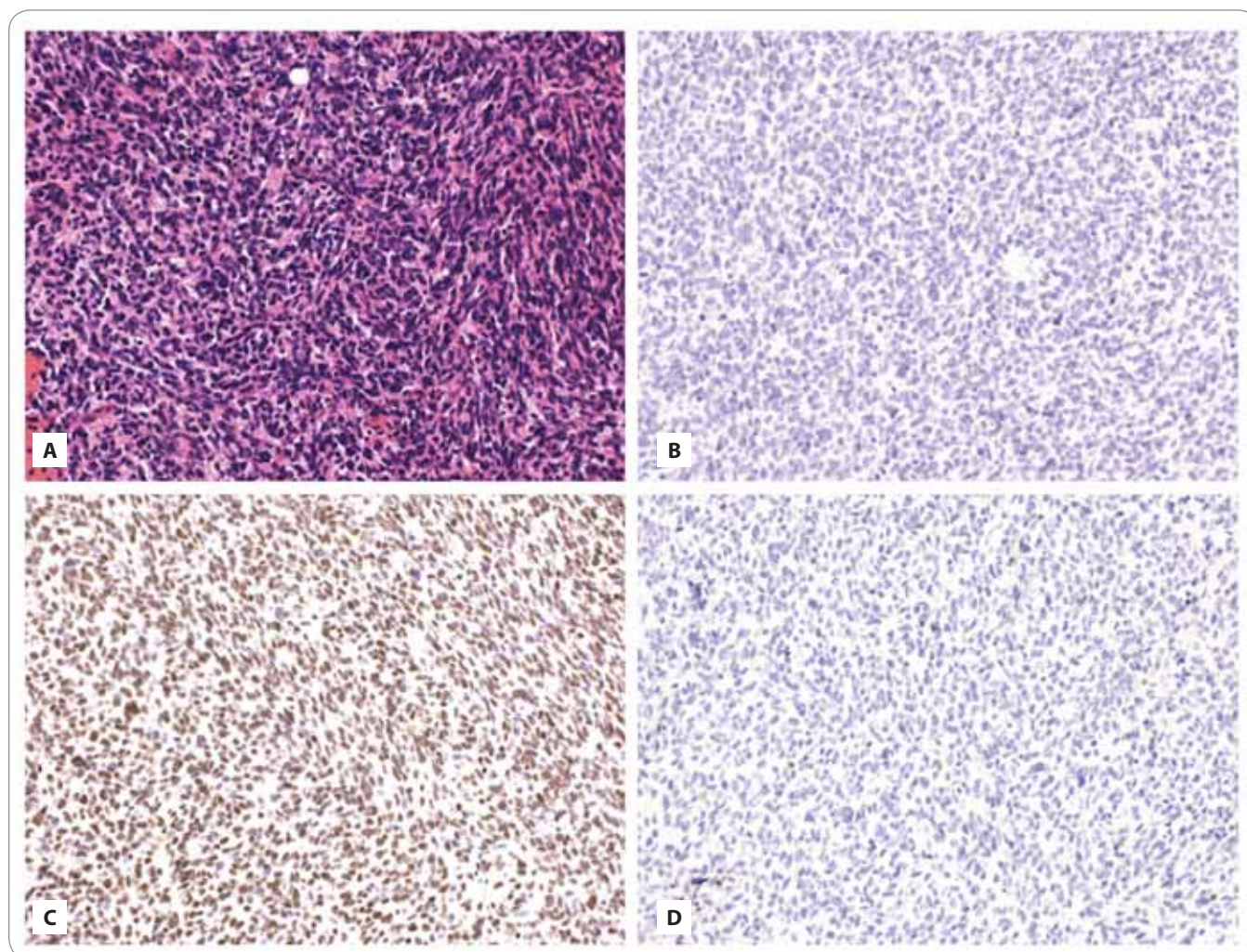
fologicky stanovený histopatologický grade (obr. 4) [7,26].

V diagnostice je využíván imunohistochemický průkaz mutace při použití mutačně-specifické a vysoce senzitivní protilátky proti K27M-mutovanému histonu 3 s průkaznou jadernou pozitivitou v K27M-mutovaných nádorech. V případě nejednoznačného výsledku imunohistochemického vyšetření předmětné mutace je pro průkaz mutace H3 K27M indikována sekvenace genu *H3F3A*, případně genů *HIST1H3B* nebo *HIST1H3C*, které jsou mutovány méně často [28].

Klasifikace nádorů CNS WHO 2016 nesprávně uvádí, že mutace H3 K27M se vyskytují výhradně v difúzních středo-

čarových gliomech, recentně však byly tyto mutace prokázány i v jiných typech mozkových nádorů, např. v ependymomu, gangliogliomu, pilocytárním astrocytomu či pediatrických difúzních astrocytomech. Klinický prognostický význam mutací v genech pro histon 3 není v těchto typech nádorů na rozdíl od difúzního středočarového gliomu H3 K27M-mutovaného znám [7,29,30].

Vzhledem k výše uvedeným recentním zjištěním je v souladu s doporučením CIMPACT-NOW diagnóza difúzního středočarového gliomu H3K27M-mutovaného vyhrazena pouze pro nádory ve středočarové lokalizaci, s difúzním infiltrativním typem růstu a mutacemi H3K27M a nelze ji aplikovat na jiné ná-



Obr. 4. Difúzní střeďočarový gliom, WHO G IV, H3-K27 mutovaný.

- A) Hypercelulární proliferace atypických gliálních buněk s brzkou mitotickou aktivitou.  
 B) Imunohistochemické vyšetření IDH1-R132H s negativní reakcí vylučující mutaci R132 v genu *IDH1*.  
 C) Imunohistochemické vyšetření ATRX s wildtype nukleární expresí ATRX.  
 D) Imunohistochemické vyšetření p53 s wildtype nukleární expresí p53.  
 A) Hematoxylin-eozin, A–D) původní zvětšení 200×.

dory, u nichž tato mutace byla rovněž identifikována [7].

#### Aplikace termínů „NOS“ a „NEC“ v integrované diagnostice difúzních gliomů

Klasifikace nádorů CNS WHO 2016 aplikuje diagnostické označení nádorové jednotky jako „NOS (Not Otherwise Specified)“ pro případy, kdy nebylo provedeno příslušné molekulárně genetické vyšetření umožňující zařazení jednotky do příslušné kategorie integrované diagnózy, i pro případy, kdy toto vyšetření provedeno bylo, získané výsledky však nebyly konkluzivní, diagnostické gene-

tické alterace nebyly prokázány a neumožnily zařazení do definované kategorie integrované diagnostiky [1].

Dle doporučení cIMPACT-NOW by označení „NOS“ mělo být vyhrazeno pouze pro případy, kdy diagnostické informace (morfoloické či molekulární) nutné pro zařazení do příslušné definované kategorie integrované diagnostiky nejsou dostupné, a nově představuje kategorii „NEC (Not Elsewhere Classified)“ vyhrazenou pro nádory, u nichž komplexní histologické, imunohistochemické i genetické vyšetření bylo v souladu s guidelines provedeno, ale získané výsledky neumožňují přesné zařazení

do akceptované a definované jednotky dle platné klasifikace nádorů CNS WHO 2016. V těchto případech je nutné využít popisné diagnózy, specifikující morfoloii, histopatologický grade a prokázaný molekulární profil nádoru [27].

#### Závěr

Revidovaná WHO klasifikace nádorů CNS 2016 zásadním způsobem restrukturalizuje klasifikaci gliomů a jako první integruje molekulární znaky do diagnostiky difúzních gliomů definovaných nejen na základě konvenčních histopatologických nálezů a imunofenotypu, ale i příslušných molekulárních biomarkerů.

Nutnost podrobnější klasifikace difúzních gliomů vychází zejména ze skutečnosti, že nádory obdobné morfologie v sobě zahrnují heterogenní jednotky, které se významně liší svojí molekulární patogenezi, biologickým chováním, prognózou i odpovědí na terapii. Integrovaná diagnostika tedy nejen zpřesňuje diagnostiku, ale přináší i významné informace prognostického a prediktivního charakteru s využitím v klinickém managementu neuroonkologických pacientů a individualizované léčbě nádorů CNS.

## Literatura

- Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD et al. WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System. World Health Organization classification of tumours. Revised 4th edition. Lyon: International Agency for Research on Cancer 2016.
- Louis DN, von Deimling A, Cavenee WK. Diffuse astrocytic and oligodendroglial tumours – introduction. In: Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD et al. WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System. World Health Organization classification of tumours. Revised 4th edition. Lyon: International Agency for Research on Cancer 2016: 16–17.
- Louis DN, Ellison DW, Brat DJ et al. cIMPACT-NOW: a practical summary of diagnostic points from Round 1 updates. *Brain Pathol* 2019; 29(4): 469–472. doi: 10.1111/bpa.12732.
- Perry A, Wesseling P. Histologic classification of gliomas. In: Berger MS, Weller M. Handbook of clinical neurology. Vol 134: Gliomas. Cambridge: Elsevier 2016: 71–95. doi: 10.1016/B978-0-12-802997-8.00005-0.
- Wesseling P, Capper D. WHO 2016 Classification of gliomas. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2018; 44(2):139–150. doi: 10.1111/nan.12432.
- Barresi V, Lionti S, Valori L et al. Dual-genotype diffuse low-grade glioma: is it really time to abandon oligoastrocytoma as a distinct entity? *J Neurobiol Exp Neurol* 2017; 76(5): 342–346. doi: 10.1093/jnen/nlx024.
- Louis DN, Giannini C, Capper D et al. cIMPACT-NOW update 2: diagnostic clarifications for diffuse midline glioma, H3 K27M-mutant and diffuse astrocytoma/anaplastic astrocytoma, IDH-mutant. *Acta Neuropathol* 2018; 135(3): 481–484. doi: 10.1007/s00401-018-1826-y.
- Dang L, White DW, Gross S et al. Cancer-associated IDH1 mutations produce 2-hydroxyglutarate. *Nature* 2009; 462(7274): 739–744. doi: 10.1038/nature08617.
- Gondim DD, Curlless KL, Cheng L et al. Determining IDH-mutational status in gliomas using IDH1-R132H antibody and polymerase chain reaction. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2019; 27(10): 722–725. doi: 10.1097/PAL.0000000000000702.
- Dewitt JC, Frosch MP, Samore WR et al. Cost-effectiveness of IDH testing in diffuse gliomas according to the 2016 WHO classification of tumors of the central nervous system recommendations. *Neuro Oncol* 2017; 19(12): 1640–1650. doi: 10.1093/neuonc/nox120.
- Vogazianou AP, Chan R, Pearson DM et al. Distinct patterns of 1p and 19q alterations identify subtypes of human gliomas that have different prognoses. *Neuro Oncol* 2010; 12(7): 664–678. doi: 10.1093/neuonc/nop075.
- Lee J, Solomon DA, Tihan T. The role of histone modifications and telomere alterations in the pathogenesis of diffuse gliomas in adults and children. *J Neurooncol* 2017; 132(1): 1–11. doi: 10.1007/s11060-016-2349-9.
- Takami H, Yoshida A, Fukushima S et al. Revisiting TP53 mutations and immunohistochemistry—a comparative study in 157 diffuse gliomas. *Brain Pathol* 2015; 25(3): 256–265. doi: 10.1111/bpa.12173.
- Brat DJ, Aldape K, Colman H et al. cIMPACT-NOW update 3: recommended diagnostic criteria for “Diffuse astrocytic glioma, IDH-wildtype, with molecular features of glioblastoma, WHO grade IV”. *Acta Neuropathol* 2018; 136(5): 805–810. doi: 10.1007/s00401-018-1913-0.
- Hegi ME, Diserens AC, Hamou MF et al. MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma. *N Engl J Med* 2005; 352(10): 997–1003. doi: 10.1056/NEJMoa043331.
- Wick W, Platten M, Meisner C et al. Temozolomide chemotherapy alone versus radiotherapy alone for malignant astrocytoma in the elderly: the NOA-08 randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2012; 13(7): 707–715. doi: 10.1016/S1470-2045(12)70164-X.
- Malmström A, Grønberg BH, Marosi C et al. Temozolomide versus standard 6-week radiotherapy versus hypofractionated radiotherapy in patients older than 60 years with glioblastoma: the Nordic randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2012; 13(9): 916–926. doi: 10.1016/S1470-2045(12)70265-6.
- Mansouri A, Hachem LD, Nassiri F et al. MGMT promoter methylation status testing to guide therapy for glioblastoma: Refining the approach based on emerging evidence and current challenges. *Neuro Oncol* 2019; 21(2): 167–178. doi: 10.1093/neuonc/nyy132.
- Lakomy R, Kazda T, Poprach A et al. The role of chemotherapy in the treatment of low-grade gliomas. *Klin Onkol* 2017; 30(5): 343–348. doi: 10.14735/amko2017343.
- Kazda T, Lakomy R, Poprach A et al. Controversy in the postoperative treatment of low-grade gliomas. *Klin Onkol* 2017; 30(5): 337–342. doi: 10.14735/amko2017337.
- Kazda T, Dziacky A, Burkon P et al. Radiotherapy of glioblastoma 15 years after the landmark Stupp’s trial: More controversies than standards? *Radiol Oncol* 2018; 52(2): 121–128. doi: 10.2478/raon-2018-0023.
- Weller M, van den Bent M, Tonn JC et al. European Association for Neuro-Oncology (EANO) guideline on the diagnosis and treatment of adult astrocytic and oligodendroglial gliomas. *Lancet Oncol* 2017; 18(6): e315–e329. doi: 10.1016/S1470-2045(17)30194-8.
- Berghoff A, van den Bent M. How I treat anaplastic glioma without 1p/19q codeletion. *ESMO Open* 2019; 4(Suppl 2): e000534. doi: 10.1136/esmoopen-2019-000534.
- Ellison DW, Hawkins C, Jones DTW et al. cIMPACT-NOW update 4: diffuse gliomas characterized by MYB, MYBL1, or FGFR1 alterations or BRAF(V600E) mutation. *Acta Neuropathol* 2019; 18(6): 683–687. doi: 10.1007/s00401-019-01987-0.
- Ryall S, Tabori U, Hawkins C. A comprehensive review of paediatric low-grade diffuse glioma: pathology, molecular genetics and treatment. *Brain Tumor Pathol* 2017; 34(2): 51–61. doi: 10.1007/s10014-017-0282-z.
- Sturm D, Witt H, Hovestadt V et al. Hotspot mutations in H3F3A and IDH1 define distinct epigenetic and biological subgroups of glioblastoma. *Cancer Cell* 2012; 22(4): 425–437. doi: 10.1016/j.ccr.2012.08.024.
- Louis DN, Wesseling P, Paulus W et al. cIMPACT-NOW update 1: Not otherwise specified (NOS) and not elsewhere classified (NEC). *Acta Neuropathol* 2018; 135(3): 481–484. doi: 10.1007/s00401-018-1808-0.
- Huang T, Garcia R, Qi J et al. Detection of histone H3 K27M mutation and post-translational modifications in pediatric diffuse midline glioma via tissue immunohistochemistry informs diagnosis and clinical outcomes. *Oncotarget* 2018; 9(98): 37112–37124. doi: 10.18632/oncotarget.26430.
- Kleinschmidt-DeMasters BK, Donson A, Foreman NK et al. H3 K27M mutation in gangliogliomas can be associated with poor prognosis. *Brain Pathol* 2017; 27(6): 846–850. doi: 10.1111/bpa.12455.
- Orillac C, Thomas C, Dastagirzada Y et al. Pilocytic astrocytoma and glioneuronal tumor with histone H3 K27M mutation. *Acta Neuropathol Commun* 2016; 4(1): 84. doi: 10.1186/s40478-016-0361-0.

# Úloha CDK12 v rozvoji nádorů

## The role of CDK12 in tumor biology

Dzimková M.<sup>1</sup>, Procházková J.<sup>1</sup>, Klát J.<sup>2</sup>, Kohoutek J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Oddělení chemie a toxikologie, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., Brno

<sup>2</sup> Onkogynekologické oddělení, FN Ostrava

### Souhrn

**Východiska:** Fyziologická aktivita cyklin-dependentní kinázy 12 (CDK12) je důležitá pro celou řadu buněčných procesů, vč. regulace transkripce, sestřihu RNA, terminaci transkripce a polyadenylaci. Je zřejmé, že CDK12 řídí transkripci specifických genů, které jsou zapojeny v odpovědi buňky na poškození DNA, v replikaci DNA a v odpovědi buňky na buněčný stres. V nedávné době byla popsána klíčová úloha CDK12 v iniciaci nádorové promoce skrze indukci tandemových duplikací specifických úseků DNA v metastazujících nádorech prostaty rezistentních na kastraci. Data z publikovaných studií ukazují na výjimečnou dualitu CDK12, kterou lze v závislosti na typu a rozsahu poškození považovat jak za nádorový supresor, tak i za onkogen. CDK12 tudíž představuje jednu z možností pro diagnostiku a léčbu nádorových onemocnění, zejména rakoviny prsu, vaječníků a prostaty, především poté, kdy konvenční léčba již přestane fungovat, a bude nutné využít např. přístupu syntetické letality pro vhodnou terapii nádorových onemocnění rezistentních ke konvenčním způsobům léčby. **Metody:** Diskutovaná odborná sdělení byla získána v databázích PubMed a Scopus před 1. dubnem 2020. **Cíl:** Cílem předkládané práce je shrnout dosavadní poznatky o úloze CDK12, v různých typech nádorů, a na konkrétních příkladech dokumentovat její funkci, jednak jako nádorového supresoru, ale také jako onkogenu, s potenciálním využitím nově vyvinutých inhibitorů CDK12 v léčbě nádorových onemocnění. V neposlední řadě se zabýváme využitím inhibice CDK12 v léčbě určitých typů nádorových onemocnění jak cílenou inhibicí kinázové aktivity CDK12, tak v kombinaci s inhibitory poly(ADP ribóza) polymerázy 1 (PARP1) a „checkpoint“ kinázy 1 (CHK1).

### Klíčová slova

cyklin-dependentní kináza 12 – CDK12 – karcinom prsu – karcinom vaječníku – PARP1 – CHK1

### Summary

**Background:** Physiological function of cyclin-dependent kinase 12 (CDK12) is crucial for several cellular processes, including regulation of transcription, RNA splicing, transcription termination and polyadenylation. It is well documented by now that CDK12 controls transcription of the unique set of genes involved in DNA-damage response, replication of DNA and response to cellular stress. Just recently, a key function of CDK12 in the induction of tandem duplication of specific DNA sequences within the metastatic castrate resistant prostate tumors has been documented. Therefore, it is possible to recognize CDK12 as a tumor suppressor; nevertheless, there is a growing body of evidence that CDK12 can support tumor growth under specific circumstances and thus act as a tumor oncogene. CDK12 therefore represents an alternative diagnostic approach for breast, ovarian and prostate tumors, especially when conventional treatment is not active and there is a need for more effective approaches, such as concept of synthetic lethality. **Methods:** The discussed scientific papers can be reached at the PubMed and Scopus databases before 1st of April 2020. **Purpose:** The aim of the review is to summarize current knowledge relevant to the function of CDK12 as a tumor suppressor or oncogene in various tumors and to discuss the use of specific CDK12 inhibitors for patient treatment. At the end of the article, we discuss the potential use of CDK12 in the treatment of specific tumors by its targeted inhibition in monotherapy or in combination with poly(ADP ribose) polymerase 1 (PARP1) and checkpoint kinase 1 (CHK1) inhibitors.

### Key words

cyclin-dependent kinase 12 – CDK12 – breast cancer – ovarian cancer – PARP1 – CHK1

Souhrnný článek vznikl za podpory programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR s reg. č. 16-34152A. Veškerá práva podle předpisů na ochranu duševního vlastnictví jsou vyhrazena.

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. Jiří Kohoutek, Ph.D.

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

Hudcova 296/70

621 00 Brno

e-mail: kohoutek76@gmail.com

Obdrženo/Submitted: 28. 3. 2020

Přijato/Accepted: 23. 4. 2020

doi: 10.14735/amko2020260

## Úvod

Proces iniciace a rozvoje maligního onemocnění v současném pojetí představuje deregulaci řady fyziologických buněčných dějů, které nádor využívá k vlastnímu prospěchu. Hanahan a Weinberg v roce 2000 popsali šest takových procesů, a to:

- soběstačnost v růstových faktorech;
- rezistence na inhibitory růstu;
- deregulace a inhibice apoptózy;
- neomezené buněčné dělení (buněčný cyklus);
- podpora a udržování angiogeneze;
- tkáňová invazivita a metastazování.

Následně je rozšířili o další děje, které jsou v nádorech cíleně deregulovány, a to:

- narušení metabolické rovnováhy v buňce;
- únik nádorových buněk před specifickou imunitní odpovědí;
- nádor iniciující zánětlivé procesy;
- mutace a genomová nestabilita [1,2].

A právě narušení buněčného cyklu nejen v iniciaci, ale i v průběhu rozvoje nádorového onemocnění je zcela zásadním předpokladem pro nádorové onemocnění [3,4]. Regulace buněčného cyklu je primárně řízena aktivitou specifických enzymů, tzv. cyklin-dependentních kináz (cyclin-dependent kinase – CDK), které se ale významně podílejí i na řízení dalších buněčných procesů [5]. Z literatury je známo, že deregulace CDK a následné zvýšení jejich kinázové aktivity často přispívá ke vzniku a rozvoji onkologických onemocnění [2]. Není tedy překvapením, že CDK jsou slibným cílem studií zaměřených na popis nových léčebných postupů vhodných k léčbě nádorových onemocnění [6,7]. Kináza CDK12 patří do skupiny kináz asociovaných s transkripcí, které se podílí na různých buněčných procesech, vč. odpovědi buňky na poškození DNA (DNA damage response – DDR), replikaci DNA a sestřihu RNA [8,9]. Studie zaměřené na funkci CDK12 odhalily případy nádorů se zvýšenou hladinou CDK12, ale i případy, u kterých je prokázána ztráta funkce této kinázy, což staví CDK12 jak do role onkogenu, tak do role nádorového supresoru [10]. Předkládaný přehledový

článek přináší ucelený pohled na dosavadní poznatky o úloze CDK12 v různých typech nádorů a na konkrétních příkladech dokumentuje její funkci jednak jako nádorového supresoru, ale také jako onkogenu s potenciálním využitím nově vyvinutých inhibitorů CDK12 v léčbě nádorových onemocnění.

## Funkce cyklin-dependentních kináz

Cyklin-dependentní kinázy jsou významnými regulátory řady buněčných procesů [11]. Z pohledu jejich funkce se dělí na dvě podskupiny, a to CDK buněčného dělení, které přímo regulují průchod jednotlivými fázemi buněčného cyklu (CDK1, 2, 4, 6), a kinázy asociované s řízením jednotlivých fází transkripce (CDK7, 8, 9, 11, 12 a 13) [12–14]. Regulace genové transkripce pomocí CDK se odehrává skrze fosforylaci C-terminální domény (CTD) podjednotky RNA polymerázy II (RNA pol II), která je odpovědná za transkripci protein kódujících genů a nekódujících RNA (např. tzv. small nuclear RNA – snRNA) [15]. Eukaryotická transkripce je vysoce komplexní a energeticky náročný proces. Konkrétní fáze transkripce, vč. průchodu mezi nimi, musí být pečlivě regulovány. Obecně lze konstatovat, že veškeré základní buněčné procesy závisí na bezchybné regulaci transkripce a následné koordinaci s dalšími ději v buňce [16]. A právě narušení a deregulace této křehké rovnováhy může mít za následek vznik a rozvoj nádorového onemocnění. Z provedených analýz víme, že kinázová aktivita CDK je často deregulována v nádorových buňkách; není tedy překvapením, že CDK jsou atraktivním cílem výzkumu zaměřeného na jejich využití v klinické léčbě pacientů [6].

Vlastní proces transkripce je řízen na mnoha úrovních. O časoprostorové dynamice transkripce rozhoduje nejen sekvence DNA, metylace CpG či epigenetický kód, ale především také aktivita transkripčních faktorů [16]. Transkripční faktory (TF) jsou proteiny vázající DNA sekvenci v multiproteinových komplexech. Ty TF, jejichž ztráta má za následek rozvoj nádoru, se označují jako supresory, zatímco TF, které se podílejí na vzniku nádorového onemocnění, se na-

zývají onkogeny. V případě, že se nádorové buňky stávají závislými na funkci daného transkripčního faktoru, hovoříme o tzv. fenoménu transkripční závislosti [17]. Je proto přirozené se domnívat, že by bylo možné tuto transkripční závislost využít v léčbě pacientů.

## Objev CDK12 a její fyziologická úloha v organizmech

V roce 2001 byla poprvé popsána CDK12 (CRKRS, CRK7) jako kináza, která se pravděpodobně podílí na regulaci transkripce [18]. Avšak teprve v roce 2011 byla popsána její funkce v transkripci a současně byl potvrzen její vazebný partner, cyklin K (CycK) [19]. Nicméně s CycK asociuje také cyklin-dependentní kináza 13 (CDK13), homolog CDK12, která je výrazně méně prostudovaná a její funkce je prozatím nejasná. Z pohledu jejich funkce v buňce je důležité zmínit, že obě kinázy tvoří s CycK dva separátní komplexy, které se s velkou pravděpodobností podílí na různých buněčných procesech [19]. CDK12 je exprimována v celém savčím organismu, nicméně její hladina se liší v závislosti na konkrétní tkáni. Vysoké hladiny CDK12 byly u člověka nalezeny v ovariích, varlatech, mozku, leukocytech a v nadledvině, což naznačuje, že CDK12 může mít tkáňově specifickou úlohu v diferenciaci specifických typů buněk. Pokusy na myších demonstrovaly, že CDK12 hraje důležitou roli v udržování pluripotentního stavu embryonálních kmenových buněk [20]. V průběhu časně embryogeneze vedla úplná ztráta funkce CDK12 nebo jejího vazebného partnera CycK k embryonální letalitě v období blastocysty, a to kvůli deregulované transkripci DDR genů [19,20]. Uvědomíme-li si, že jedna ze základních charakteristik nádorových buněk je schopnost jejich dediferenciacie, je možné usuzovat, že CDK12 se také podílí na udržení nediferencovaného stavu i v tomto typu buněk.

## CDK12 – regulace transkripce

Jak již bylo zmíněno v úvodu, funkce CDK12 je spjata s regulací elongační fáze transkripce skrze fosforylaci CTD RNA pol II, konkrétně fosforylací serinu v pozici 2 (Ser2) [13]. Experimentální snížení

hladiny CDK12 v buněčných liniích vede k významnému poklesu hladiny fosforylovaného Ser2, a tudíž k útlumu elongační fáze transkripce, což vede k výraznému oslabení transkripce genů zapojených v odpovědi buňky na poškození DNA a genů nezbytných pro iniciaci a průběh replikace DNA [8,21]. Podobně jako CDK9 může CDK12 vázat a následně fosforylovat i jiné transkripční faktory/komplexy, a regulovat tak transkripci jiným mechanismem, než fosforylací CTD RNA pol II. Dále se domníváme, že kromě funkce v regulaci elongační fáze transkripce participuje CDK12 také v procesech sestřihu RNA a terminaci transkripce [22,23]. V prvním případě CDK12 lokalizuje do jaderných struktur (tzv. nuclear speckles), kde dochází k sestřihu RNA, a skutečně, za využití hmotnostní spektrometrie, byla potvrzena asociace CDK12 s proteiny účastnicími se sestřihu RNA [18,24,25]. CDK12 dále řídí alternativní sestřih posledního exonu v genech s velkým počtem exonů a obecně delší mRNA [26]. V případě terminace byla prokázána přímá souvislost mezi fosforylací Ser2 v CTD RNA pol II CDK12 kinázou a efektivní vazbou faktoru Ctsf77, který zabezpečuje terminaci transkripce a polyadenylaci RNA [22]. Z toho je patrné, že elongace a terminace transkripce jsou jedněmi z řídicích mechanismů genové exprese a narušení této regulace často vede k nefyziologické změně hladin nádorových supresorů a onkogenů v buňce, a tím k iniciaci nebo rozvoji nádorového onemocnění [23,27].

### Vliv ztráty funkce CDK12 na transkripci specifických genů

Klasickým a v dnešní době velmi dobře popsaným příkladem vlivu ztráty funkce CDK12 na expresi genů je kontrola transkripce DDR genů, které se, kromě jiného, podílí na regulaci homologní rekombinace (HR) a pravděpodobně i na dalších opravných mechanismech [19,28]. Efekt CDK12 na transkripci DDR genů se odvíjí na mnoha úrovních. Snížená hladina CDK12 vede k nedostatečné iniciaci elongační fáze kvůli snížené fosforylaci Ser2 v RNA pol II [29]. Skupina prof. Sharpa dále prokázala, že ztráta *CDK12* má za následek produkci

aberantních transkriptů RNA, které jsou předčasně polyadenylovány, a tudíž nesou informaci o nefunkčním proteinu. A právě DDR geny se vyznačují tím, že ve svých intronech nesou polyadenylační místa vázaná na intron, která se aktivují ztrátou fyziologické funkce CDK12 [30]. Nicméně je pravdou, že buňky s umlčenou nebo katalyticky inaktivní mutantní formou CDK12 vykazují větší poškození endogenní DNA a poruchy v HR [29]. Podobný efekt byl také pozorován i po ovlivnění specifickým inhibítorem CDK12 kinázy, THZ531 [31]. Výsledná deregulace CDK12 vede nejen k buněčné smrti, ale také k senzitivizaci buněk k různým látkám poškozujícím DNA, např. etoposid, mitomycin C a kaptotecin [19]. Mutantní neaktivní formy CDK12 navíc zvyšují citlivost k cis-platině a inhibitorům poly(ADP ribóza) polymerázy (PARP) 1/2 [28,32,33]. Naše skupina v nedávné době prokázala, že ztráta funkce CDK12 zvyšuje citlivost řady nádorových buněčných linií k inhibitorům enzymu „checkpoint“ kinázy 1 (CHK1) [34].

Zcela recentně byl navíc prokázán vliv inaktivace enzymatické aktivity CDK12 na transkripci genů, které řídí ustanovení preiniciačního a prereplikačního komplexu. A tyto proteiny jsou nezbytnou podmínkou pro zahájení replikace DNA v průběhu buněčného dělení. Skupina dr. Li ukázala, že CDK12 řídí společně s cyklinem K fosforylaci cyklinu E1 na serinu v pozici 366 a tím brání jeho vazbě s CDK2 během sestavování prereplikačního komplexu [35]. Naproti tomu skupina dr. Blažka prokázala, že aktivita CDK12 je nezbytná pro transkripci genů nutných k úspěšné replikaci a k přechodu G1/S v průběhu buněčného dělení [8]. A právě regulace preiniciačního a prereplikačního komplexu aktivitou CDK12 ukazuje na nové funkční propojení mezi regulací transkripce a replikací DNA.

Obecně je tedy možné konstatovat, že se CDK12 podílí na zachování genomové stability nejen skrze kontrolu transkripce DDR genů, vč. genů účastnicích se HR, ale také prostřednictvím regulace transkripce genů nezbytných pro replikaci DNA. Není tedy překvapením, že právě poruchy těchto mechanismů jsou

jednou z charakteristik nádorového onemocnění [2]. Výše zmíněná pozorování tudíž vedla k hypotéze, že CDK12 se na místo ovlivnění celkové transkripce podílí na transkripci pouze specifických skupin genů, a tak se aktivně angažuje při stresových odpovědích [36,37]. Nicméně dle nedávných studií je zřejmé, že aplikace nízké dávky inhibitoru CDK12 vede ke snížení exprese genů pro DDR, *BRCA1*, *FANCI*, *ERCC4* a dalších, zatímco použití vyšší dávky inhibitorů mělo za následek redukcii transkripce genů asociovaných se super-enhancery v porovnání s typickými enhancery [27]. Zvýšená aktivita CDK12 by tak mohla urychlovat progresi a rezistenci nádorů a paradoxně ji stavět do role onkogenu místo předpokládané tumor supresivní role.

### Mutace CDK12 v různých typech nádorů

Ztráta funkce CDK12 je častým jevem, ke kterému dochází v různých typech solidní nádorů. Z pohledu frekvence u vybraných typů nádorů byla prevalence ztráty funkce alespoň jedné alely *CDK12* nalezena u nádorů močového měchýře (3,7 %), prostaty (3,4 %), jícnu a žaludku (2,1 %) a ledvin (2,1 %) [38]. Inaktivace obou alel *CDK12* byla pozorována v nádorech prostaty (1,8 %), vaječnicku (1,0 %) a močového měchýře (0,5 %). Specifické mutace asociované s rozvojem nádoru byly popsány pro nemalobuněčný karcinom plic [27], adenokarcinom plic [39,40], folikulární lymfom [41] a pro nádor jícnu [42]. Pro potřeby přehledového článku uvádíme výskyt mutací v nádorech prsu, vaječnicku, děložního čípku a prostaty (graf 1).

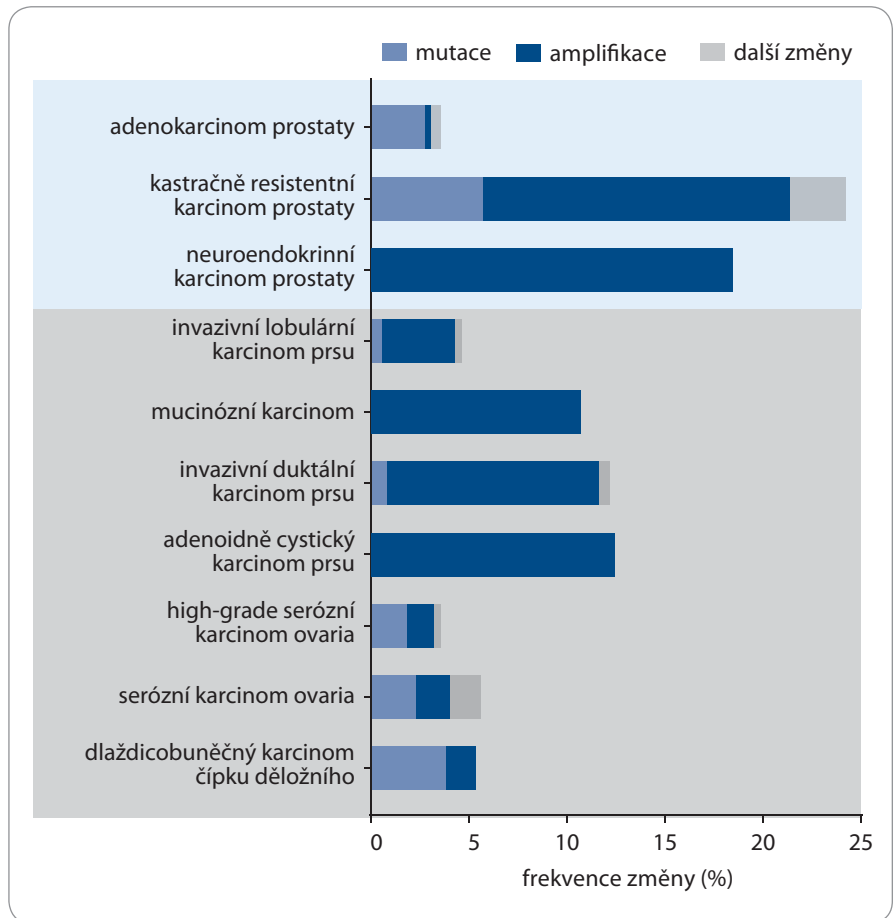
### High-grade serózní karcinom vaječnicku

Pro 50 % všech případů high-grade serózního karcinomu vaječnicku (HGSOC) je charakteristická porucha exprese genů pro HR a genomová nestabilita [43]. Nejčastěji mutovanými geny spojenými s HR jsou *BRCA1*, *BRCA2* a také *CDK12*, která je jednou z rekurentních mutací v HGSOC, a to v přibližně ve 3 % případů [43]. Ve velké většině případů se jedná o primární homozygotní bodovou mutaci, převážně v kinázové doméně,

což má za následek ztrátu kinázové aktivity [29]. U některých mutantních forem CDK12 je sice zachována enzymatická aktivita, ale došlo u nich k narušení vazby k cyklinu K, což má za následek sníženou expresi HR genů a nižší efektivitu oprav DNA [29]. Studie provedené na vzorcích z pacientů poukázaly na velmi zajímavý fakt, a to že nádory s mutací v *BRCA1* a *BRCA2* téměř výhradně nenesou mutaci pro CDK12 [29,44]. Daná pozorování tudíž podporují hypotézu, že jak BRCA, tak i CDK12 jsou součástí DDR dráhy a tento stav potvrzují i další pozorování v nádorech, ve kterých snížena hladina DDR genů asociuje s mutovanou formou CDK12.

**CDK12 – deregulace u metastazujících nádorů prostaty rezistentních na kastraci (mCRPC)**

Několik studií v nedávné době velmi přesvědčivě prokázalo, že genomové přestavby, které jsou hojně pozorovány v mCRPC, přímo souvisí s inaktivací funkce CDK12 [45–47]. Je zajímavé, že inaktivace obou alel genu pro *CDK12* je nezbytná pro tvorbu genomových přestaveb v definovaném subtypu mCRPC nádorů, jejichž progresi nesouvisí s poškozenou DDR a s dalšími procesy, jako jsou tzv. fúze *ETS* (*E26 transformation-specific*) genů, nebo s mutacemi v genu *SPOP* (speckle-type POZ protein) [47]. Ztráta CDK12 dále vede ke genomovým přestavbám, které jsou charakteristické tandemovými duplikacemi, jež zahrnují oblasti enhanceru pro gen kódující androgenní receptor nebo protoonkogen *MYC* [46]. Tandemové duplikace vedoucí ke zvýšené expresi genů bylo možné pozorovat také v regulačních oblastech genů zapojených v řízení buněčného cyklu a v replikaci DNA [47]. Naopak tandemové duplikace vedoucí k inhibici exprese genů byly pozorovány u nádorových supresorů, *TP53* a *BRCA2* [45]. Daný podtyp mCRPC nádorů s mutací v genu pro *CDK12* vykazoval různorodou expresi neoantigenů v důsledku genomových přestaveb a zvýšenou infiltraci nádorů T buňkami [47]. Je tedy možné usuzovat, že léčba za využití specifických inhibitorů PD-1 (programmed death-1) a PD-L1 (programmed death-li-



**Graf 1. Prevalence mutací ve vybraných onkologických onemocněních.** Graf prezentuje frekvenci výskytu poškození v genu *CDK12* u nádorů prostaty, prsu, vaječníku a děložního čípku. Barva ve sloupcích představuje typ poškození v *CDK12* genu, mutace (světle modrá), amplifikace (tmavě modrá) a další změny (šedá).

gand 1) by mohla být u mCRPC pacientů s nefunkční CDK12 velmi efektivní [48]. Obecně má tedy ztráta specifických nádorových supresorů (*TP53*, *BRCA1*, *CDK12*) za následek zvýšený výskyt určitého typu tandemové duplikace o určité délce [49].

**Karcinom prsu**

Triple-negativní nádory prsu (TNBC) obsahují spektrum mutací, které jsou podobné nádorům vaječníků, tj. nemají amplifikovaný žádný z typických receptorů – ER, HER2 nebo PR, ale vykazují mutace v DDR genech, což má za následek zvýšenou úroveň genomové nestability. Mezi geny, u kterých je možné pozorovat opakující se mutace, patří zejména *TP53* (80 % případů) a *BRCA1* (30 % případů) [50]. V TNBC byly detekovány mutace v genu pro *CDK12*, a to v 1,5 % případů [50,51]. Je tedy pravděpodobné, že

pacientky s TNBC s poškozeným HR kvůli ztrátě funkce CDK12 mohou být citlivé na léčbu inhibitory PARP1/2 [50].

Jiný typ nádoru prsu je charakteristický amplifikací genu/onkogenu HER2 (*ERBB2*, *EGFR2*) a označuje se jako HER2 pozitivní karcinom prsu (HER2+) [52]. Protein HER2 patří do rodiny tyrozinyových kináz a je schopný stimulovat proliferaci a inhibovat apoptózu [50]. Gen pro *CDK12* se nachází v blízkosti genu pro *ERBB2* v genomovém lokusu 17q12-q21, a není proto překvapením, že v tomto typu nádoru pozorujeme až 71 % koamplifikací genu *CDK12* společně s *ERBB2* genem [53,54]. Z mnoha studií je zřejmé, že jak samotný HER2, tak i další koamplifikované geny mohou přispívat a skutečně přispívají k rozvoji nádoru prsu a splňují kritéria pro onkogen, a jsou tak vhodnými kandidáty pro cílenou terapii [52]. V případě genu pro

CDK12 prokázaly minimálně dvě skupiny skutečně zvýšenou hladinu CDK12 na úrovni mRNA i samotného proteinu a navíc prokázaly významnou korelaci mezi zvyšující se hladinou CDK12 a gradíngem nádoru [54,55]. Obdobně byla amplifikace genu *CDK12* nalezena u HER2 pozitivních nádorů žaludku [56]. V tomto případě by CDK12 mohla sloužit jako vhodný prognostický marker, což potvrzují také pozorování zaměřená na validaci CDK12 coby využitelného biomarkeru pro Her2+ nádory [57,58]. V případě HER2+ karcinomů prsu se můžeme setkat i s případy, kdy amplifikace *HER2* lokusu 17q12-q21 má za následek poškození čtecího rámce *CDK12*, a tím expresi její aberantní nefunkční formy [59]. Kromě amplifikace je dále v nádorech HER2+ možné pozorovat i bodové mutace v genu *CDK12* [60]. V případě estrogen pozitivních karcinomů prsu byla nalezena příčinná souvislost mezi inhibicí aktivity CDK12 a ztrátou citlivosti nádorových buněk na léčbu tamoxifenem [61].

Obecně lze proto konstatovat, že nádory prsu se vzájemně liší mírou a typem poškození funkce CDK12, a tedy i dopadem tohoto poškození při cílené léčbě. Zatímco nádory s nízkou aktivitou nebo úplnou ztrátou funkce CDK12 vedoucí ke genomové nestabilitě jsou vhodnými kandidáty pro nasazení PARP1/2 nebo CHK1 inhibitorů, nádory s amplifikovanou nebo zvýšenou expresí CDK12 vhodným cílem pro léčbu specifickými inhibitory CDK12.

### Inhibitory CDK12 a syntetická letalita

Protinádorový potenciál celé plejády inhibitorů CDK je klinicky dlouhodobě testován. Kromě širokospektrálních inhibitorů CDK, jakými jsou např. flavopiridol nebo roskovitin, byly v průběhu let intenzivně vyvíjeny také inhibitory, které cílily na aktivitu CDK zapojených nejen v regulaci buněčného cyklu, ale také v transkripci [6]. Jak bylo dokumentováno v předchozí části, CDK12 je hojně mutovaná nebo naopak vykazuje zvýšenou expresi v různých typech nádorů, tudíž specifické inhibitory pro CDK12 by mohly poskytovat atraktivní strategii v léčbě pacientů.

Jedním z potencionálních inhibitorů CDK12 je i dinaciclib, původně zařazený jako inhibitor CDK1, CDK2, CDK5 a CDK9, který má antiproliferační účinek na různé nádorové buněčné linie [62]. V průběhu let se ukázalo, že dinaciclib je schopný inhibovat CDK12 již v daleko nižších koncentracích než CDK9. Aplikace dinaciclibu vedla k inhibici kinázové aktivity CDK12, snížení exprese HR genů a nižší fosforylaci CTD RNA pol II [28]. Kombinace PARP inhibitorů, veliparibu a inhibitoru CDK12 dinaciclibu efektivně zastavila růst nádorů u myšního modelu xenograftu [28]. Daná pozorování naznačují možnost využití CDK12 inhibitorů ke zcitlivění nádorů rezistentních k PARP1/2 inhibitorům.

Selektivním a silným inhibitorem CDK12 je nedávno vyvinutý THZ531. Mezi jeho efekty patří indukovaná apoptóza, inhibice elongační fáze transkripce, snížená exprese genů DDR a snížená exprese genů závislých na super-enhancerech [27]. Negativní efekt THZ531 na proliferaci byl pozorován u buněčné linie odvozené z akutní lymfoblastické leukemie [28]. Schopnost THZ531 zastavit buněčné dělení a indukovat senescenci nebo apoptózu byla nedávno pozorována u buněk anaplastického karcinomu štítné žlázy a hepatocelulárního karcinomu [31,63].

Proces iniciace a rozvoje nádorového onemocnění je v mnoha typech nádoru zapříčiněn zvýšenou aktivitou nádorových onkogenů a je velmi obtížné inhibovat jejich funkci. Klasickým příkladem je zvýšená exprese *cMYC* onkogenu u řady nádorů. Právě CDK12 je jedním z faktorů podílejících se na transkripci *MYC* genu [22]. Navíc testy zaměřené na plošnou identifikaci faktorů vykazujících syntetickou letalitu s onkogenem *cMYC* odhalily CDK12 jako jednoho z možných kandidátů pro využití k léčbě nádorů s vysokou aktivitou *cMYC* [64]. Dalším příkladem závislosti nádorové progresy na aktivitě silného onkogenu je fúzní protein *EWS/FLI*, který je exprimován v Ewingově sarkomu [65]. Ovlivnění buněk inhibitorem CDK12 aktivity THZ531 vedlo ke snížení exprese genů *DDR* [66]. A právě jedním z možných přístupů, jak překonat rezistenci vůči používaným léčebným terapeutikům, může být cílená inhibice CDK kináz [67].

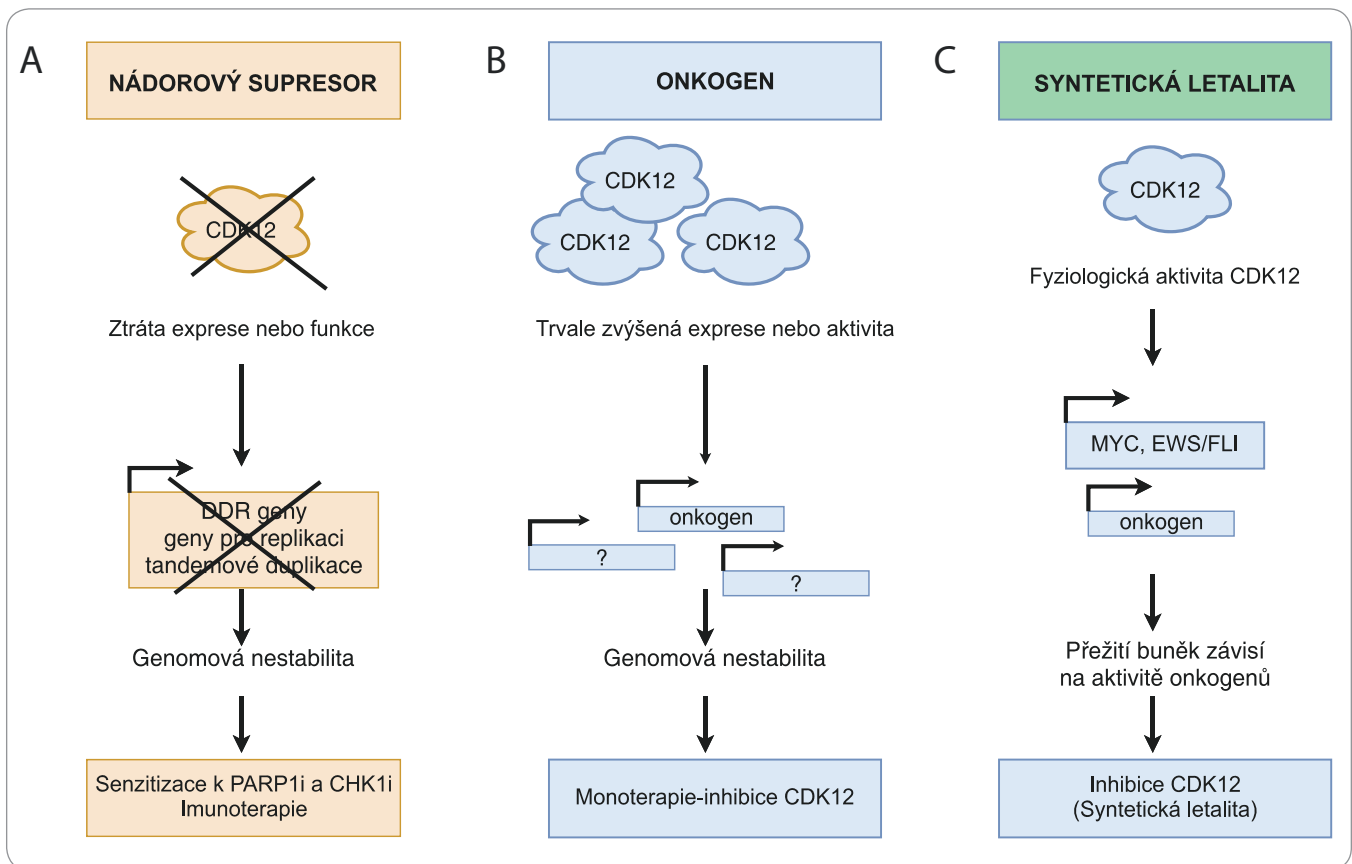
### Ztráta CDK12 a senzitivita k PARP1/2 inhibitorům

Nestabilita genomu je jednou z obecných vlastností většiny nádorových onemocnění, a proto je vhodným cílem pro potřeby současné i budoucí léčby pacientů. Pro správný účinek PARP1 inhibitorů je podmínkou oslabená nebo nefunkční HR, jež je poškozena v řadě nádorů [68]. Nádory s mutací regulátorů homologní rekombinace *BRCA1* a *BRCA2* jsou tudíž vhodnými kandidáty pro použití PARP inhibitorů [69,70]. Některé nádory si však dokáží v průběhu léčby vybudovat rezistenci k PARP inhibitorům, a proto je do budoucna potřeba aktivně vyvíjet nové způsoby, jak obnovit citlivost buněk na PARP1 inhibitory [71,72]. Není s podivem, že CDK12 byla odhalena jako jeden z faktorů určující citlivost k PARP inhibitorům [32]. Nádorové ovariální buňky se sníženou hladinou CDK12 byly prokazatelně citlivější k PARP inhibitoru olaparibu a cílené snížení hladiny CDK12 v dalších nádorových buněčných liniích vedlo ke zvyšování citlivosti buněk k olaparibu. Navíc kombinace inhibitoru CDK12 dinaciclibu a PARP inhibitoru olaparibu mělo za následek zastavení růstu nádorových buněk *in vitro*, *in vivo* a v neposlední řadě i v modelu xenograftu derivovaného z tkáně pacientů [28].

### Závěr

Fyziologická aktivita CDK12 je důležitá pro řadu buněčných procesů, vč. regulace transkripce, sestřihu RNA, terminaci transkripce a polyadenylaci. CDK12 řídí transkripci specifických genů, které jsou s vysokou aktivitou *cMYC* přímo zapojeny v DDR, replikaci DNA a v odpovědi na buněčný stres. Aberantní exprese CDK12 je hojně rozšířena napříč různými nádory u člověka. Data z nedávných studií ukazují na výjimečnou dualitu CDK12, kterou lze v závislosti na typu a rozsahu poškození považovat jak za nádorový supresor, tak i za onkogen. V případě HGSOC, TNBC, podtypu HER2+ nádorů prsu, adenokarcinomu plic a metastazujícího adenokarcinomu prostaty se CDK12 jeví jako nádorový supresor. Její snížená hladina v těchto nádorech negativně ovlivňuje expresi *DDR* genů, což má za následek poškození procesu HR a genomovou nestabilitu. Nicméně





**Obr. 1. Rozdílná úloha CDK12 v karcinogenezi.**

A) CDK12 – nádorový supresor. Ztráta funkce CDK12 má za následek sníženou expresi genů zapojených v homologní rekombinaci a replikaci DNA, vč. kontroly tandemových duplikací, což vede ke genomové nestabilitě a rozvoji karcinogeneze. Nefunkční CDK12 nebo použití specifických inhibitorů CDK12 zvyšuje citlivost nádorových buněk k efektu PARP1/2 (PARPi) a inhibitorů CHK1 (CHK1i).

B) CDK12 – onkogen. Amplifikace CDK12 genu má za následek zvýšenou expresi genů zapojených v genomové stabilitě a karcinogenezi. Proto je možné uvažovat o využití specifických CDK12 inhibitorů v léčbě pacientů s tímto typem nádorů.

C) CDK12 – syntetická letalita. Fyziologická hladina CDK12 udržuje expresi vybraných onkogenů (MYC, EWS/FLI), jejichž aktivita je nezbytná pro přežití nádoru. V případě, kdy je rozvoj nádoru závislý na aktivitě konkrétního onkogenu a současně na intaktní DDR dráze, může vést inhibice CDK12 k narušení obou drah nutných pro přežití a následně k zástavě proliferace nádorových buněk.

právě mutace typu „loss-of-function“ vedoucí ke ztrátě CDK12 aktivity zvyšují citlivost nádorů k PARP1/2 a PARP inhibitorům (obr. 1A).

Naproti tomu v nádoru prsu subtypu HER2+ a v nádoru žaludku je možné CDK12 charakterizovat jako klasický onkogen, protože její zvýšená exprese zapříčiňuje agresivnější formu nádoru (obr. 1B). Obdobná situace nastává i v případě nádorů s vysokou aktivitou cMYC a fúzního proteinu EWS/ELI. Nicméně v tomto případě se jedná o situaci, která odpovídá konceptu transkripční závislosti, kdy jsou dané nádory závislé na konkrétním transkripčním faktoru proto, aby mohly efektivně zachovat nastavený nádorový program transkripce. V tomto kontextu by pak inhibitory transkripčních

kináz mohly být vhodným způsobem, jak překonat transkripční závislost proliferujících nádorových buněk (obr. 1C).

A právě dualita CDK12 (supresor vs. onkogen) jí propůjčuje všestranné využití při personalizované léčbě pacientů. CDK12 představuje jednu z možností budoucí diagnostiky a léčby náročných nádorových onemocnění, zejména rakoviny prsu, vaječníků a prostaty především poté, kdy konvenční léčba již přestane fungovat a bude nutné využít např. přístupu syntetické letality pro vhodnou terapii nádorových onemocnění rezistentních ke konvenčním způsobům léčby.

**Poděkování**

Autorka by ráda poděkovala členům laboratoře za cenné připomínky při psaní přehledového článku.

**Literatura**

1. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; 100(1): 57–70. doi: 10.1016/s0092-8674(00)81683-9.
2. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011; 144(5): 646–674. doi: 10.1016/j.cell.2011.02.013.
3. Kent LN, Leone G. The broken cycle: E2F dysfunction in cancer. *Nat Rev Cancer* 2019; 19(6): 326–338. doi: 10.1038/s41568-019-0143-7.
4. Whittaker SR, Mallinger A, Workman P et al. Inhibitors of cyclin-dependent kinases as cancer therapeutics. *Pharmacol Ther* 2017; 173: 83–105. doi: 10.1016/j.pharmthera.2017.02.008.
5. Satyanarayana A, Kaldis P. Mammalian cell-cycle regulation: several Cdk, numerous cyclins and diverse compensatory mechanisms. *Oncogene* 2009; 28(33): 2925–2939. doi: 10.1038/onc.2009.170.
6. Asghar U, Witkiewicz AK, Turner NC et al. The history and future of targeting cyclin-dependent kinases in cancer therapy. *Nat Rev Drug Discov* 2015; 14(2): 130–146. doi: 10.1038/nrd4504.
7. Bruyere C, Meijer L. Targeting cyclin-dependent kinases in anti-neoplastic therapy. *Curr Opin Cell Biol* 2013; 25(6): 772–779. doi: 10.1016/j.ccb.2013.08.004.

8. Chirackal Manavalan AP, Pilarova K, Kluge M et al. CDK12 controls G1/S progression by regulating RNAPII processivity at core DNA replication genes. *EMBO Rep* 2019; 20(9): e47592. doi: 10.15252/embr.201847592.
9. Kohoutek J, Blazek D. Cyclin K goes with Cdk12 and Cdk13. *Cell Div* 2012; 7: 12. doi: 10.1186/1747-1028-7-12.
10. Greenleaf AL. Human CDK12 and CDK13, multi-tasking CTD kinases for the new millenium. *Transcription* 2019; 10(2): 91–110. doi: 10.1080/21541264.2018.1535211
11. Malumbres M. Cyclin-dependent kinases. *Genome Biol* 2014; 15(6): 122. doi: 10.1186/gb4184.
12. Hydbring P, Malumbres M, Sicinski P. Non-canonical functions of cell cycle cyclins and cyclin-dependent kinases. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2016; 17(5): 280–292. doi: 10.1038/nrm.2016.27.
13. Kohoutek J. P-TEFb – the final frontier. *Cell Div* 2009; 4: 19. doi: 10.1186/1747-1028-4-19.
14. Malumbres M, Harlow E, Hunt T et al. Cyclin-dependent kinases: a family portrait. *Nat Cell Biol* 2009; 11(11): 1275–1276. doi: 10.1038/ncb1109-1275.
15. Eick D, Geyer M. The RNA polymerase II carboxy-terminal domain (CTD) code. *Chemical Reviews* 2013; 113(11): 8456–8490. doi: 10.1021/cr400071f.
16. Jeronimo C, Bataille AR, Robert F. The writers, readers, and functions of the RNA polymerase II C-terminal domain code. *Chemical Reviews* 2013; 113(11): 8491–8522. doi: 10.1021/cr4001397.
17. Bradner JE, Hnisz D, Young RA. Transcriptional addiction in cancer. *Cell* 2017; 168(4): 629–643. doi: 10.1016/j.cell.2016.12.013.
18. Ko TK, Kelly E, Pines S. CrkRS: a novel conserved Cdc2-related protein kinase that colocalises with SC35 speckles. *J Cell Sci* 2001; 114(Pt 14): 2591–2603.
19. Blazek D, Kohoutek J, Bartholomeeusen K et al. The Cyclin K/Cdk12 complex maintains genomic stability via regulation of expression of DNA damage response genes. *Genes Dev* 2011; 25(20): 2158–2172. doi: 10.1101/gad.16962311.
20. Juan HC, Lin Y, Chen HR et al. Cdk12 is essential for embryonic development and the maintenance of genomic stability. *Cell Death Differ* 2016; 23(6): 1038–1048. doi: 10.1038/cdd.2015.157.
21. Blazek D. The cyclin K/Cdk12 complex: an emerging new player in the maintenance of genome stability. *Cell Cycle* 2012; 11(6): 1049–1050. doi: 10.4161/cc.11.6.19678.
22. Davidson L, Muniz L, West S. 3' end formation of pre-mRNA and phosphorylation of Ser2 on the RNA polymerase II CTD are reciprocally coupled in human cells. *Genes Dev* 2014; 28(4): 342–356. doi: 10.1101/gad.231274.113.
23. Eifler TT, Shao W, Bartholomeeusen K et al. Cyclin-dependent kinase 12 increases 3' end processing of growth factor-induced c-FOS transcripts. *Mol Cell Biol* 2015; 35(2): 468–478. doi: 10.1128/MCB.01157-14.
24. Cheng SW, Kuzzyk MA, Moradian A et al. Interaction of cyclin-dependent kinase 12/CrkRS with cyclin K1 is required for the phosphorylation of the C-terminal domain of RNA polymerase II. *Mol Cell Biol* 2012; 32(22): 4691–4704. doi: 10.1128/MCB.06267-11.
25. Liang K, Gao X, Gilmore JM et al. Characterization of human cyclin-dependent kinase 12 (CDK12) and CDK13 complexes in C-terminal domain phosphorylation, gene transcription, and RNA processing. *Mol Cell Biol* 2015; 35(6): 928–938. doi: 10.1128/MCB.01426-14.
26. Tien JF, Mazloomian A, Cheng SG et al. CDK12 regulates alternative last exon mRNA splicing and promotes breast cancer cell invasion. *Nucleic Acids Res* 2017; 45(11): 6698–6716. doi: 10.1093/nar/gkx187.
27. Zhang T, Kwiatkowski N, Olson CM et al. Covalent targeting of remote cysteine residues to develop CDK12 and CDK13 inhibitors. *Nat Chem Biol* 2016; 12(10): 876–884. doi: 10.1038/nchembio.2166.
28. Johnson SF, Cruz C, Greifenberg AK et al. CDK12 inhibition reverses de novo and acquired PARP inhibitor Resistance in BRCA wild-type and mutated models of triple-negative breast cancer. *Cell Rep* 2016; 17(9): 2367–2381. doi: 10.1016/j.celrep.2016.10.077.
29. Ekumi KM, Paculova H, Lenasi T et al. Ovarian carcinoma CDK12 mutations misregulate expression of DNA repair genes via deficient formation and function of the Cdk12/CycK complex. *Nucleic Acids Res* 2015; 43(5): 2575–2589. doi: 10.1093/nar/gkv101.
30. Dubbury SJ, Boutz PL, Sharp PA. CDK12 regulates DNA repair genes by suppressing intronic polyadenylation. *Nature* 2018; 564(7734): 141–145. doi: 10.1038/s41586-018-0758-y.
31. Wang C, Wang H, Lieftink C et al. CDK12 inhibition mediates DNA damage and is synergistic with sorafenib treatment in hepatocellular carcinoma. *Gut* 2020; 69(4): 727–736. doi: 10.1136/gutjnl-2019-318506.
32. Bajrami I, Frankum JR, Konde A et al. Genome-wide profiling of genetic synthetic lethality identifies CDK12 as a novel determinant of PARP1/2 inhibitor sensitivity. *Cancer Res* 2014; 74(1): 287–297. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-13-2541.
33. Joshi PM, Sutor SL, Huntoon CJ et al. Ovarian cancer-associated mutations disable catalytic activity of CDK12, a kinase that promotes homologous recombination repair and resistance to cisplatin and poly(ADP-ribose) polymerase inhibitors. *J Biol Chem* 2014; 289(13): 9247–9253. doi: 10.1074/jbc.M114.551143.
34. Paculova H, Kramara J, Simeckova S et al. BRCA1 or CDK12 loss sensitizes cells to CHK1 inhibitors. *Tumour Biol* 2017; 39(10): doi: 10.10428317727479. doi: 10.1177/1010428317727479.
35. Lei T, Zhang P, Zhang X et al. Cyclin K regulates pre-replicative complex assembly to promote mammalian cell proliferation. *Nat Commun* 2018; 9(1): 1876. doi: 10.1038/s41467-018-04258-w.
36. Li X, Chatterjee N, Spirohn K et al. Cdk12 is a gene-selective RNA polymerase II kinase that regulates a subset of the transcriptome, including Nrf2 target genes. *Sci Rep* 2016; 6: 21455. doi: 10.1038/srep21455.
37. Quereda V, Bayle S, Vena S et al. Therapeutic targeting of CDK12/CDK13 in triple-negative breast cancer. *Cancer Cell* 2019; 36(5): 545–558. doi: 10.1016/j.ccell.2019.09.004.
38. Marshall CH, Imada EL, Tang Z et al. CDK12 inactivation across solid tumors: an actionable genetic subtype. *Oncoscience* 2019; 6(5-6): 312–316. doi: 10.18632/oncoscience.481.
39. Biswas R, Gao S, Cultraro CM et al. Genomic profiling of multiple sequentially acquired tumor metastatic sites from an „exceptional responder“ lung adenocarcinoma patient reveals extensive genomic heterogeneity and novel somatic variants driving treatment response. *Cold Spring Harb Mol Case Stud* 2016; 2(6): a001263. doi: 10.1101/mcs.a001263.
40. Zhang X, Nguyen KD, Rudnick PA et al. Quantitative mass spectrometry to interrogate proteomic heterogeneity in metastatic lung adenocarcinoma and validate a novel somatic mutation CDK12-G879V. *Mol Cell Proteomics* 2019; 18(4): 622–641. doi: 10.1074/mcp.RA118.001266.
41. Geyer JT, Subramaniam S, Jiang Y et al. Lymphoblastic transformation of follicular lymphoma: a clinicopathologic and molecular analysis of 7 patients. *Hum Pathol* 2015; 46(2): 260–271. doi: 10.1016/j.humpath.2014.10.021.
42. Riches JC, Schultz N, Ku GY et al. Genomic profiling of esophagogastric (EG) tumors in clinical practice. *J Clin Oncol* 2015; 33(3\_suppl): 57–57.
43. Cancer Genome Atlas Research. Integrated genomic analyses of ovarian carcinoma. *Nature* 2011; 474(7353): 609–615. doi: 10.1038/nature10166.
44. Carter SL, Cibulskis K, Helman E et al. Absolute quantification of somatic DNA alterations in human cancer. *Nat Biotechnol* 2012; 30(5): 413–421. doi: 10.1038/nbt.2203.
45. Quigley D A, Dang HX, Zhao SG et al. Genomic hallmarks and structural variation in metastatic prostate cancer. *Cell* 2018; 174(3): 758–769. doi: 10.1016/j.cell.2018.06.039.
46. Viswanathan SR, Ha G, Hoff AM et al. Structural alterations driving castration-resistant prostate cancer revealed by linked-read genome sequencing. *Cell* 2018; 174(2): 433–447. doi: 10.1016/j.cell.2018.05.036.
47. Wu YM, Cieslik M, Lonigro RJ et al. Inactivation of CDK12 delineates a distinct immunogenic class of advanced prostate cancer. *Cell* 2018; 173(7): 1770–1782. doi: 10.1016/j.cell.2018.04.034.
48. Manogue C, Cotogno P, Ledet E et al. Biomarkers for Programmed Death-1 inhibition in prostate cancer. *The Oncologist* 2019; 24(4): 444–448. doi: 10.1634/theoncologist.2018-0546.
49. Menghi F, Barthel FP, Yadav V et al. The tandem duplicator phenotype is a prevalent genome-wide cancer configuration driven by distinct gene mutations. *Cancer Cell* 2018; 34(2): 197–210. doi: 10.1016/j.ccell.2018.06.008.
50. Cancer Genome Atlas. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2012; 490(7418): 61–70. doi: 10.1038/nature11412.
51. Shah SP, Roth A, Goya R et al. The clonal and mutational evolution spectrum of primary triple-negative breast cancers. *Nature* 2012; 486(7403): 395–399. doi: 10.1038/nature10933.
52. Kauraniemi P, Kallioniemi A. Activation of multiple cancer-associated genes at the ERBB2 amplicon in breast cancer. *Endocr Relat Cancer* 2006; 13(1): 39–49. doi: 10.1677/erc.1.01147.
53. Mertins P, Mani DR, Ruggles KV et al. Proteogenomics connects somatic mutations to signalling in breast cancer. *Nature* 2016; 534(7605): 55–62. doi: 10.1038/nature18003.
54. Sircoulomb F, Bekhouche I, Finetti P et al. Genome profiling of ERBB2-amplified breast cancers. *BMC Cancer* 2010; 10: 539. doi: 10.1186/1471-2407-10-539.
55. Capra M, Nuciforo PG, Confalonieri S et al. Frequent alterations in the expression of serine/threonine kinases in human cancers. *Cancer Res* 2006; 66(16): 8147–8154. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-05-3489.
56. Zhou C, Feng X, Yuan F et al. Difference of molecular alterations in HER2-positive and HER2-negative gastric cancers by whole-genome sequencing analysis. *Cancer Manag Res* 2018; 10: 3945–3954. doi: 10.2147/CMAR.S172710.
57. Chen K, Quan J, Yang J et al. The potential markers of endocrine resistance among HR+ /HER2+ breast cancer patients. *Clin Transl Oncol* 2020; 22(4): 576–584. doi: 10.1007/s12094-019-02163-2.
58. Naidoo K, Wai PT, Maguire SL et al. Evaluation of CDK12 protein expression as a potential novel biomarker for DNA damage response-targeted therapies in breast cancer. *Mol Cancer Ther* 2018; 17(1): 306–315. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-17-0760.
59. Natrajan R, Wilkerson PM, Marchio C et al. Characterization of the genomic features and expressed fusion genes in micropapillary carcinomas of the breast. *J Pathol* 2014; 232(5): 553–565. doi: 10.1002/path.4325.
60. Chen B, Zhang G, Wei G et al. Heterogeneity of genomic profile in patients with HER2-positive breast cancer. *Endocr Relat Cancer* 2020; 27(3): 153–162. doi: 10.1530/ERC-19-0414.
61. Iorns E, Martens-De Kemp SR, Lord CJ et al. Ashworth CRK7 modifies the MAPK pathway and influences the response to endocrine therapy. *Carcinogenesis* 2009; 30(10): 1696–1701. doi: 10.1093/carcin/bgp187.
62. Paruch K, Dwyer MP, Alvarez C et al. Discovery of dinaciclib (SCH 727965): A potent and selective inhibitor of cyclin-dependent kinases. *ACS Med Chem Lett* 2010; 1(5): 204–208. doi: 10.1021/ml100051d.
63. Geng M, Yang Y, Cao X et al. Targeting CDK12-mediated transcription regulation in anaplastic thyroid carcinoma. *Biochem Biophys Res Commun* 2019; 520(3): 544–550. doi: 10.1016/j.bbrc.2019.10.052.
64. Toyoshima M, Howie HL, Imakura M et al. Functional genomics identifies therapeutic targets for MYC-driven

cancer. Proc Natl Acad Sci U S A 2012; 109(24): 9545–9550. doi: 10.1073/pnas.1121119109.

65. May WA, Lessnick SL, Braun BS et al. The Ewing's sarcoma EWS/FLI-1 fusion gene encodes a more potent transcriptional activator and is a more powerful transforming gene than FLI-1. Mol Cell Biol 1993; 13(12): 7393–7398. doi: 10.1128/mcb.13.12.7393.

66. Iniguez AB, Stolte B, Wang EJ et al. EWS/FLI confers tumor cell synthetic lethality to CDK12 inhibition in Ewing sarcoma. Cancer Cell 2018; 33(2): 202–216. doi: 10.1016/j.ccell.2017.12.009.

67. Rusan M, Li K, Li Y et al. Suppression of adaptive responses to targeted cancer therapy by transcriptional repression. Cancer Discov 2018; 8(1): 59–73. doi: 10.1158/2159-8290.CD-17-0461.

68. Lord CJ, Ashworth A. The DNA damage response and cancer therapy. Nature 2012; 481(7381): 287–294. doi: 10.1038/nature10760.

69. Bryant HE, Schultz N, Thomas HD et al. Specific killing of BRCA2-deficient tumours with inhibitors of poly(ADP-ribose) polymerase. Nature 2005; 434(7035): 913–917. doi: 10.1038/nature03443.

70. Helleday T, Bryant HE, Schultz N. Poly(ADP-ribose) polymerase (PARP-1) in homologous recombination and as a target for cancer therapy. Cell Cycle 2005; 4(9): 1176–1178. doi: 10.4161/cc.4.9.2031.

71. Montoni A, Robu M, Pouliot E et al. Resistance to PARP-inhibitors in cancer therapy. Front Pharmacol 2013; 4: 18. doi: 10.3389/fphar.2013.00018.

72. Noordermeer SM, Van Attikum H. PARP inhibitor resistance: A tug-of-war in BRCA-mutated cells. Trends Cell Biol 2019; 29(10): 820–834. doi: 10.1016/j.tcb.2019.07.008.

## Informace z České onkologické společnosti

Zápis ze schůze výboru České onkologické společnosti konané 16. 6. 2020 ve FN Motol v Praze naleznete na [www.linkos.cz](http://www.linkos.cz).

# Zhubné nádory krčka maternice v gravidite

## Cervical cancer in pregnancy

Nocarová L.<sup>1,2</sup>, Ondruš D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>I. onkologická klinika LF UK a OÚSA, Bratislava

<sup>2</sup>Interná klinika VŠZaSP sv. Alžbety a OÚSA, Bratislava

### Súhrn

**Východiská:** Napriek raritnému výskytu, zhubné nádory krčka maternice patria medzi najčastejšie malignity počas gravidity. Viac ako 70 % prípadov je diagnostikovaných vo včasnom štádiu ochorenia s možnosťou odkladu liečby do popôrodného obdobia. Diagnóza invazívneho cervikálneho karcinómu v gravidite je však obťažnou pre pacientku, jej rodinu aj lekárov. Starostlivosť o pacientku a plod by mala byť v rukách multidisciplinárneho tímu a pri rozhodovaní o liečbe a gravidite je nutné rešpektovať želania pacientky. Rádioterapia je počas gravidity kontraindikovaná, rizikové pacientky sú preto odkázané na neoadjuvantnú alebo adjuvantnú chemoterapiu počas gravidity alebo v popôrodnom období. Výber neoadjuvantnej chemoterapie, načasovanie pôrodu a realizácia definitívnej liečby sú kľúčové pre zdravie matky aj dieťaťa. Paliatívna liečba je počas gravidity extrémne zriedkavá a prognóza je nepriaznivá. Vzhľadom na mechanizmy účinku nie je možné gravidným pacientkam podávať biologickú liečbu – bevacizumab – ani imunoterapiu – pembrolizumab, ktoré preukazujú zlepšené celkové prežívanie v paliatívnej liečbe u negravidných pacientok. **Cieľ:** Cieľom prehľadovej práce je zhrnúť poznatky o liečbe gravidných pacientok so zhubným nádorom krčka maternice, so zameraním na diagnostiku, načasovanie liečby, pôrodu a výber liečebných modalít podľa štádia ochorenia a gestačného veku. Napriek nutnosti individuálneho prístupu je cieľom vyzdvihnúť súčasné odporúčané postupy v gravidite, ktoré sú podporené medicínou založenou na dôkazoch.

### Kľúčové slová

zhubné nádory krčka maternice – komplikácie v tehotenstve – gestačný vek – vedľajšie účinky a nežiaduce reakcie zapríčinené liekmi

### Summary

**Background:** Cervical cancer is one of the most frequent cancers in pregnant women, despite this combination being a rare condition. More than 70% of cases are diagnosed in early stages and its treatment can be postponed after the delivery. Invasive cancer diagnosis in pregnancy is difficult for a patient, her family and doctors. A multidisciplinary team should take care of the patient and foetus and patient's wishes are respected regarding her treatment and pregnancy. Radiotherapy in pregnancy is contraindicated. Neoadjuvant or adjuvant chemotherapy is therefore a main treatment method in patients with high risk disease either during pregnancy, or after the delivery. Neoadjuvant chemotherapy choice, delivery timing and definitive treatment are keys to mother's and child's health. Palliative treatment during pregnancy is extremely rare and the prognosis is poor. Bevacizumab and pembrolizumab are promising in the palliative treatment of non-pregnant patients. Neither biological therapy by bevacizumab, nor immunotherapy by pembrolizumab can be administered to pregnant patient due to their mechanisms of action. **Purpose:** This overview's aim is to analyse data of cervical cancer treatment for pregnant women, focusing on diagnostics, therapy and delivery timing and treatment modalities choice according to the stage of the disease and gestational age. Individual approach is always necessary; our aim is, however, to emphasise current evidence-based recommendations in pregnancy.

### Key words

uterine cervical neoplasms – pregnancy complications – gestational age – drug-related side effects and adverse reactions

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. Lucia Nocarová  
I. onkologická klinika LF UK a OÚSA  
Heydukova 10  
812 50 Bratislava  
Slovenská republika  
lucia.nocarova@ousa.sk

Obdržané/Submitted: 8. 4. 2020

Prijaté/Accepted: 20. 5. 2020

doi: 10.14735/amko2020268

## Epidemiológia a diagnostika

Zo všetkých žien, ktorým bol novodiagnostikovaný nádor krčka maternice, je 1–3 % tehotných alebo v popôrodnom období [1,2]. Asi polovica prípadov je diagnostikovaná prenatálne, druhá polovica do 12 mesiacov po pôrode [3]. Karcinóm krčka maternice je jednou z najčastejších malignít počas gravidity, s odhadovanou incidenciou 0,8–1,5 prípadov na 10 000 pôrodov [4–6].

Väčšina prípadov (70–80 %) je diagnostikovaná v skorom štádiu ochorenia (tab. 1) [7,8]. Pravdepodobne je to dôsledok rutinného prenatálneho skriningu, ale je tiež možné, že pokročilejšie štádiá ochorenia zabrahujú počatiu.

Priebeh ochorenia a prognóza v jednotlivých štádiách sa u tehotných a netehotných pacientok v zásade nelíši [9,10]. Príznaky ochorenia v tehotenstve závisia od klinického štádia a veľkosti lézie. Podľa výskumov sú takmer všetky pacientky s IA štádiom a 50 % s IB štádiom ochorenia asymptomatické a nález je náhodný [6,9].

Pacientky so symptomatickým IB štádiom ochorenia môžu mať abnormálne vaginálne krvácanie alebo sekréciu. Vo vyšších štádiách je zvyčajne prítomná panvová bolesť, bolesti nôh, slabín, chronická anémia a zadychávanie sa. Keďže mnohé z týchto príznakov sú podobne prítomné aj v normálne prebiehajúcich graviditách, diagnostika karcinómu môže byť oneskorená. Veľké cervikálne lézie môžu byť pozorované alebo palpované v akomkoľvek štádiu tehotenstva, opäť však môžu byť zamenené za bežné

nálezy v gravidite, ako je ektrypion, stromálny edém alebo dozrievanie cervixu. Karcinómu sa tiež môže podobať decíduálna reakcia cervixu.

Diagnostika by mala zahŕňať cervikálnu cytológiu pri abnormálnom vaginálnom krvácaní, väčšie lézie by mali byť histologizované. Ďalší postup pri náleze abnormálnej cytológie by mal byť podľa Bethesda odporúčaní z roku 2012 [11]. V prípade kolposkopického nálezu cervikálnej intraepitelovej neoplázie (CIN) II/III alebo karcinómu je potrebné vykonať biopsiu. Cervikálna biopsia môže byť vykonaná počas gravidity bez signifikantne zvýšeného rizika nadmerného krvácania [12]. Endocervikálna kyretáž sa počas tehotenstva neodporúča pre predpoklad zvýšeného rizika potratu [7].

Indikácie na konizáciu cervixu u negravidnej populácie nie sú aplikovateľné počas tehotenstva. Diagnostická konizácia v gravidite je indikovaná iba vtedy, ak potvrdenie invazívneho ochorenia zmení načasovanie alebo spôsob pôrodu, v ostatných prípadoch je indikovaný odklad konizácie do obdobia po pôrode, aby sa predišlo prípadnému potratu [13,14].

V prípade, že je konizácia realizovaná pred pôrodom, 2. trimester (medzi 13. a 20. gestačným týždňom) je najoptimálnejším obdobím. Nie je vhodné realizovať konizáciu < 4 týždne pred odhadovaným termínom pôrodu, pre zvýšené riziko krvácania a rozšírenia rany po konizácii počas pôrodu [15]. V prípade obavy o pokračovanie gravidity po konizácii je možné vykonať cerkláž [16]. Potenciálnymi komplikáciami konizácie počas tehotenstva sú krvácanie, spontánny potrat, predčasná ruptúra membrán, predčasný pôrod a infekcia [17].

Presne stanovený staging je zásadný pre plánovanie ďalšieho postupu liečby. S ohľadom na bezpečnosť plodu, je potrebné vybrať vhodné zobrazovacie vyšetrenia a limitovať expozíciu ionizujúcemu žiareniu. Vo všeobecnosti sa odporúča RTG hrudníka s abdominálnym tienením, u všetkých pacientok s viac ako mikroskopickým cervikálnym potihnutím. Vo väčšom rozsahu pri IB1, IB2 alebo pokročilejšom ochorení a pri vysoko rizikovej histológii (adenokarcinóm, malobunkový karcinóm), by mal

byť močový trakt zobrazený pomocou ultrasonografie (USG) alebo magnetickej rezonancie (MRI), aby sa vylúčilo IIIB štádium ochorenia a súčasne je vhodné doplniť zobrazenie abdomenu a panvy. MR vyšetrenie má oproti USG výhodu výborného tkanivového kontrastu, presnejšieho vypočítania objemu tumoru a šírenia do príslušných orgánov a lymfatických uzlín (LU); senzitivita aj špecificita MRI mierne klesá pri malých uzlinových metastázach [18].

U pacientok, ktoré si želajú zachovať graviditu, ale majú signifikantné riziko postihnutia LU, môže priniesť dôležitú informáciu o štádiu ochorenia stagingová lymfadenektómia extraperitoneálnym alebo laparoskopickým prístupom [19–21]. Táto histológia je signifikantná, keďže u pacientok s uzlinovo-pozitívnym ochorením je mimoriadne dôležité začať s definitívnou liečbou čím skôr, najlepšie ihneď [22].

## Manažment pacientky, ktorá sa rozhodne ukončiť graviditu

Ak si pacientka želá ukončenie gravidity, v prípade ochorenia v skorom štádiu je všeobecne odporúčaná radikálna hysterektómia s plodom in situ a so zachovaním ovárií. V prípadoch pokročilého ochorenia a preinvazívneho ochorenia by mala byť pacientka liečená ako netehotná pacientka.

## Manažment pacientky, ktorá si neželá ukončiť graviditu

### Preinvazívne ochorenie – carcinoma in situ

Liečba preinvazívneho ochorenia by mala byť odložená do postpartálneho obdobia. Prehodnotenie a definitívna terapia by mali prebehnúť do 6–8 týždňov po pôrode [23]. Aj v prípade „high-grade“ preinvazívneho ochorenia je riziko progresie do invazívneho karcinómu veľmi nízke (0–0,4 %) [24–26]. Okrem toho je možná popôrodná spontánna regresia, v niektorých prípadoch bez potreby ďalšieho terapeutického riešenia [27,28]. V súčasnosti nie je jasné, či spôsob pôrodu (sekciami alebo vaginálne) ovplyvňuje pravdepodobnosť regresie nálezu, preto by mal byť tento výber založený na štandardných pôrodných indikáciách [26].

**Tab. 1. Porovnanie FIGO štádia karcinómu krčka maternice v čase stanovenia diagnózy u tehotných a netehotných žien [7,8].**

Štádium	Netehotné ženy	Tehotné ženy
FIGO I	42 %	70–80 %
FIGO II	35 %	11–20 %
FIGO III	21 %	3–8 %
FIGO IV	2 %	0–3 %

FIGO – Medzinárodná federácia gynekológie a pôrodnictva

**Tab. 2. ESMO odporúčania manažmentu pacientky so štádiom FIGO IB1-IV, ktorá si želá zachovať graviditu podľa času diagnózy [37].**

Čas diagnózy	Odporúčania
1. trimester	Ak si pacientka želá zachovanie gravidity, prediskutujte podrobný monitoring až do 2. trimestra gravidity (viď nižšie).
2. trimester	<p>štádium IB1</p> <p>lymfadenektómia</p> <p>a) LU negatívne: prísne sledovanie alebo CHT počas tehotenstva, nasledovaná hysterektómiou alebo rozsiahlou konizáciou po pôrode.</p> <p>b) LU pozitívne: CHT počas tehotenstva nasledovaná radikálnou hysterektómiou počas pôrodu alebo CHT-RT po pôrode.</p>
	<p>štádium IB2-IVA</p> <p>CHT počas tehotenstva. Chirurgický manažment a/alebo CHT-RT podľa štádia a postihnutia LU po pôrode.</p>
	<p>štádium IVB – vzdialené metastázy</p> <p>CHT počas tehotenstva.</p>
3. trimester	Odložte liečbu po pôrode, zvážte skoršiu indukciu pôrodu. Chirurgický manažment /CHT-RT /CHT podľa štádia po pôrode.

ESMO – Európska spoločnosť pre lekársku onkológiu, FIGO – Medzinárodná federácia gynekológie a pôrodnictva, CHT – chemoterapia, CHT-RT – chemorádioterapia, LU – lymfatické uzliny  
chemoterapia = cisplatina (75 mg/m<sup>2</sup> à 3 týždne) alebo režimy s karboplatinou ± paklitaxel à 3 týždne alebo á týždeň

### Invazívne ochorenie

Diagnóza invazívneho cervikálneho karcinómu v gravidite je obťažnou pre pacientku, jej rodinu, aj jej lekárov. Starostlivosť o pacientku by mala byť v rukách multidisciplinárneho tímu a mali by sa brať do úvahy predovšetkým želania pacientky (a jej rodiny).

Okamžitá definitívna liečba, bez ohľadu na gestačný vek, je všeobecne vhodná v prípade [22]:

- dokázaných metastáz v LU;
- progresie ochorenia počas tehotenstva;
- pacientkinho želania ukončiť graviditu.

Pacientky, ktoré si neželajú ukončiť graviditu, vyžadujú individuálny multidisciplinárny prístup a rozhodovanie na základe štádia ochorenia, gestačného týždňa, fetálnej viability, liečebných možností a pacientkiných preferencií. Údaje o manažmente týchto pacientok sú limitované, ale rádioterapia (RT) je určite kontraindikovaná, keďže môže vyvolať spontánny potrat alebo vážne neletálne poškodenia plodu [22].

### Pri gestačnom veku menej ako 22–25 týždňov

V čase diagnózy je odporúčaná lymfadenektómia, podľa dát, ktoré sú k dispozícii, je možné ju vykonať v prvom a v pre-

važnej časti 2. trimestra bez zvýšeného rizika komplikácií [29].

IA1 štádium – pri mikroinvazívnom ochorení (a to aj v prípade adenokarcinómu) je odporúčaná konizácia [28,30].

IA2 a IB1 < 2 cm štádia – vzhľadom na riziko postihnutia parametriad < 1% sa považuje jednoduchá trachelektómia aj väčšia konizácia za vhodné metódy. Radikálna trachelektómia, v prípade, že si žena želá zachovať graviditu, nie je optimálnou metódou [22,31].

IB1 ≥ 2cm a vyššie štádia – je odporúčaná neoadjuvantná chemoterapia (CHT) po zistení negativity LU, alebo aj v prípade, že stagingová lymfadenektómia nebola realizovaná – v takom prípade by mal byť staging dokončený 6–8 týždňov po pôrode. S liečbou sa čaká do 2. trimestra, aby sa minimalizovalo riziko teratogénneho vplyvu CHT.

Pozitívna lymfatických uzlín – u pacientok s potvrdeným postihnutím LU histologicky alebo s predpokladaným postihnutím podľa zobrazovacích vyšetrení, ktoré si želajú zachovanie gravidity, je potrebné dôkladné poučenie pacientky o prognóze, liečebných možnostiach a dôležitosti včasnej liečby a je dôležitý multidisciplinárny prístup pri starostlivosti o matku aj plod. V 2. trimestri je indikovaná neoadjuvantná CHT.

### V gestačnom veku 22–25 týždňov a neskôr

Lymfadenektómia sa štandardne neodporúča pre zvýšené riziko spojené s chirurgickým zákrokom a veľkosťou gravidného uteru. Rozhodnutia o liečbe by preto mali byť založené na klinickom štádiu ochorenia.

IA a IB1 < 2 cm štádia – vo vyššom gestačnom veku s tumorom < 2 cm je odporúčaný odklad liečby až do 6–8 týždňov po pôrode, keďže aj u netehotných pacientok je bežný časový odstup diagnostickej konizácie a definitívnej chirurgie do 6 týždňov a nie je spojený s horším výsledkom liečby [32–35]. V prípade zistenia progresie ochorenia je potrebné začať s liečbou, v takom prípade je prístup rovnaký, ako pri skoršom gestačnom veku a s dôkazom postihnutia LU.

IB1 ≥ 2 cm a vyššie štádia – je iba veľmi málo dát, ktoré by zaznamenávali odklad liečby a jeho dôsledky. Niektorí onkológovia navrhujú neodkladať liečbu, v prípade tumorov o veľkosti > 4 cm, ako v prípade ochorenia s postihnutím LU (potvrdeným alebo predpokladaným). V prípade, že si pacientka neželá skorý pôrod, sa odporúča podávanie neoadjuvantnej CHT do času pôrodu, ako pri skoršom gestačnom veku [36]. Odporúčania Európskej spoločnosti pre lekársku

onkológiu (European Society for Medical Oncology – ESMO) podľa štádia ochorenia sa líšia podľa času zistenia diagnózy (tab. 2) [37].

Neoadjuvantná CHT by mala byť podávaná maximálne do 34.–35. gestačného týždňa a pôrod by mal byť plánovaný s trojtýždňovým odstupom. Podľa dát z Cochrane Database [38] a dvadsaťročnej medzinárodnej kohortovej štúdie [39] je odporúčaný štandardný režim s cisplatinou sólo alebo s kombináciou s paklitaxelom (rovnako, ako u negravídnych pacientok) každé 3 týždne, maximálne do 6 cyklov. Neexistuje štandardné dávkovanie, ale prevažne sa v kombinácii používa cisplatina v dávke 60 mg/m<sup>2</sup> a paklitaxel v dávke 135 mg/m<sup>2</sup> a sólo cisplatina v dávke 75 mg/m<sup>2</sup>. V prípade potreby je možné cisplatinu nahradiť karboplatinou. Tieto režimy majú relatívne vyhovujúci rizikový profil fetálnych, neonatálnych aj maternálnych komplikácií, hoci je nutné spomenúť, že v literatúre sú o tejto liečbe v gravidite iba limitované údaje [40,41].

Existujú aj iné prístupy; Bader et al [42] podávali pacientke s invazívnym karcinómom krčka maternice štádia IIA od 19. týždňa gravidity 4 cykly cisplatinu a vinkristínu v trojtýždňových intervaloch. V 33. týždni tehotenstva bola realizovaná sekcia s radikálnou hysterektómiou a panvovou lymfadenektómiou. Pre nález metastáz v LU pacientka absolvovala 3 cykly cisplatinu, vinkristínu s bleomycínom každých 10 dní. Pacientka bola počas 80 mesiacov sledovania bez recidivy ochorenia. O efekte vinkristínu na vyvíjajúci sa plod je ešte menej informácií, než o efekte paklitaxelu.

Na základe záverov zo „Second International Consensus Meeting on Gynecologic Cancers in Pregnancy“ nie je odporúčané podávanie gemcitabínu, vinorelbínu, topotecanu a biologickej liečby (vrátane antiangiogénnej liečby) u gravidných pacientok, vzhľadom na predpokladané teratogénne účinky a nedostatok údajov o bezpečnosti v gravidite [22].

Metastatické štádium karcinómu cervixu v gravidite je raritné, jedná sa o 0–3 % všetkých prípadov karcinómu cervixu diagnostikovaného počas gravi-

dity [7,8]. Tieto pacientky majú veľmi zúženú prognózu a tehotenstvo v takomto prípade situáciu pacientky a jej rodiny výrazne komplikuje. Je nevyhnutná aktívna psychosociálna podpora pri tvorbe liečebného plánu, ktorý sa sústreďuje na kontrolu ochorenia a nie na jeho vyliečenie. Paliatívnu CHT prvej voľby je kombinácia cisplatinu a paklitaxelu a liečba by mala začať počas gravidity, ak pacientka nie je v 3. trimestri gravidity, v takom prípade je vhodné zvážiť indukciu pôrodu skôr.

Cisplatina s paklitaxelom by mala byť podávaná v trojtýždňových intervaloch do 6 cyklov. Existujú dáta, podľa ktorých je cisplatina filtrovaná placentou a jej koncentrácia v amniovej tekutine pri pôrode bola 11–42 % oproti krvi matky [43]. Zníženie hladiny albumínu u matky však môže spôsobiť vyššiu koncentráciu voľnej frakcie cisplatinu u matky a plodu a môže zvýšiť toxicitu, predovšetkým ototoxicitu, preto je vhodná substitúcia albumínu [44]. Zaznamenaná bola aj prechodná neutropénia u novorodencov po intrauterinnej expozícii.

Ideálne by mal byť odstup pôrodu od posledného podania CHT 3 týždne, aby sa kostná dreň zregenerovala a placenta zmetabolizovala a eliminovala cytotoxické látky z plodu. Keďže šanca spontánneho pôrodu sa zvyšuje ku koncu tehotenstva, je lepšie sa vyhnúť podávaniu CHT ku koncu 3. trimestra [45].

Bevacizumab sa v gravidite nepoužíva, vzhľadom na fetálne poškodenie, vyplývajúce z mechanizmu účinku lieku a zistení z animálnych štúdií [46]. To isté platí o používaní pembrolizumabu – animálne modely naznačujú, že PD-1 je potrebný na zachovanie tolerancie gravidity organizmom matky. PD-1 ligandy sú exprimované placentou aj maternými LU, kde spôsobujú deléciu klonov T-buniek, ktoré reagujú na fetálne antigény [47].

Dáta o bezpečnosti CHT v gravidite sú limitované a efekt liekov na plod závisí od gestačného veku, použitých cytostatík a ich dávky [48]. V systematickom prehľade z roku 2013 bolo z 48 expozícií plodu intrauterinne platinovým derivátom na liečbu cervikálneho karcinómu v 17.–33. gestačnom týždni zaznamenaných 67,4 % zdravých novorodencov,

kým ťažkosti ostatných boli prevažne asociované s prematuritou (napr. respiračný „distress“ syndróm) [49]. Zatiaľ bol opísaný jeden prípad skvamocelulárneho karcinómu cervixu, ktorý vytvoril placentárne metastázy [50].

## Pôrod

Načasovanie pôrodu musí byť individuálne zvážené na základe gestačného veku plodu, štádia karcinómu cervixu a prípadnej progresie ochorenia počas gravidity. Ideálny čas pôrodu je v  $\geq 37$ . týždni (najlepšie v 39. týždni), v prípade indikácie skoršieho pôrodu pre stav matky alebo plodu je vhodné podávanie kortikosteroidov na zníženie morbidít dieťaťa po predčasnom pôrode. V IA1 a IA2 štádiách vaginálny pôrod nie je kontraindikovaný z hľadiska onkologického ochorenia, hoci epiziotómii je vhodné sa vyhnúť, ak je to možné, pre zaznamenané prípady implantácie tumorózných buniek do rany po epiziotómii [1,36].

V IB1 a vyšších štádiách karcinóm cervixu by mal byť realizovaný pôrod sekciami. Dáta sú limitované, ale naznačujú, že vaginálny pôrod oproti cisárskemu rezu zhoršuje prognózu matky [1,51]. Pacientky s „bulky“ chorobou a drobnou tumoróznou masou majú vyššie riziko signifikantného krvácania a obštrukcie pôrodného kanála počas vaginálneho pôrodu [52].

Definitívna liečba u pacientok, ktoré sa rozhodli pre odklad liečby po pôrode, môže prebehnúť v čase pôrodu alebo postpartálne.

U žien, ktoré si želajú zachovanie fertility v IA1 štádiu ochorenia, nie je potrebná ďalšia liečba, v prípade, že počas kontrol nie sú zaznamenané ďalšie prejavy ochorenia; v prípade histologicky pozitívneho okraja po konizácii je indikovaná opakovaná konizácia (6–8 týždňov po pôrode) na vylúčenie invazívneho ochorenia. V IA2 štádiu a tumoru do 4 cm je indikovaná radikálna trachelektómia s lymfadenektómiou (ak už nebola realizovaná) 6–8 týždňov po pôrode.

U žien, ktoré si neželajú zachovanie fertility v IA1 štádiu ochorenia, bez dôkazu lymfovaskulárnej invázie (LVSI) je prvou voľbou extrafasciálna hysterek-

tómia, ktorá môže byť realizovaná súbežne s cisárskym rezom, v IA1 s LVSI, IA2 a IB1 < 2cm štádiách by mala pacientka podstúpiť radikálnu hysterektómiu v čase cisárskeho rezu alebo postpartálne.

Pacientky liečené počas gravidity neoadjuvantnou CHT, pre lokálne pokročilé ochorenie alebo pozitívitu LU, by mali podstúpiť radikálnu hysterektómiu v čase cisárskeho rezu alebo postpartálne. Ďalší manažment je ako u negravídnych pacientok.

U pacientok s vysoko rizikovým ochorením, kde bola liečba odložená popôrodne, môže nasledovať CHT-RT alebo adjuvantná CHT.

## Záver

Karcinóm cervixu patrí medzi najčastejšie malignity diagnostikované počas gravidity, prevažne ide o nízke štádiá ochorenia, ktorých liečba je za prísneho monitoringu odložiteľná do popôrodného obdobia. Vo vyšších štádiách je v 2. trimestri gravidity indikovaná neoadjuvantná CHT, v 3. trimestri je vhodné zväžiť skorú indukciu pôrodu a následnú definitívnu chirurgickú liečbu a CHT-RT. Metastatické ochorenie je raritné, vyžaduje paliatívnu CHT. Nová liečba bevacizumabom a pembrolizumabom v gravidite je kontraindikovaná, štandardom zostávajú režimy na báze platiny.

## Literatúra

- Nguyen C, Montz Fj, Bristow RE. Management of stage I cervical cancer in pregnancy. *Obstet Gynecol Surv* 2000; 55(10): 633–643. doi: 10.1097/00006254-200010000-00022.
- Creasman WT. Cancer and pregnancy. *Ann N Y Acad Sci* 2001; 943: 281–286. doi: 10.1111/j.1749-6632.2001.tb03809.x.
- Smith Lh, Dalrymple JI, Leiserowitz GS et al. Obstetrical deliveries associated with maternal malignancy in California, 1992 through 1997. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 184(7): 1504–1512. doi: 10.1067/mob.2001.114867.
- Smith Lh, Danielsén B, Allen ME et al. Cancer associated with obstetric delivery: results of link age with the California cancer registry. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 189(4): 1128–1135. doi: 10.1067/s0002-9378(03)00537-4.
- Demeter A, Sziller I, Csapó Z et al. Outcome of pregnancies after cold-knife conization of the uterine cervix during pregnancy. *Eur J Gynaecol Oncol* 2002; 23(3): 207–210. PMID: 12094956.
- Duggan B, Muderspach Li, Roman Ld et al. Cervical cancer in pregnancy: reporting on planned delay in therapy. *Obstet Gynecol* 1993; 82(4 Pt 1): 598–602. PMID: 8377988.
- Van Calsteren K, Vergote I, Amant F. Cervical neoplasia during pregnancy: diagnosis, management and prognosis. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2005; 19(4): 611–630. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2005.03.002.
- Figo Committee On Gynecologic Oncology. Revised FIGO staging for carcinoma of the vulva, cervix and endometrium. *Int J Gynecol Obstet* 2009; 106(2): 103–104. doi: 10.1016/j.ijgo.2009.02.012.
- Zemlickis D, Lishner M, Degendorfer P et al. Maternal and fetal outcome after invasive cervical cancer in pregnancy. *J Clin Oncol* 1991; 9(11): 1956–1961. doi: 10.1200/JCO.1991.9.11.1956.
- Hopkins MP, Morley GW. The prognosis and management of cervical cancer associated with pregnancy. *Obstet Gynecol* 1981; 58(5): 584–589.
- Lee RB, Neglia W, Park RC. Cervical carcinoma in pregnancy. *Obstet Gynecol* 1981; 58(5): 584–589.
- Baldauf JJ, Dreyfus M, Ritter J et al. Colposcopy and directed biopsy reliability during pregnancy: a cohort study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1995; 62(1): 31–36. doi: 10.1016/0301-2115(95)02178-a.
- Robinson WR, Webb S, Tirpack J et al. Management of cervical intraepithelial neoplasia during pregnancy with LOOP excision. *Gynecol Oncol* 1997; 64(1): 153–155. doi: 10.1006/gyno.1996.4546.
- Douvier S, Filipuzzi L, Sagot P. Management of cervical intra-epithelial neoplasm during pregnancy. *Gynecol Obstet Fertil* 2003; 31(10): 851–855. doi: 10.1016/j.gyobfe.2002.12.001.
- Muller CY, Smith HO. Cervical neoplasia complicating pregnancy. *Obstet Gynecol Clin North Am* 2005; 32(4): 533–546. doi: 10.1016/j.ogc.2005.08.007.
- Goldberg GL, Altaras MM, Block B. Cone cerclage in pregnancy. *Obstet Gynecol* 1991; 77(2): 315–317. doi: 10.1097/00006250-199102000-00033.
- Palle C, Bangsboell S, Andreasson B. Cervical intraepithelial neoplasia in pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2000; 79(4): 306–310.
- Reznek RH, Sahdev A. MR imaging in cervical cancer: seeing is believing. The 2004 Mackenzie Davidson Memorial Lecture. *Br J Radiol* 2005; 78(2): 573–585. doi: 10.1259/bjr/66333608.
- Alouini S, Rida K, Mathevet P. Cervical cancer complicating pregnancy: implications of laparoscopic lymphadenectomy. *Gynecol Oncol* 2008; 108(3): 472–77. doi: 10.1016/j.jgyn.2007.12.006.
- Hertel H, Possover M, Kühne-Heid R et al. Laparoscopic lymph node staging of cervical cancer in the 19th week of pregnancy. A case report. *Surg Endosc* 2001; 15(3): 324. doi: 10.1007/s004640042005.
- Stan C, Megevand E, Irion O et al. Cervical cancer in pregnant women: laparoscopic evaluation before delaying treatment. *Eur J Gynaecol Oncol* 2005; 26(6): 649–650.
- Amant F, Halaska MJ, Fumagalli M et al. Gynecologic cancers in pregnancy: guidelines of a second international consensus meeting. *Int J Gynecol Cancer* 2014; 24(3): 394–403. doi: 10.1097/IGC.0000000000000062.
- Ackermann S, Gehrsitz C, Mehlhorn G et al. Management and course of histologically verified cervical carcinoma in situ during pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2006; 85(9): 1134–1137. doi: 10.1080/00016340600555926.
- Yost NP, Santoso JT, McIntire DD et al. Postpartum regression rates of antepartum cervical intraepithelial neoplasia II and III lesions. *Obstet Gynecol* 1999; 93(3): 359–362. doi: 10.1016/s0029-7844(98)00483-9.
- Paraskevaidis E, Koliopoulos G, Kalantaridou S et al. Management and evolution of cervical intraepithelial neoplasia during pregnancy and postpartum. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2002; 104(1): 67–69. doi: 10.1016/s0301-2115(02)00058-1.
- Ahdoot D, van Nostrand KM, Nguyen NJ et al. The effect of route of delivery on regression of abnormal cervical cytologic findings in the postpartum period. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 178(6): 1116–1120. doi: 10.1016/s0002-9378(98)70310-2.
- Kaplan KJ, Dainty LA, Dolinsky B et al. Prognosis and recurrence risk for patients with cervical squamous intraepithelial lesions diagnosed during pregnancy. *Cancer* 2004; 102(4): 228–232. doi: 10.1002/cncr.20428.
- Takushi M, Moromizato H, Sakumoto K et al. Management of invasive carcinoma of the uterine cervix associated with pregnancy: outcome of intentional delay in treatment. *Gynecol Oncol* 2002; 87(2): 185–189. doi: 10.1006/gyno.2002.6813.
- Vercellino GF, Koehler C, Erdemoglu E et al. Laparoscopic pelvic lymphadenectomy in 32 pregnant patients with cervical cancer: rationale, description of the technique, and outcome. *Int J Gynecol Cancer* 2014; 24(2): 364–371. doi: 10.1097/IGC.0000000000000064.
- Hannigan EV, Whitehouse HH 3rd, Atkinson WD et al. Cone biopsy during pregnancy. *Obstet Gynecol* 1982; 60(4): 450–455. PMID: 7121932.
- Herod JJ, Decruze SB, Patel RD. A report of two cases of the management of cervical cancer in pregnancy by cone biopsy and laparoscopic pelvic node dissection. *BJOG* 2010; 117(12): 1558–1561. doi: 10.1111/j.1471-0528.2010.02723.x.
- Karam A, Feldman N, Holschneider CH. Neoadjuvant cisplatin and radical cesarean hysterectomy for cervical cancer in pregnancy. *Nat Clin Pract Oncol* 2007; 4(6): 375–380. doi: 10.1038/nconp0821.
- van der Vange N, Weverling GJ, Ketting BW et al. The prognosis of cervical cancer associated with pregnancy: a matched cohort study. *Obstet Gynecol* 1995; 85(6): 1022–1026. doi: 10.1016/0029-7844(95)00059-Z.
- Method MW, Brost BC. Management of cervical cancer in pregnancy. *Semin Surg Oncol* 1999; 16(3): 251–260. doi: 10.1002/(sici)1098-2388(199904/05)16:3<251:aid-ssu11>3.0.co;2-4.
- Lee JM, Lee KB, Kim YT et al. Cervical cancer associated with pregnancy: results of a multicenter retrospective Korean study (KGOG-1006). *Am J Obstet Gynecol* 2008; 198(1): 92. e1–6. doi: 10.1016/j.ajog.2007.06.077.
- Germann N, Haie-Meder C, Morice P et al. Management and clinical outcomes of pregnant patients with invasive cervical cancer. *Ann Oncol* 2005; 16(3): 397–402. doi: 10.1093/annonc/mdi084.
- Pentheroudakis G, Orecchia R, Hoekstra HJ et al. Cancer, fertility and pregnancy: ESMO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2010; 21(5): 266–273. doi: 10.1093/annonc/mdq198.
- Rydzewska L, Tierney J, Vale CL et al. Neoadjuvant chemotherapy plus surgery versus surgery for cervical cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2012; 12: CD007406. doi: 10.1002/14651858.CD007406.pub3.
- Dehaan J, Verheeeke M, van Calsteren K et al. Oncological management and obstetric and neonatal outcomes for women diagnosed with cancer during pregnancy: a 20-year international cohort study of 1170 patients. *Lancet Oncol* 2018; 19(3): 337–346. doi: 10.1016/S1470-2045(18)30059-7.
- Cardonick E, Bhat A, Gilmandyar D et al. Maternal and fetal outcomes of taxane chemotherapy in breast and ovarian cancer during pregnancy: case series and review of the literature. *Ann Oncol* 2012; 23(12): 3016–3023. doi: 10.1093/annonc/mds170.
- Cardonick E. Chemotherapy in the treatment of pregnant women with cancer. In: Kehoe S, Jauniaux E, Maresin-Hirsch P et al. *Cancer and reproductive health*. London: RCOG Press 2008.
- Bader AA, Petru E, Winter R. Long-term follow-up after neoadjuvant chemotherapy for high-risk cervical cancer during pregnancy. *Gynecol Oncol* 2007; 105(1): 269–272. doi: 10.1016/j.jgyn.2007.01.009.
- Köhler C, Oppelt P, Favero G et al. How much platinum passes the placental barrier? Analysis of platinum applications in 21 patients with cervical cancer during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2015; 213(2): 206. doi: 10.1016/j.ajog.2015.02.022.
- Zemlickis D, Klein J, Moselhy G et al. Cisplatin protein binding in pregnancy and the neona-



- tal period. *Med Pediatr Oncol* 1994; 23(6): 476–479. doi: 10.1002/mpo.2950230605.
45. Weisz B, Meirou D, Schiff E et al. Impact and treatment of cancer during pregnancy. *Expert Rev Anticancer Ther* 2004; 4(5): 889–902. doi: 10.1586/14737140.4.5.889.
46. Beedie SL, Mahony C, Walker HM et al. Shared mechanism of teratogenicity of anti-angiogenic drugs identified in the chicken embryo model. *Sci Rep* 2016; 6: 30038. doi: 10.1038/srep30038.
47. Poulet FM, Wolf JJ, Herzyk DJ et al. An evaluation of the impact of PD-1 pathway blockade on reproductive safety of therapeutic PD-1 inhibitors. *Birth Defects Res B* 2016; 107(2): 108–119. doi: 10.1002/bdrb.21176.
48. Cardonick E, Iacobucci A. Use of chemotherapy during human pregnancy. *Lancet Oncol* 2004; 5(5): 283–291. doi: 10.1016/S1470-2045(04)01466-4.
49. Zagouri F, Sergentanis TN, Chrysikos D et al. Platinum derivatives during pregnancy in cervical cancer: a systematic review and meta-analysis. *Obstet Gynecol* 2013; 121(2Pt 1):337–343. doi:10.1097/aog.0b013e31827c5822.
50. Dildy GA 3rd, Moise KJ Jr, Carpenter RJ Jr et al. Maternal malignancy metastatic to the products of conception: a review. *Obstet Gynecol Surv* 1989; 44(7): 535–540. doi: 10.1097/00006254-198907000-00008.
51. Baloglu A, Uysal D, Aslan N et al. Advanced stage of cervical carcinoma undiagnosed during antenatal period in term pregnancy and concomitant metastasis on episiotomy scar during delivery: a case report and review of the literature. *Int J Gynecol Cancer* 2007; 17(5): 1155–1159. doi: 10.1111/j.1525-1438.2007.00926.x.
52. Tewari K, Cappuccini F, Gambino A et al. Neoadjuvant chemotherapy in the treatment of locally advanced cervical carcinoma in pregnancy: a report of two cases and review of issues specific to the management of cervical carcinoma in pregnancy including planned delay of therapy. *Cancer* 1998; 82(8): 1529–1534. doi: 10.1002/(sici)1097-0142(19980415)82:8<1529:aid-cnrc15>3.0.co;2-6.

# Role exozomů u nádorových onemocnění

## Role of exosomes in malignancies

Vodičková M., Gregorová J., Ždárská M., Vlachová M., Ševčíková S.

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

### Souhrn

**Východiska:** Extracelulární váčky jsou uzavřené struktury ohraničené lipidovou membránou, které jsou vylučovány téměř všemi druhy buněk, a jejich funkcí je přenos informací při mezi-buněčné komunikaci. Nejčastěji se rozdělují do tří kategorií – exozomy, mikrovezikuly a apoptotická tělíska. Exozomy jsou malé váčky o velikost 30–100 nm a nacházejí se téměř ve všech tělních tekutinách, jako je periferní krev, moč, mateřské mléko, sliny a další. Jsou schopny doručovat svůj obsah do cílových buněk, a tím měnit její chování. Nádorové buňky mají větší sklon k sekreci exozomů a obsahují jiné proteiny a druhy RNA než exozomy vylučované z buněk zdravých. Vzhledem k jejich specifickému složení odpovídajícímu buňce původu a jejímu stavu by mohly být v budoucnu použitelné mimo jiné také jako biomarkery různých onemocnění. **Cíl:** Cílem práce je shrnout dosavadní poznatky o exozomech a jejich zapojení v nejrůznějších procesech, které jsou spojeny s rezistencí u nádorových onemocnění.

### Klíčová slova

exozomy – nádory – extracelulární vezikuly – léková rezistence

### Summary

**Background:** Extracellular vesicles are closed structured surrounded by a lipid membrane that are secreted by almost all types of cells; their function is information delivery during cell-to-cell communication. They are most commonly divided into three categories – exosomes, microvesicles and apoptotic bodies. Exosomes are small vesicles with the size of 30–100 nm, and they are found in almost all body fluids, including peripheral blood, urine, breast milk, saliva and others. They are able to deliver their content to target cells and change their behavior. Cancer cells are able to secrete more exosomes and also contain different proteins and RNA species than the exosomes from healthy cells. Due to their specific composition that is connected to the cell of origin, exosomes could be used as biomarkers of various diseases in the future. **Purpose:** The aim of this work is to summarize current knowledge about exosomes and their role in various processes connected to resistance in tumors.

Tato práce byla podpořena grantem Ministerstva zdravotnictví ČR AZV 17-29343A.

This work was supported by grant of the Ministry of Health of the Czech Republic AZV 17-29343A.

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

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

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

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



doc. RNDr. Sabina Ševčíková, Ph.D.  
Babákova myelomová skupina  
Ústav patologické fyziologie LF MU  
Kamenice 753/5  
625 00 Brno  
e-mail: sevcik@med.muni.cz

Obdrženo/Submitted: 13. 3. 2020

Přijato/Accepted: 15. 4. 2020

doi: 10.14735/amko2020274

### Extracelulární váčky

Extracelulární váčky jsou uzavřené struktury ohraničené lipidovou membránou, které jsou vylučovány téměř všemi typy buněk. Nejčastěji se rozdělují do tří kategorií, které se mezi sebou liší např. hustotou lipidové membrány, obsahem nukleových kyselin, velikostí, anebo biogenezí. Všechny jsou ale svým složením podobné původní buňce a jejich funkcí je přenos informací při mezibuněčné komunikaci [1]. Do prvních dvou kategorií patří exozomy a mikrovezikuly, které jsou secernovány buňkami a které si jsou svým složením navzájem velmi podobné. Třetí kategorií tvoří apoptotická tělíska [2].

### Exozomy

Exozomy jsou váčky ohraničené membránou, které jsou produkovány většími buňkami, o velikosti 30–100 nm. Membrána je tvořena lipidovou dvojvrstvou a uvnitř se nacházejí mimo jiné i nukleové kyseliny. Jsou bohaté na cytozo-

lické a membránové proteiny (např. Rab proteiny či tetraspaniny) [3]. Přesné složení každého exozomu závisí na buňce původu [4]. Nacházejí se téměř ve všech tělních tekutinách, jako je periferní krev, moč, mateřské mléko, mozkomíšni mok a sliny. Jsou schopny doručit svůj obsah do cílových buněk, a tím měnit jejich chování [5,6].

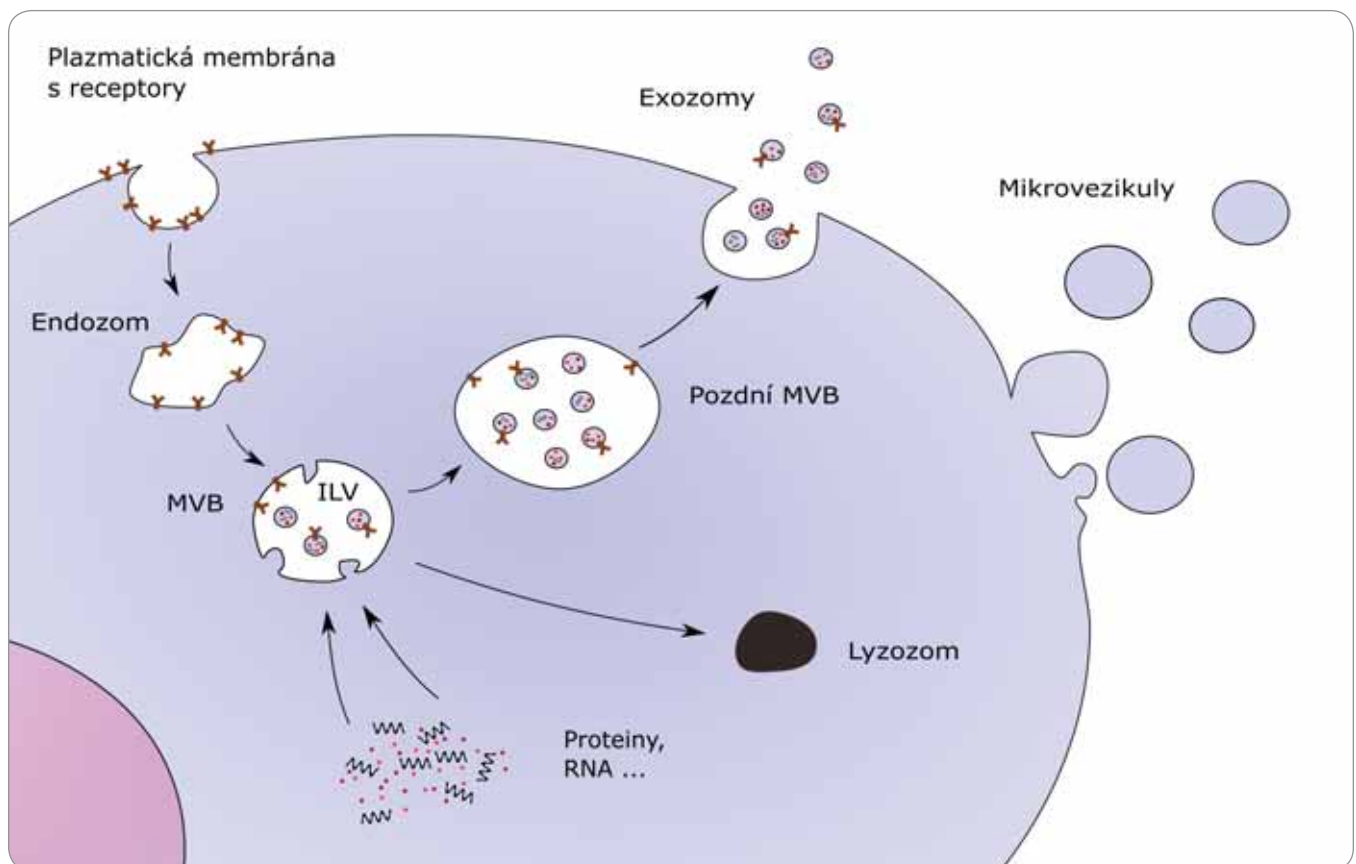
### Biogeneze exozomů

Exozomy vznikají invaginací plazmatické membrány, na rozdíl od ostatních extracelulárních váčků, které vznikají jejím pučením (obr. 1). Formují se v rámci endozomální dráhy, pomocí které buňka přijímá a rozděluje molekuly, které endocytuje. Endocytózou vzniká v buňce časný endozom, který dále dozrává v pozdní endozom, a ten se mění na multivezikulární tělísko (multivesicular body – MVB). Exozomy se tvoří z MVB a formují se tak, že se membrána MVB na několika místech vyboolí a uvolní dovnitř membranózní intraluminální váčky

(intraluminální váčky – ILV). Ty obsahují cytoplazmu, proteiny a RNA i DNA. Váčky se nazývají exozomy až poté, co MVB splyne s plazmatickou membránou buňky a vypustí svůj obsah do extracelulárního prostoru [7–9]. Některé MVB vzniklé v buňce nesplynou s plazmatickou membránou, ale podléhají degradaci pomocí lyzozomů. Molekulární podstata procesu degradace MVB nebo tvorby exozomu není plně objasněna. Oba děje mohou probíhat ve stejné buňce [10,11].

Biogeneze je z velké části zajišťována endozomálním třídícím komplexem (endosomal sorting complexes required for transport – ESCRT). ESCRT má čtyři multiproteinové komplexy – 0, I, II a III – které jsou doplněny dalšími proteiny. Tyto komplexy společně zajišťují vznik MVB, odštěpení ILV a rozdělení proteinů [12].

ESCRT 0 se účastní shromažďování jednotlivých složek exozomu a navázání ubiquitinu na proteinové receptory nacházející se na vnějším povrchu endo-



Obr. 1. Biogeneze exozomů.

ILV – intraluminální váčky, MVB – multivezikulární tělísko

zomu [13,14]. Membránové proteiny, které jsou ubikvitinované, se účastní formace MVB, zatímco neubikvitinované proteiny jsou vráceny zpět do plazmatické membrány nebo do Golgiho aparátu. ESCRT I, jehož důležitou součástí je protein TSG101, vytváří komplex s ubikvitinovanými proteiny, a tím aktivuje ESCRT II. Vzniklý komplex ESCRT I a ESCRT II je zodpovědný za deformaci membrány, která se vypoulí dovnitř MVB, aby vytvořila prostor pro tvorbu ILV s vybranými proteiny a nukleovými kyselinami. Výsledkem je, že MVB proteiny se oddělí a deubikvitinační enzym poslouží k tomu, aby odstranil ubikvitin z proteinů [15–17]. Nakonec aktivovaný komplex ESCRT II zahájí tvorbu složek ESCRT III, který opustí membránu MVB za pomoci energie dodávané třídícím proteinem s ATPázovou aktivitou Vps4. To umožní uvolnění ILV do lumen MVB [18].

Některé studie prokázaly, že existuje i biogeneze exozomů nezávislá na ESCRT. Jedním z důkazů této ESCRT nezávislé biogeneze je, že i po potlačení všech ESCRT komplexů bylo v buňce pozorováno MVB s ILV uvnitř [19]. Do ESCRT nezávislé dráhy mohou být také začleněny tetraspaniny [20], sfingolipidy [21] nebo proteiny teplotního šoku [22].

Mechanismus uvolnění exozomů vyžaduje cytoskelet (aktin a mikrotubuly) a asociované molekulární motory kinesi a myozin. Několik studií potvrdilo nutnost přítomnosti Rab proteinů, které patří do skupiny malých GTPáz. Rab proteiny se účastní pučení váčků, jejich přenosu prostřednictvím cytoskeletu a také jejich navázání na povrch cílové buňky [23–25].

Exozomy uvolněné do mimobuněčného prostoru mohou svůj obsah transportovat do jiné buňky, a tím dosáhnout odpovědi a vyvolat fenotypové změny, které ovlivňují fyziologický nebo patologický stav buňky [24]. Přesný mechanismus přijetí exozomu do buňky není zcela objasněn, protože se pro různé buňky liší [26]. Exozom se na buňku naváže přes molekulární interakci pomocí membránových proteinů, sacharidů nebo lipidů a adhezivních molekul, např. tetraspaninů, na povrchu exozomů. Bylo popsáno několik mechanismů při-

jetí exozomu buňkou: fúze s buněčnou membránou [27], receptorem zprostředkovaná endocytóza [28] a makropinocytóza (typ endocytózy, při které dochází k pohlcení větších částic, např. nutrientů, antigenů a dalších rozpustných molekul) [29]. Těmito způsoby může recipientní buňka přijmout exozomy, které se stanou součástí ESCRT, a jednotlivé složky exozomu ji tak mohou ovlivnit. Mezi další možné mechanismy patří i fagocytóza, pomocí které se exozomy dostávají do fagocytů, kde se stávají součástí lyzozomální degradační dráhy [30].

### Složení

Složení exozomů odpovídá složení jejich mateřské buňky, a proto se od sebe mohou jednotlivé exozomy velmi lišit. Existují ale molekuly, které se běžně vyskytují u většiny z nich, jako např. membránové proteiny tetraspaniny (CD9, CD63, CD81), které jsou důležité při transportu exozomů a při jejich adhezi k cílové buňce [31,32]. Dále obsahují proteiny teplotního šoku (HSP70, HSP90), které fungují jako chaperony – zabezpečují skládání proteinů, transport přes membránu a zabraňují jejich agregaci. Rovněž hrají roli v procesu prezentace antigenu pomocí antigen prezentujících buněk [33,34]. Další ze skupiny exozomálních proteinů jsou Rab proteiny, malé GTPázy, které jsou důležité při transportu molekul přes buněčnou membránu, při nitrobuňčném transportu, fúzi a následné sekreci exozomů [35,36].

Zastoupení lipidů v exozomech je podobné lipidovým raftům v plazmatické membráně. Jsou bohaté na sfingomyelin, cholesterol, ceramid a fosfatidylserin. Studie s využitím hmotnostní spektrometrie prokázaly, že v exozomech je podíl těchto lipidů vůči ostatním lipidům několikrát větší než v buňce, ze které pochází [37–39]. Tyto lipidy také mohou hrát roli v biogenezi exozomů [21,40].

Exozomy obsahují také nukleové kyseliny, které mohou být překládány v jiné buňce [41]. Jsou bohaté hlavně na mRNA a mikroRNA (miRNA). Jelikož se zastoupení těchto druhů RNA v exozomech výrazně liší od buňky jejich původu, předpokládá se, že RNA jsou do exozomů vybírány selektivně [42]. Nejrůznější stu-

die naznačují, že rozdělování miRNA do exozomů by mohlo být regulováno posttranskripčními modifikacemi, jako např. adenylací a uridyací [18].

### Role exozomů v rezistenci vůči léčbě nádorů

Rezistence k nádorové terapii je zásadní překážkou v efektivní léčbě nádorů. Přirozená (primární) rezistence je geneticky podmíněná rezistence k léku, zatímco získaná (sekundární) rezistence, která se vyskytuje častěji, se vyvine po již proběhnuté léčbě. Obě jsou výsledkem interakcí v rámci mikroprostředí nádoru, které probíhají mimo jiné pomocí exozomů [43].

### Mnohočetná léková rezistence

Nádorové buňky se získanou rezistencí k léku si často vytvoří tzv. mnohočetnou lékovou rezistenci, přestože má další léčba jiné složení látek a jiný mechanismus účinku než léčba původní [44]. Mnohočetná léková rezistence je spojena se zvýšenou expresí přenašečů ze skupiny adenosintrifosfát (ATP) vázajících kazet (ATP-binding cassettes – ABC). Jsou to proteiny využívající energii z hydrolyzy ATP pro aktivní transport přes buněčnou membránu [45]. Jedním z nejdůležitějších ABC přenašečů je transmembránový glykoprotein P (P-gp) kódovaný genem *MDR1*. Funguje jako pumpa, která za fyziologických podmínek aktivně přenáší toxické látky ven z buňky. Zvýšené množství P-gp bylo detekováno u mnoha nádorových onemocnění, u nichž je častý výskyt rezistence k léčbě, jako např. nádory ledvin, jater, tlustého střeva, ale také u leukemií a lymfomů [43,46].

Několik studií dokazuje, že P-gp a další ABC přenašeče mnohočetné lékové rezistence jsou přenášeny z rezistentních buněk do buněk citlivých k léčivu [47,48]. Studie rezistence k docetaxelu u nádorů prostaty prokázala, že exozomy z rezistentních buněk dokážou navodit rezistenci u buněk citlivých k léčivu. Zvýšená exprese *MDR1/P-gp* byla pozorována u rezistentních buněk, zatímco u citlivých byla jeho hladina nedetekovatelná, což potvrzuje jeho roli v rezistenci [49]. Podobný fenomén byl zjištěn i při studii buněčné linie nádoru

prsu. Buňky citlivé k docetaxelu měly po inkubaci s exozomy z rezistentních buněk rezistentní fenotyp a také zvýšenou expresi MDR1/P-gp. Navíc exprese MDR1/P-gp úměrně rostla spolu s množstvím exozomů, kterým byly buňky vystaveny [50].

### Epitelo-mezenchymální tranzice

Exozomy mohou působit při procesu navození epitelo-mezenchymální tranzice (EMT), během kterého dochází ke změně z epiteliálního fenotypu buňky na mezenchymální fenotyp. Tento proces je charakterizován ztrátou E-kadherinu a změnami vlastností buňky. EMT dává za vznik mezenchymálním kmenovým buňkám, které jsou samoobnovitelné a jsou zodpovědné za relaps nádoru a rezistenci [51,52]. Při studiu buněk nádoru prsu bylo zjištěno, že miR-155 přenášena pomocí exozomů z kmenových buněk navozuje EMT, a tím zvyšuje rezistenci cílových buněk k doxorubicinu a paklitaxelu [51]. Buňky nádoru vaječníku rezistentní k platině vylučovaly exozomy, které u citlivých buněk zvyšovaly rezistenci a indukovaly EMT [53]. Studie zabývající se buňkami karcinomu žaludku prokázala, že exozomy vylučované z paklitaxel rezistentních buněk mají vysokou expresi miR-155-5p a po dosažení cílové buňky u ní navozují EMT a zvyšují rezistenci [54].

### Antiapoptotické mechanismy

Exozomy jsou schopné přenášet molekuly, které ovlivňují apoptotické signální dráhy. Cílem protinádorového léčiva je zastavit buněčný cyklus a usmrtit nádorové buňky, proto je jedním z mechanismů lékové rezistence únik buněčné smrti. Při studii buněk melanomu byly v exozomech z rezistentních buněk identifikovány tři miRNA (miR-34a, miR-100, miR-125b), které zvyšovaly rezistenci citlivých buněk a zabraňovaly apoptóze [55]. Studie nádoru prsu prokázala stejnou funkci dlouhé nekódující RNA lncRNA SNHG14 [56].

### Exozomy a nádorová onemocnění

Nádory jsou komplexní multifaktoriální choroby. V roce 2000 byla publikována studie Hallmarks of Cancer,

která popisuje šest znaků nádorových onemocnění:

- udržení proliferační signalizace;
- únik růstovým supresorům;
- únik apoptóze;
- neomezený replikační potenciál;
- schopnost angiogeneze;
- schopnost metastazování [57].

V roce 2011 byla tato studie rozšířena o další dva znaky:

- deregulace energie a hospodaření s energií;
- únik imunitnímu systému

a dvě podmínky:

- nestabilita genomu;
- zánět podporující nádor [58].

Mezibuněčná komunikace je důležitou součástí kontrolující a ovlivňující tyto znaky. S dalšími výzkumy znaků nádorových buněk je stále jasnější, že exozomy hrají roli téměř ve všech z nich [59].

Nádorové buňky mají větší sklon k sekreci exozomů a obsahují jiné proteiny a druhy RNA než exozomy vylučované z buněk zdravých [60]. Takto mají schopnost ovlivňovat okolní buňky (vč. buněk imunitního systému) v mikroprostředí nádoru, a tím pomáhat jeho progresi a šíření [11,61]. Mohou interagovat např. s makrofágy, které za fyziologických podmínek zabraňují růstu nádoru a po interakci s nádorovým exozomem se stávají makrofágy asociované s nádorem. Ty následně pomáhají v proliferaci a angiogenezi nádoru [62,63].

Jedním z významných míst jejich uplatnění jsou mechanismy vrozené i adaptivní imunitní odpovědi, jako je transport a prezentace antigenů, ovlivnění exprese genů zánětu, modulace pomocí miRNA či aktivace signálních drah povrchovými ligandy [64]. Co se týče antigenní prezentace, již v roce 1996 Raposo et al. popsali, že exozomy uvolňované z B-lymfocytů nesou hlavní histokompatibilní komplex II (MHC II) s navázaným antigenním peptidem, který je společně s kostimulačními molekulami schopen aktivovat příslušné T-lymfocyty [65]. Exozomy jsou uvolňované také z neuronů a gliových buněk, kde mohou působit protektivně skrze odstraňování špatně složených pro-

teinů nebo naopak napomáhat při rozvoji neurodegenerativních onemocnění [64]. Např. u prionových chorob, které jsou způsobeny šířením špatně složeného prionového proteinu PrPSc v mozku, představují exozomy způsob transportu těchto proteinů mezi buňkami [66]. Exozomy uvolňované z nádorových buněk mohou mít také dvojí roli. Jednak byly popsány exozomy s protinádorovou funkcí, které indukovaly apoptózu nádorových buněk [67] nebo napomáhaly protinádorové imunitní odpovědi [68]. Na druhou stranu uvolňují nádorové buňky exozomy, které mohou různými mechanismy podporovat progresi onemocnění a tvorbu metastáz. Způsobů, jakými mohou ovlivňovat metastazování, je několik, přičemž jeden z nich je zprostředkování transportu onkogenních molekul z nádorových buněk k cílovému orgánu, kde dochází k přípravě premetastatického prostředí k následnému uchycení metastatických buněk [69]. V průběhu let byly exozomy popsány ve většině tělních tekutin a vzhledem k jejich specifickému složení odpovídajícímu buňce původu a jejímu stavu by mohly být v budoucnu použitelné mimo jiné také jako biomarkery různých onemocnění [6].

### Závěr

Exozomy jsou uvolňovány z různých typů buněk – od imunitních až po nádorové – a jsou velmi důležité v mezibuněčné komunikaci. Díky jejich malé velikosti a unikátní kompozici jsou schopny interagovat s rozdílnými typy buněk. Exozomy hrají důležitou roli také při rozvoji nádorového onemocnění, jelikož zprostředkovávají jak komunikaci mezi nádorovými buňkami, tak ovlivňují buňky v okolním prostředí. Vzhledem k jejich specifickému složení odpovídajícímu buňce původu a jejímu stavu by mohly být v budoucnu použitelné jako biomarkery různých onemocnění.

### Literatura

1. Chiriacò MS, Bianco M, Nigro A et al. Lab-on-chip for exosomes and microvesicles detection and characterization. *Sensors* 2018, 18(10): 3175. doi: 10.3390/s18103175.
2. Osteikoetxea X, Sódar B, Németh A et al. Differential detergent sensitivity of extracellular vesicle subpopulations. *Org Biomol Chem* 2015; 13(38): 9775–9782. doi: 10.1039/C5OB01451D.

3. Kowal J, Arras G, Colombo M et al. Proteomic comparison defines novel markers to characterize heterogeneous populations of extracellular vesicle subtypes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2016; 113(8): E968–E977. doi: 0.1073/pnas.1521230113.
4. Chenjie Y, Robbins PD. The roles of tumor-derived exosomes in cancer pathogenesis. [online]. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/jjir/2011/842849/>.
5. Waldenström A, Genneböck N, Hellman U et al. Cardiomycocyte microvesicles contain DNA/RNA and convey biological messages to target cells. [online]. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0034653>.
6. Zhang Y, Liu Y, Liu H et al. Exosomes: biogenesis, biological function and clinical potential. *Cell Biosci* 2019; 9(1): 19. doi: 0.1186/s13578-019-0282-2.
7. Brinton LT, Sloane HS, Kester M et al. Formation and role of exosomes in cancer. *Cel Mol Life Sci* 2015; 72(4): 659–671. doi: 10.1007/s00018-014-1764-3.
8. Kahlert C, Melo SA, Protopopov A et al. Identification of double-stranded genomic DNA spanning all chromosomes with mutated KRAS and p53 DNA in the serum exosomes of patients with pancreatic cancer. *J Biol Chem* 2014; 289(7): 3869–3875. doi: 0.1074/jbc.C113.532267.
9. Minciaccchi VR, Freeman MR, di Vizio D. Extracellular vesicles in cancer: exosomes, microvesicles and the emerging role of large oncosomes. *Semin Cell Dev Biol* 2015; 40: 41–51. doi: 0.1016/j.semcdb.2015.02.010.
10. Hessvik NP, Lorente A. Current knowledge on exosome biogenesis and release. *Cel Mol Life Sci* 2018; 75(2): 193–208. doi: 0.1007/s00018-017-2595-9.
11. Jella KK, Tahseen HN, Li Z et al. Exosomes, their biogenesis and role in inter-cellular communication, tumor microenvironment and cancer immunotherapy. *Vaccines* 2018; 6(4): 69. doi: 0.3390/vaccines6040069.
12. Henne WM, Buchkovich NJ, Emr SD. The ESCRT Pathway. *Developmental Cell* 2011, 21(1), 77–91. doi: 0.1016/j.devcel.2011.05.015.
13. Katzman DJ, Odorizzi G, Emr SD. Receptor downregulation and multivesicular-body sorting. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002; 3(12): 893–905. doi: 0.1038/nrm973.
14. Katzman DJ, Stefan CJ, Babst M et al. Vps27 recruits ESCRT machinery to endosomes during MVB sorting. *J Cell Biol* 2003; 162(3): 413–423. doi: 0.1083/jcb.200302136.
15. Gross JC, Chaudhary V, Bartscherer K et al. Active Wnt proteins are secreted on exosomes. *Nat Cell Biol* 2012; 14(10): 1036–1045. doi: 0.1038/ncb2574.
16. Hoshino D, Kirkbride KC, Costello K et al. Exosome secretion is enhanced by invadopodia and drives invasive behavior. *Cell Rep* 2013; 5(5): 1159–1168. doi: 0.1016/j.celrep.2013.10.050.
17. Tamai K, Tanaka N, Nakano T et al. Exosome secretion of dendritic cells is regulated by Hrs, an ESCRT-0 protein. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2010; 399(3): 384–390. doi: 0.1016/j.bbrc.2010.07.083.
18. Barile L, Vassalli G. Exosomes: Therapy delivery tools and biomarkers of diseases. *Pharmacol Therap* 2017; 174: 63–78. doi: 0.1016/j.pharmthera.2017.02.020.
19. Stuffers S, Wegner CS, Stenmark H et al. Multivesicular endosome biogenesis in the absence of ESCRTs. *Traffic* 2009; 10(7): 925–937. doi: 0.1111/j.1600-0854.2009.00920.x.
20. Van Niel G, Charrin S, Simoes S et al. The tetraspanin CD63 regulates ESCRT-independent and -dependent endosomal sorting during melanogenesis. *Develop Cell* 2011; 21(4): 708–721. doi: 0.1016/j.devcel.2011.08.019.
21. Trajkovic K, Hsu C, Chiantia S et al. Ceramide triggers budding of exosome vesicles into multivesicular endosomes. *Science* 2008; 319(5867): 1244–1247. doi: 0.1126/science.1153124.
22. Kowal J, Tkach M, Théry C. Biogenesis and secretion of exosomes. *Curr Opin Cell Biol* 2014; 29: 116–125. doi: 0.1016/j.ceb.2014.05.004.
23. Blanc L, Vidal M. New insights into the function of Rab GTPases in the context of exosomal secretion. *Small GTPases* 2018; 9(1–2): 95–106. doi: 0.1080/21541248.2016.1264352.
24. Raposo G, Stoorvogel W. Extracellular vesicles: Exosomes, microvesicles, and friends. *Journal of Cell Biology* 2013; 200(4): 373–383. doi: 0.1083/jcb.201211138.
25. Ostrowski M, Carmo NB, Krumeich S et al. Rab27a and Rab27b control different steps of the exosome secretion pathway. *Nat Cell Biol* 2010; 12(1): 19–30. doi: 0.1038/ncb2000.
26. Fitzner D, Schnaars M, van Rossum D et al. Selective transfer of exosomes from oligodendrocytes to microglia by macropinocytosis. *J Cell Sci* 2011; 124(3): 447–458. doi: 0.1242/jcs.074088.
27. Parolini I, Federici C, Raggi C et al. Microenvironmental pH is a key factor for exosome traffic in tumor cells. *J Biol Chem* 2009, 284(49), 34211–34222. doi: 0.1074/jbc.M109.041152.
28. Gonda A, Kabagwira J, Senthil GN et al. Internalization of exosomes through receptor-mediated endocytosis. [online]. Available from: <https://mcr.aacrjournals.org/content/molcanres/17/2/337.full.pdf>.
29. Tian T, Zhu ZL, Yue-Yuan Z et al. Exosome uptake through clathrin-mediated endocytosis and macropinocytosis and mediating miR-21 delivery. *J Biol Chem* 2014; 289(32): 22258–22267. doi: 0.1074/jbc.M114.588046.
30. Feng D, Zhao WL, Ye YY et al. Cellular internalization of exosomes occurs through phagocytosis. *Traffic* 2010; 11(5): 675–687. doi: 0.1111/j.1600-0854.2010.01041.x.
31. Lu J, Li J, Liu S et al. Exosomal tetraspanins mediate cancer metastasis by altering host microenvironment. *Oncotarget* 2017; 8(37): 62803–62815. doi: 0.18632/oncotarget.19119.
32. Rana S, Yue S, Stadel D et al. Toward tailored exosomes: The exosomal tetraspanin web contributes to target cell selection. *International J Biochem Cell Biol* 2012; 44(9): 1574–1584. doi: 0.1016/j.biocel.2012.06.018.
33. Shevtsov M, Multhoff G. Heat shock protein-peptide and HSP-based immunotherapies for the treatment of cancer. *Front Immunol* 2016; 7: 171. doi: 0.3389/fimmu.2016.00171.
34. Murshid A, Gong J, Calderwood SK. The role of heat shock proteins in antigen cross presentation. *Front Immunol* 2012; 3: 63. doi: 0.3389/fimmu.2012.00063.
35. Le NQK, Ho QT, Ou YY. Classifying the molecular functions of Rab GTPases in membrane trafficking using deep convolutional neural networks. *Anal Biochem* 2018; 555: 33–41. doi: 0.1016/j.jab.2018.06.011.
36. Subra C, Grand D, Laulagnier K et al. Exosomes account for vesicle-mediated transcellular transport of activatable phospholipases and prostaglandins. *J Lipid Res* 2010; 51(8): 2105–2120. doi: 0.1194/jlr.M003657.
37. Durcin M, Fleury A, Taillebois E et al. Characterisation of adipocyte-derived extracellular vesicle subtypes identifies distinct protein and lipid signatures for large and small extracellular vesicles. [online]. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/20013078.2017.1305677>.
38. Chapuy-Regaud S, Dubois M, Plisson-Chastang C et al. Characterization of the lipid envelope of exosome encapsulated HEV particles protected from the immune response. *Biochimie* 2017; 141: 70–79. doi: 0.1016/j.biuchi.2017.05.003.
39. Lorente A, Skotland T, Sylvänne S et al. Molecular lipidomics of exosomes released by PC-3 prostate cancer cells. *Biochimica et Biophysica Acta* 2013; 1831(7): 1302–1309. doi: 0.1016/j.bbali.2013.04.011.
40. Lorente A, van Deurs B, Sandvig K. Cholesterol regulates prostatesome release from secretory lysosomes in PC-3 human prostate cancer cells. *Eur J Cell Biol* 2007; 86(7): 405–415. doi: 0.1016/j.ejcb.2007.05.001.
41. Valadi Hadi, Ekström K, Bossios A et al. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat Cell Biol* 2007; 9(6): 654–659. doi: 0.1038/ncb1596.
42. Villarroya-Beltri C, Gutiérrez-Vázquez C, Sánchez-Cabo F et al. Sumoylated hnRNP A2B1 controls the sorting of miRNAs into exosomes through binding to specific motifs. *Nat Commun* 2013; 4(1): 1–10. doi: 0.1038/ncomms3980.
43. Holohan C, van Schaeuybroeck S, Longley DB et al. Cancer drug resistance: An Evolving paradigm. *Nat Rev Cancer* 2013; 13(10): 714–726. doi: 0.1038/nrc3599.
44. Ullah MF. Cancer multidrug resistance (MDR): a major impediment to effective chemotherapy. *Asian Pac J Cancer Prev* 2008; 9(1): 1–6.
45. Leonard GD, Fojo T, Bates SE. The role of ABC transporters in clinical practice. *Oncologist* 2003; 8(5): 411–424. doi: 0.1634/theoncologist.8-5-411.
46. Nanayakkara AK, Follit CA, Chen G et al. Targeted inhibitors of P-glycoprotein increase chemotherapeutic-induced mortality of multidrug resistant tumor cells. *Sci Rep* 2018; 8(1): 1–18. doi: 0.1038/s41598-018-19325-x.
47. Bebaby M, Combes V, Lee E et al. Membrane micro-particles mediate transfer of P-glycoprotein to drug sensitive cancer cells. *Leukemia* 2009; 23(9): 1643–1649. doi: 0.1038/leu.2009.76.
48. Levchenko A, Mehta BM, Niu X et al. Intercellular transfer of P-glycoprotein mediates acquired multidrug resistance in tumor cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102(6): 1933–1938. doi: 0.1073/pnas.0401851102.
49. Corcoran C, Rani S, O'brien K et al. Docetaxel-Resistance in Prostate Cancer: Evaluating Associated Phenotypic Changes and potential for resistance transfer via exosomes. *PLoS ONE* 2012; 7(12): doi: 0.1371/journal.pone.0050999.
50. Lv M, Zhu X, Chen W et al. Exosomes mediate drug resistance transfer in MCF-7 breast cancer cells and a probable mechanism is delivery of P-glycoprotein. *Tumor Biol* 2014; 35(11): 10773–10779. doi: 0.1007/s13277-014-2377-z.
51. Santos JC, Lima NS, Sarian LO et al. Exosome-mediated breast cancer chemoresistance via miR-155 transfer. *Sci Rep* 2018; 8(1): 1–11. doi: 0.1038/s41598-018-19339-5.
52. Lee G, Hall RR, Ahmed AU. Cancer stem cells: cellular plasticity, niche, and its clinical relevance. *J Stem Cell Res Ther* 2016; 6(10): doi: 0.4172/2157-7633.1000363.
53. Crow J, Atay S, Banskota S et al. Exosomes as mediators of platinum resistance in ovarian cancer. *Oncotarget* 2017; 8(7): 11917–11936. doi: 0.18632/oncotarget.14440.
54. Wang M, Qiu R, Yu S et al. Paclitaxel-resistant gastric cancer MGC-803 cells promote epithelial-to-mesenchymal transition and chemoresistance in paclitaxel-sensitive cells via exosomal delivery of miR-155-5p. *Int J Oncol* 2019; 54(1): 326–338. doi: 0.3892/ijo.2018.4601.
55. Vergani E, di Guardo L, Dugo M et al. Overcoming melanoma resistance to vemurafenib by targeting CCL2-induced miR-34a, miR-100 and miR-125b. *Oncotarget* 2015; 7(4): 4428–4441. doi: 0.18632/oncotarget.6599.
56. Dong H, Wang W, Chen R et al. Exosome-mediated transfer of lncRNA-SNHG14 promotes trastuzumab chemoresistance in breast cancer. *Int J Oncol* 2018; 53(3): 1013–1026. doi: 0.3892/ijo.2018.4467.
57. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; 100(1): 57–70. doi: 0.1016/S0092-8674(00)81683-9.
58. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of Ccancer: The next generation. *Cell* 2011; 144(5): 646–674. doi: 0.1016/j.cell.2011.02.013.
59. Fouad YA, Aanei C. Revisiting the hallmarks of cancer. *Am J Cancer Res* 2017; 7(5): 1016–1036.
60. Riches A, Campbell E, Borger E et al. Regulation of exosome release from mammary epithelial and breast cancer cells – a new regulatory pathway. *Eur J Cancer* 2014; 50(5): 1025–1034. doi: 0.1016/j.ejca.2013.12.019.
61. Rackov G, Garcia-Romero N, Esteban-Rubio S et al. Vesicle-mediated control of cell function: The

role of extracellular matrix and microenvironment. *Front Physiol* 2018; 9: 651. doi: 0.3389/fphys.2018.00651.

62. Chen Z, Yang L, Cui Y et al. Cytoskeleton-centric protein transportation by exosomes transforms tumor-favorable macrophages. *Oncotarget* 2016; 7(41): 67387–67402. doi: 0.18632/oncotarget.11794.

63. Steidl C, Lee T, Shah SP et al. Tumor-associated macrophages and survival in classic Hodgkin's lymphoma. *New Engl J Med* 2010; 362(10): 875–885. doi: 0.1056/NEJMoa0905680

64. Kalluri R, Lebleu VS. The biology, function, and biomedical applications of exosomes. [online]. Available from: <https://science.sciencemag.org/content/367/6478/eaau6977>.

65. Raposo G, Nijman HW, Stoorvogel W et al. B lymphocytes secrete antigen-presenting vesicles. *J Exp Med* 1996; 183(3): 1161–1172. doi: 0.1084/jem.183.3.1161.

66. Guo BB, Bellingham SA, Hill AF. Stimulating the release of exosomes increases the intercellular transfer of prions. *J Biol Chem* 2016; 291(10): 5128–5137. doi: 0.1074/jbc.M115.684258.

67. Ristorcelli E, Beraud E, Verrando P et al. Human tumor nanoparticles induce apoptosis of pancreatic cancer cells. *FASEB J* 2008; 22(9): 3358–3369. doi: 0.1096/fj.07-102855.

68. Zhang Y, Luo CL, He BC et al. Exosomes derived from IL-12-anchored renal cancer cells increase induction of specific antitumor response in vitro: A novel vaccine for renal cell carcinoma. *Int J Oncol* 2010; 36(1): 133–140. doi: 0.3892/ijo\_00000484.

69. Rajagopal C, Harikumar KB. The origin and functions of exosomes in cancer. *Front Oncol* 2018; 8: 66. doi: 0.3389/fonc.2018.00066.

# Nemoc těžkých řetězců imunoglobulinu gama

## Gamma-heavy chain disease

Kušnierová P.<sup>1,2</sup>, Zeman D.<sup>1,2</sup>, Jelínek T.<sup>3</sup>, Hájek R.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Ústav laboratorní diagnostiky, Oddělení klinické biochemie, FN Ostrava

<sup>2</sup> Katedra biomedicínských oborů, LF OU, Ostrava

<sup>3</sup> Hematoonkologická klinika FN a LF OU, Ostrava

### Souhrn

**Úvod:** Nemoc těžkých řetězců gama je vzácné onemocnění dosud popsané přibližně u 150 případů. Cílem práce byla laboratorní diagnostika nemoci těžkých řetězců imunoglobulinu. **Materiál a metody:** Do FN Ostrava byl referován 60letý pacient pro suspektní lymfom marginální zóny z biopsie žaludku. U pacienta byla doplněna stagingová vyšetření vč. trepanobiopsie kostní dřeně a PET/CT. Ze speciálních vyšetření byla požadována elektroforéza sérových proteinů, imunofixační elektroforéza, stanovení polyklonálních imunoglobulinů, volných lehkých řetězců a párů těžkých/lehkých řetězců imunoglobulinů. Z důvodu nejasného nálezu byla doplněna izoelektrická fokusace v agarózovém gelu s následným afinitním imunoblottingem a SDS elektroforéza. **Výsledky:** V kostní dřeni bylo nalezeno 0,1 % plazmatických buněk, z toho 87 % klonálních (patologických) plazmocytů, s následujícím imunofenotypem: cyt LAMBDA+ CD38+ CD138+ CD45+ CD19+ CD56- CD27+ CD81- CD117-. V séru pacienta byly nalezeny monoklonální těžké řetězce gama. V moči monoklonální těžké ani lehké řetězce imunoglobulinu detekovány nebyly. PET/CT vyšetření prokázalo generalizovanou lymfadenopatii, splenomegaliu a nehomogenní akumulaci fluorodeoxyglukózy v axilárním i apendikulárním skeletu, nicméně bez přítomnosti typických osteolytických ložisek. **Závěr:** Monoklonální těžké řetězce imunoglobulinů jsou vzácným onemocněním. Pro jejich potvrzení je nutné použít na rozdíl od průkazu kompletní molekuly paraproteinu další pomocné metody. Nález monoklonálního těžkého řetězce gama v séru studovaného pacienta souvisí s přítomností lymfomu marginální zóny, který byl prokázán z biopsie žaludku.

### Klíčová slova

nemoc těžkých řetězců imunoglobulinu – elektroforéza – imunofixační elektroforéza – izoelektrická fokusace – SDS elektroforéza

### Summary

**Background:** Gamma-heavy chain disease is a rare disease, described so far in approximately 150 cases. The aim of this work was laboratory diagnostics of immunoglobulin heavy chain disease. **Materials and methods:** A 60-year-old patient was referred to the University Hospital in Ostrava for suspected marginal zone lymphoma from gastric biopsy. Staging examinations including bone marrow trepanobiopsy and PET/CT were added; special examinations required serum protein electrophoresis, immunofixation electrophoresis, determination of polyclonal immunoglobulins, free light chains, and immunoglobulin heavy/light chain pairs. Isoelectric focusing in agarose gel followed by affinity immunoblotting and SDS electrophoresis was added due to unclear findings. **Results:** 0.1 % of plasma cells were found in the bone marrow, of which 87 % were clonal (pathological) plasma cells, followed by the cyt cytotype LAMBDA + CD38 + CD138 + CD45 + CD19 + CD56- CD27 + CD81- CD117-. Monoclonal heavy chains were found in the patient's serum. No monoclonal immunoglobulin heavy or light chains were detected in urine. The PET/CT examination showed generalized lymphadenopathy, splenomegaly and inhomogeneous accumulation of fluorodeoxyglucose in axillary and appendicular skeleton, but without the presence of typical osteolytic lesions. **Conclusion:** Monoclonal heavy chains of immunoglobulins are a rare disease. In contrast to the detection of a complete paraprotein molecule, additional methods must be used to confirm them. The finding of monoclonal heavy chain gamma in the serum of the study patient is related to the presence of marginal zone lymphoma, which was proven from a gastric biopsy.

### Key words

heavy chain disease – electrophoresis – immunofixation electrophoresis – isoelectric focusing – SDS electrophoresis

Studie byla podpořena projektem MZ ČR – RVO – FNOs /2017 (Biobanka ve Fakultní nemocnici Ostrava).

The study was supported by the project of MH CZ – DRO – FNOs /2017 (Biobank in Teaching Hospital Ostrava)

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.



RNDr. Pavlína Kušnierová, Ph.D.  
Oddělení klinické biochemie,  
Ústav laboratorní diagnostiky  
Fakultní nemocnice Ostrava  
17. listopadu 1790/5  
708 52 Ostrava-Poruba  
e-mail: pavlina.kusnierova@fno.cz

Obdrženo/Submitted: 27. 2. 2020

Přijato/Accepted: 26. 4. 2020

doi: 10.14735/amko2020280



## Úvod

Nemoc těžkých řetězců imunoglobulinu (heavy chain disease – HCD) patří mezi vzácné B-buněčné lymfoproliferativní poruchy charakterizované produkcí strukturálně abnormálního monoklonálního imunoglobulinového těžkého řetězce postrádajícího vazebná místa lehkého řetězce, v důsledku čehož dochází k vytvoření neúplné molekuly imunoglobulinu bez odpovídajícího lehkého řetězce [1,2]. Toto onemocnění bylo poprvé popsáno Franklinem et al. v roce 1964 u pacienta s přítomností monoklonálních těžkých řetězců gama v séru a v moči [3]. Od té doby bylo popsáno přibližně u 150 případů nemocných. Klinické příznaky gama-HCD jsou heterogenní, připomínající lymfom marginální zóny, plazmocytom, lymfoplazmocytární lymfom a chronickou lymfocytární leukemii a většina pacientů s touto poruchou má generalizované a progresivní onemocnění [4–6]. Někteří pacienti s gama-HCD mají autoimunitní onemocnění, nejčastěji revmatoidní artritidu nebo systémový lupus erythematoses. Onemocnění je jako samostatné nebo indolentní velmi výjimečné [6–8]. V našem souboru 470 hematookolo-

gických pacientů s prokázanou monoklonální gamapatií se jednalo o první případ podezření na nemoc těžkých řetězců imunoglobulinu. Cílem práce bylo u studovaného pacienta prokázat těžký řetězec imunoglobulinu vhodnou laboratorní metodou.

## Metodika

Muž, 60 let, byl odeslán z hematologické ambulance okresní nemocnice k došetření na Hematoonkologickou kliniku FN Ostrava (FNO) pro suspektní lymfom marginální zóny / extramedulární plazmocytom z biopsie žaludku. Pacient byl primárně vyšetřen v okresní nemocnici s hodnotami hemoglobinu 94 g/l a následně zaléčen přípravky železa. Současně bylo zahájeno sledování pro monoklonální gamapatii nejistého významu (monoclonal gammopathy with undetermined significance – MGUS) z důvodu prokázaného paraproteinu IgG kappa o koncentraci 7 g/l, ale bez prokázaných osteolytických ložisek. V květnu 2019 mu byla provedena biopsie žaludku a střev s podezřením na extramedulární plazmocytom, popř. B-lymfom z marginální zóny (výsledky biopsie sliznice střeva:

plazmatické buňky CD31+ CD56–, lymfocyty B CD20+ a T CD3+). Od června 2019 byl v péči Hematoonkologické kliniky FNO, kde současně podepsal informovaný souhlas schválený etickou komisí FNO. Bylo doplněno vyšetření kostní dřeně a PET/CT vyšetření. Z dalších laboratorních testů byly sledovány parametry krevního obrazu na automatickém analyzátoru Sysmex XN-9000 (Sysmex Co., Kobe, Japan), biochemické a imunologické parametry na analyzátoch AU 5800 a UniCel Dxl 8006 (Beckman Coulter, Inc., Brea, CA, USA), SPA Plus (The Binding Site s.r.o., England), Advia Centaur XPT, Immulite 2000Xpi a BN ProSpec (Siemens Healthcare, s.r.o., Česká republika). K průkazu monoklonálního imunoglobulinu byla použita standardní elektroforéza sérových proteinů (Hydragel 30 Protein  $\beta$ 1- $\beta$ 2, kat. č. S-4141, Hydrasys 2SCAN Focusing, SEBIA) a imunofixační elektroforéza (Hydragel 4IF, kat. č. S-4804, Hydrasys 2SCAN Focusing, SEBIA), doplněné o stanovení polyklonálních imunoglobulinů (N Antisera to Human Immunoglobulins IgG, IgA and IgM, kat. č. OSAS, OSAR, OSAT, BN ProSpec, Siemens), stanovení volných lehkých řetězců (Freelite Kappa SPA PLUS kit, kat. č. LK016.L.S; Freelite Lambda

**Tab. 1. Laboratorní výsledky. Hodnoty krevního obrazu byly získány na analyzátoru Sysmex XN-9000<sup>1</sup>, další biochemické a imunologické parametry na analyzátoch AU 5800<sup>2</sup>, SPA Plus<sup>3</sup>, Advia Centaur XPT<sup>4</sup>, Immulite 2000Xpi<sup>5</sup>, UniCel Dxl 800<sup>6</sup> a BN ProSpec<sup>7</sup> v červnu 2019.**

Hematologické parametry		Biochemické parametry			
Metoda	Výsledek	Metoda	Výsledek	Metoda	Výsledek
bílé krvinky <sup>1</sup>	7,47 × 10 <sup>9</sup> /l	urea <sup>2</sup>	7,0 mmol/l	IgG <sup>7</sup>	18,50 g/l
červené krvinky <sup>1</sup>	4,0 × 10 <sup>12</sup> /l	krea <sup>2</sup>	124 $\mu$ mol/l	IgM <sup>7</sup>	0,35 g/l
hemoglobin <sup>1</sup>	105 g/l	eGFR	0,92 ml/s	NT-proBNP <sup>4</sup>	404,0 ng/l
objem červených krvinek <sup>1</sup>	83 fl	Ca <sup>2</sup>	2,39 mmol/l	monoklon. IgG	6,14 g/l
množství hemoglobinu v buňce <sup>1</sup>	27 pg	feritin <sup>5</sup>	85,0 $\mu$ g/l	FLC kappa <sup>3</sup>	
trombocyty <sup>1</sup>	184 × 10 <sup>9</sup> /l	vitamin B12 <sup>6</sup>	99 pmol/l	FLC lambda <sup>3</sup>	46 mg/l
segmenty <sup>1</sup>	78,3 %	folát <sup>6</sup>	17,5 nmol/l	FLC kappa <sup>3</sup>	158,64 mg/l
lymfocyty <sup>1</sup>	10,4 %	CB <sup>2</sup>	66,7 g/l	FLC poměr	0,30
monocyty <sup>1</sup>	3,9 %	albumin <sup>2</sup>	45 g/l	HLC IgG kappa <sup>3</sup>	1,32 g/l
eozinofily <sup>1</sup>	7,1 %	$\beta$ 2-M <sup>3</sup>	10,56 mg/l	HLC IgG lambda <sup>3</sup>	0,42 g/l
bazofily <sup>1</sup>	0,3 %	IgA <sup>7</sup>	0,56 g/l	HLC IgG poměr	3,14 g/l

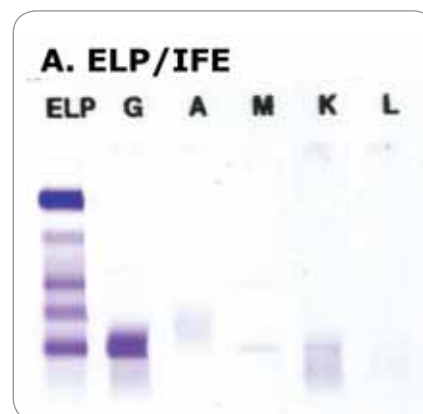
$\beta$ 2-M –  $\beta$ 2-mikroglobulin, CB – celková bílkovina, FLC – volné lehké řetězce, HLC – těžké/lehké řetězce, NT-proBNP – N-terminální prohormon natriuretického peptidu B

SPA PLUS kit, kat. č. LK018.L.S, The Binding Site Ltd.) a párů těžkých/lehkých řetězců imunoglobulinů (Hevylite Human IgG Kappa Kit, REF NK621.S, Hevylite Human IgG Lambda Kit, REF NK622.S, Hevylite Human IgA Kappa Kit, REF NK623.S, Hevylite Human IgA Lambda Kit, REF NK624.S, Hevylite Human IgM Kappa Kit, REF NK625.S and Hevylite Human IgM Lambda Kit, REF NK626.S). Z důvodu nálezu anomálního gradientu pouze v zóně těžkých řetězců gama bez korelátu v zóně lehkých řetězců byla doplněna izoelektrická fokusace v agarózovém gelu s následným afinitním imunoblottingem s protilátkami proti těžkým řetězcům gama, lehkým řetězcům kappa a lambda (IEF/AIB, modifikovaná in-house metoda C. J. Sindica) [9]. Pro další potvrzení byla použita SDS elektroforéza za použití gelů ElphoGel SDS Kit 12,5 %, 25S, EQ-type (REF edc-4202, Electrophoresis Development & Consulting, Germany) na přístroji Flatbed Professional (Electrophoresis Development & Consulting).

### Výsledky

Při vyšetření kostní dřeně bylo nalezeno 0,1 % plazmatických buněk, z toho 87 % klonálních (patologických) plazmocytů s následujícím imunofenotypem: cyt LAMBDA+ CD38+ CD138+ CD45+ CD19+ CD56- CD27+ CD81- CD117-, bez průkazu klonálních B-lymfocytů. V srpnu 2019 bylo provedeno PET/CT vyšetření s nálezem povšechné lymfadenopatie (některé lymfatické uzliny (LU) s akumulací fluorodeoxyglukózy (FDG) nad úroveň parenchymu jater), nehomogenně zvýšené akumulace FDG v kostní dřeni axiálního a apendikulárního skeletu s několika fokusy hyperakumulace FDG, nález byl velmi suspektní z maligní infiltrace. Případ byl uzavřen jako nemoc těžkých řetězců gama doprovázející lymfom marginální zóny diagnostikovaný z biopsie žaludku. Vzhledem k indolenci nemoci nebyla zahájena léčba, pouze „watch and wait“ strategie. Laboratorní výsledky, hodnoty krevního obrazu a dalších biochemických a imunologických parametrů jsou uvedeny v tab. 1. Elektroforéza sérových proteinů prokázala anomální gradient v gama-migrační zóně o koncentraci 6,14 g/l, následná imunofixační elektroforéza potvrdila nález ano-

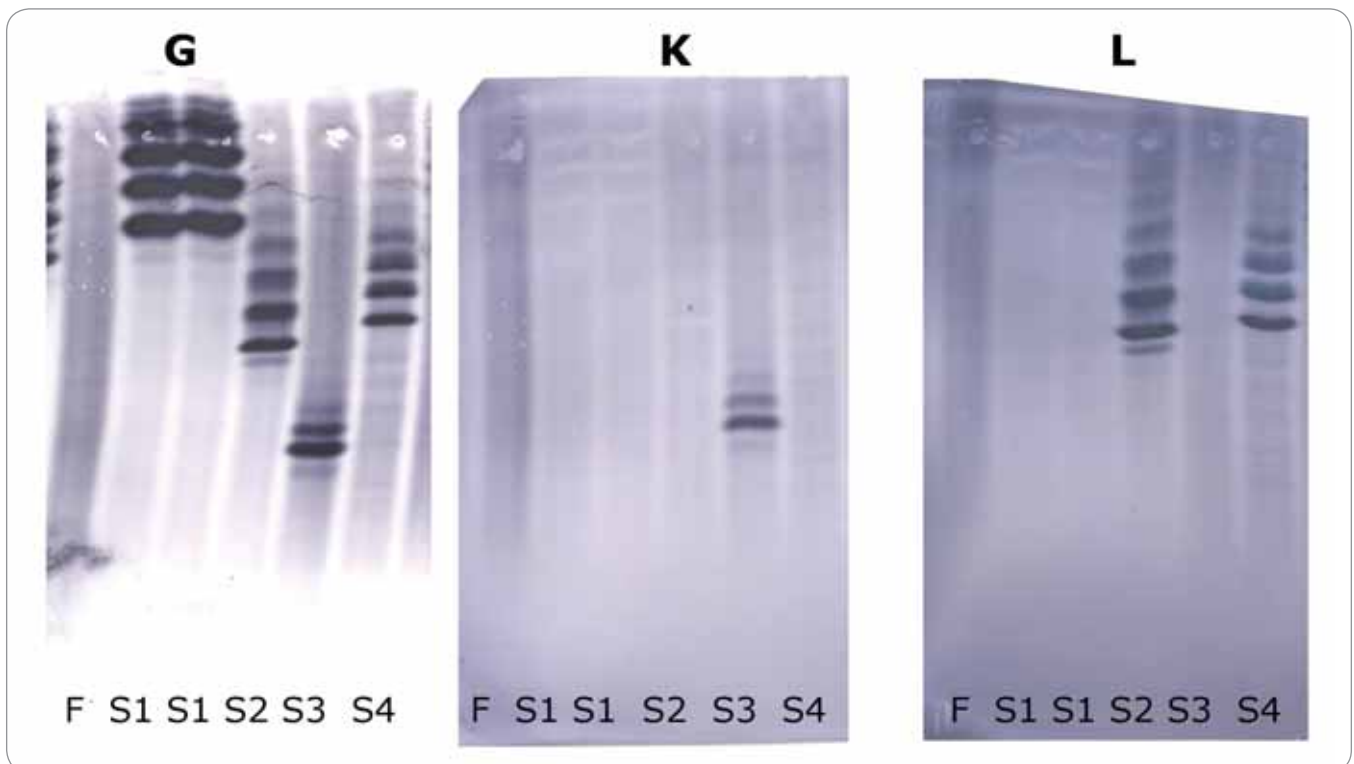
málního gradientu tvořeného pouze těžkými řetězci gama, čímž nález z okresní nemocnice, průkaz kompletní molekuly monoklonálního IgG kappa, vyvrátila (obr. 1). Po kontaktování příslušné laboratoře bylo zjištěno, že i jejich nález na elektroforéze a imunofixační elektroforéze, s průkazem výrazného anomálního gradientu v zóně těžkých řetězců gama a slabého gradientu v zóně lehkých řetězců kappa, spíše odpovídá monoklonálním těžkým řetězcům gama, ale z důvodu pochybnosti byl výsledek interpretován jako nález monoklonálního IgG kappa. Po tomto upřesnění byla provedena izoelektrická fokusace s následným afinitním imunoglobulinem s protilátkami proti těžkému řetězci gama, lehkým řetězcům kappa a lambda (obr. 2). Na obrázku lze pozorovat nález monoklonálních proužků pouze na membráně s protilátkami anti-gama, reakce s protilátkami proti volným lehkým řetězcům kappa a lambda byly negativní. Výsledky tedy nasvědčovaly přítomnosti pouze těžkých řetězců gama. Pro další potvrzení byla použita SDS elektroforéza, která umožňuje rozlišit molekuly dle molekulové hmotnosti (obr. 3). Výstupem byl nález řetězce gama, resp. zřejmě jen jeho části: pozorovaný proužek migroval o něco pomaleji než dimer volných lehkých řetězců, ale nepatrně rychleji než monomer volných lehkých řetězců. Domníváme se proto, že paraprotein je nejspíše tvořen dvěma fragmenty gama řetězce (H2, zkrácený – truncated), a to jeho Fc části (proti níž je namířena použitá protilátka), alternativně by to mohl být s menší pravděpodobností jediný gama řetězec (H1). Současně, na membráně inkubované s protilátkou proti volným i vázaným lehkým řetězcům kappa je slabý, ale jasný (na scanu neviditelný) proužek v zóně odpovídající monomeru lehkých řetězců kappa; domníváme se, že jde o minoritní free kappa komponentu přináležející k stopovému monoklonálnímu IgM kappa, který byl u pacienta na imunofixaci také prokázán.



Obr. 1. Výsledek imunofixační elektroforézy s průkazem monoklonálního těžkého řetězce gama a stopového monoklonálního IgM kappa.

### Diskuze

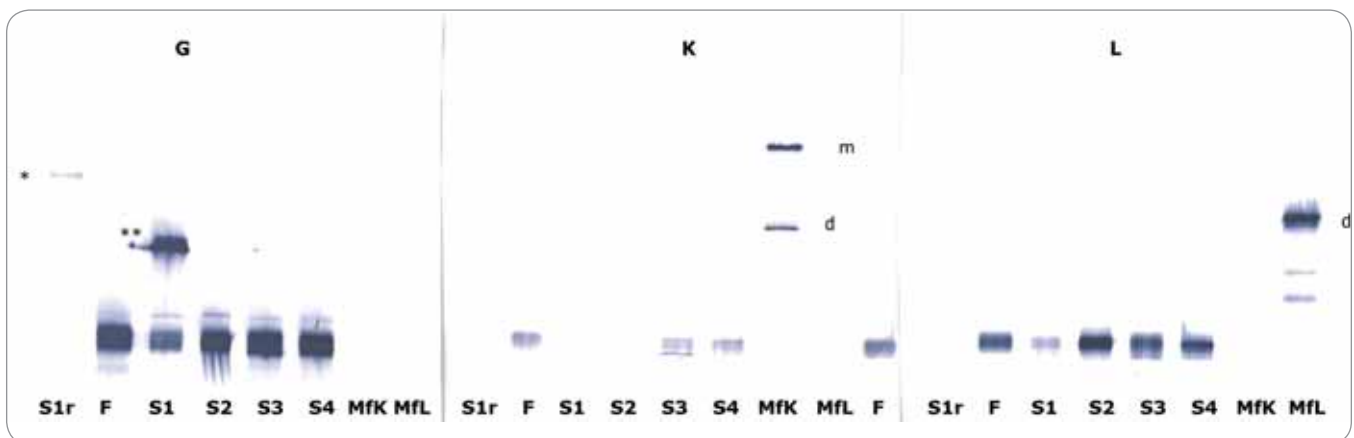
Nemoc těžkých řetězců imunoglobulinu gama je velmi vzácné B-lymfoproliferativní generalizované onemocnění zahrnující lymfatické uzliny, Waldeyerův okruh, gastrointestinální trakt, kostní dřeň, játra, slezinu a periferní krev a je často spojováno s autoimunitním onemocněním. K průkazu monoklonálních těžkých řetězců imunoglobulinů se standardně používá elektroforéza sérových proteinů doplněná o imunofixační vyšetření. Nález gradientu v zóně těžkých řetězců bez protějšku v zónách lehkých řetězců je vhodné vždy opakovat k vyloučení technické chyby. Jako doplňující vyšetření může sloužit stanovení polyklonálních imunoglobulinů turbidimetricky či nefelometricky, stejně tak jako stanovení volných lehkých řetězců a párů těžkých/lehkých řetězců imunoglobulinu, Hevylite (heavy/light chain – HLC). Tyto testy jsou cíleny na junkční epitopy, které pokrývají imunoglobulinové těžké a lehké řetězce; z toho plyne, že v případě monoklonálního proteinu tvořeného pouze těžkými řetězci není tato molekula HLC testy rozpoznána. V našem případě byla celková koncentrace polyklonálního IgG rovna 18,5 g/l, koncentrace Hevylite IgG kappa 1,32 g/l a koncentrace Hevylite IgG lambda 0,42 g/l. Z toho vyplývá, že koncentrace IgG stanoveného testy Hevylite představovala 9,4 % celkového IgG stanoveného nefelometricky. To ukazuje, že 90,6 % IgG nemá asociovaný lehký



Obr. 2. Výsledky detekce těžkých řetězců imunoglobulinu gama (G), lehkých řetězců imunoglobulinu kappa (K) a lambda (L) pomocí izoelektrické fokuse s následným afinitním imunoblottingem.

F – intravenózní preparát IgG (Flebogamma, Instituto Griffols, Barcelona, Španělsko), S1 – náš pacient, S2 a S4 – vzorky séra s monoklonálním IgG lambda, S3 – vzorek séra s monoklonálním IgG kappa.

V S1 lze nalézt pouze monoklonální pásy těžkého řetězce gama, lehké řetězce kappa a lambda jsou negativní. Výsledky naznačují pouze přítomnost těžkého řetězce gama. Pro další potvrzení jsme použili SDS elektroforézu (umožňuje rozlišit molekuly podle molekulové hmotnosti).



Obr. 3. Výsledky SDS elektroforézy následované blotováním na nitrocelulózovou membránu a imunodetekcí těžkých řetězců imunoglobulinu gama (G), lehkých řetězců kappa (K) a lambda (L). Anoda je nahoře. Kromě pruhu v S1r (vzorek redukováný dithiotreitol) byly použity neredukční podmínky. Abnormální fragment řetězce gama migruje mírně pomaleji než fLC monomer v redukováném vzorku (\*) a je mírně pomalejší než FLC dimer v neredukovaném vzorku (\*\*), současně zřetelně rychleji než monomery IgG (dole), které nereagovaly ani s jednou protilátkou proti lehkému řetězci kappa nebo lambda. Ve srovnání s pozicemi monomerů a dimerů fLC (MfK a MfL) a transferinu (v jiném experimentu, nevedeno) je odhadovaná molekulová hmotnost fragmentu mezi 50 a 70 kDa.

FLC – volný lehký řetězec, m – monomer, d – dimer, MfK a MfL – monoklonální volné řetězce kappa a lambda, S1 – náš pacient, S2 – vzorky séra s monoklonálním IgG lambda, S3 – vzorek séra s monoklonálním IgG kappa.

Porovnáním chování redukováného vs. neredukovaného vzorku se domníváme, že paraprotein se bude pravděpodobně sestávat ze dvou fragmentů řetězce gama (H2, zkrácený), jeho Fc části (proti které je protilátka namířena) spíše než z jednoduchého řetězce gama (H1).

řetězec. Odečtení koncentrací HLC IgG kappa + HLC IgG lambda z celkového IgG je nepřímým měřítkem monoklonálního těžkého řetězce produkovaného nádorem. Vztah mezi koncentrací těžkého řetězce gama stanoveného turbidimetrickým testem (diagnostické soupravy Hevylite na analyzátoru SPAPLUS) byl porovnán s koncentrací stanovenou pomocí elektroforézy sérových proteinů. Koncentrace monoklonálního proteinu stanovená turbidimetricky byla přibližně 2,7krát vyšší než hodnota stanovená pomocí elektroforézy sérových proteinů. Toto nadhodnocení může být v důsledku využití odlišného složení kalibrátoru s monoklonálním fragmentem těžkého řetězce. Podobně i Kaleta et al. [10] hodnotili použití IgG Hevylite testů u 15 pacientů s gama-HCD a došli k podobným výsledkům, koncentrace monoklonálního proteinu stanovená nefelometricky byla přibližně 2x vyšší než hodnota stanovená pomocí elektroforézy sérových proteinů.

Stejnou problematikou se zabývali i Deighan et al. [11], kteří u pacienta s mnohočetným myelomem prokázali trojitou monoklonální gamapatií tvořenou paraproteinem IgG kappa, volnými lehkými řetězci kappa a těžkým řetězcem gama. Pacienta monitorovali kombinací elektroforézy sérových proteinů, měřením koncentrace volných lehkých řetězců pomocí diagnostických souprav Freelite a Hevylite testů (The Binding Site). Autoři zdůrazňují nutnost myslet při monitorování pacientů s mnohočetným myelomem na riziko chybné interpretace či dokonce úniku informace o přítomných monoklonálních volných lehkých či těžkých řetězcích imunoglobulinů.

Tichý et al. [12] prokázali monoklonální těžké řetězce mí v séru pacienta imunofixační elektroforézou a imunotypizací při kapilární elektroforéze na přístroji Capillarys. Koncentrace paraproteinu tvořeného těžkými řetězci mí byla 34,9 g/l. Jako pomocnou metodu k určení molekulární hmotnosti těžkého řetězce imunoglobulinu využili vysokorozlišovací dvojrozměrnou elektroforézu. Molekulární hmotnost byla 53 kDa. Tato hodnota odpovídala dimérům těžkých řetězců mí.

Také Zushi et al. [13] studovali pacienta, který byl hospitalizován kvůli

oboustrannému subunguálnímu krvácení na palcích nohou. Výsledky fyzikálních a laboratorních vyšetření byly nespecifické a krvácení bylo vyhodnoceno jako traumatické. Sérová elektroforéza a imunofixační prokázaly malý monoklonální gradient tvořený pouze těžkými řetězci gama bez odpovídajícího korelátu v zóně lehkých řetězců. Definitivní diagnóza, nemoc těžkých řetězců gama, byla stanovena až na základě průtokové cytometrie, která v aspirátu kostní dřeně prokázala malý počet lymfoplazmatických buněk, které byly pozitivní na CD19, CD38, CD138 a cylgG, ale negativní na lehké řetězce cy kappa a lambda.

Další separační technologii využitelnou pro průkaz monoklonálních těžkých řetězců popsali Thoren et al. [14]. U pacienta s imunofixačně prokázaným monoklonálním těžkým řetězcem gama použili hmotnostní spektrometrii MALDI-TOF. Po purifikaci specifické pro IgG odhalili ve spektru velké píky, jejichž m/z hodnoty byly mimo očekávané rozmezí jak pro normální těžké, tak lehké řetězce. Naopak odpovídající píky nebyly přítomny v hmotnostních spektrech po purifikacích specifických pro kappa nebo lambda řetězce. MS MALDI-TOF technologie potvrdila přítomnost monoklonálního těžkého řetězce bez přidružených lehkých řetězců u pacienta s monoklonální gamapatií.

Relativně jednoduchou metodou, která umožňuje prokázat abnormální molekulovou hmotnost těžkého řetězce, je SDS elektroforéza doplněná imunodetekcí. V našem případě jsme molekulovou hmotnost odhadli srovnáním rychlosti migrace paraproteinu s monomery a dimery volných lehkých řetězců (22,5 a 45 kDa) a transferinu (80 kDa); optimální je samozřejmě srovnání se sadou standardů o známých molekulových hmotnostech, kterými jsme však v aktuální situaci neměli k dispozici.

### Závěr

Nemoc těžkých řetězců je vzácným onemocněním. Na jejich přítomnost poukazuje v imunofixační elektroforéze náleží gradientu v zóně těžkých řetězců bez korelátu v zónách lehkých řetězců. Pro jejich potvrzení je nutné použít na rozdíl

od průkazu kompletní molekuly paraproteinu další pomocné metody / separační technologie, ať už SDS elektroforézu, vysokorozlišovací dvojrozměrnou elektroforézu nebo hmotnostní spektrometrii. Nález monoklonálního těžkého řetězce gama v séru studovaného pacienta souvisí s přítomností lymfomu marginální zóny, který byl prokázán z biopsie žaludku.

### Literatura

- Kyle RA. The monoclonal gammopathies. *Clin Chem* 1994; 40(11): 2154–2161.
- Seligmann M. Heavy chain disease. In: Multiple myeloma and other paraproteinemias. Edinburgh: Churchill Livingstone 1986: 263–285.
- Franklin EC. Structural studies of human 7S gamma-globulin (G immunoglobulin): further observations of a naturally occurring protein related to the crystallizable (fast) fragment. *J Exp Med* 1964; 120(1): 691–709. doi: 10.1084/jem.120.5.691.
- Tsunemine H, Zushi Y, Sasaki M et al. Gamma heavy chain disease ( $\gamma$ -HCD) as iatrogenic immunodeficiency-associated lymphoproliferative disorder: Possible emergent subtype of rheumatoid arthritis-associated  $\gamma$ -HCD. *J Clin Exp Hematop* 2019; 59(4): 196–201. doi: 10.3960/jslrt.19025.
- Cook JR, Harris NL, Isaacson PG et al. Heavy chain diseases. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. 4th ed, Lyon, IARC, World Health Organization 2017: 237–240.
- Wahner-Roedler DL, Witzig TE, Loehrer LL et al. Gamma-heavy chain disease: review of 23 cases. *Medicine (Baltimore)* 2003; 82(4): 236–250. doi: 10.1097/01.md.00000805058.63483.7f.
- Fernand JP, Brouet JC, Danon F et al. Gamma heavy chain „disease”: heterogeneity of the clinicopathologic features. Report of 16 cases and review of the literature. *Medicine (Baltimore)* 1989; 68(6): 321–335.
- Husby G, Blichfeldt P, Brinch L et al. Chronic arthritis and gamma heavy chain disease: coincidence or pathogenic link? *Scand J Rheumatol* 1998; 27(4): 257–264.
- Zeman D, Kušnierová P, Bojková J et al. Quantitation of IgG kappa and IgG lambda in the cerebrospinal fluid by sandwich ELISA method. *J Immunoassay Immunochem* 2017; 38(2): 165–177. doi: 10.1080/15321819.2016.1233889.
- Kaleta E, Kyle R, Clark R et al. Analysis of patients with  $\gamma$ -heavy chain disease by the heavy/light chain and free light chain assays. *Clin Chem Lab Med* 2014; 52(5): 665–669. doi: 10.1515/cclm-2013-0714.
- Deighan WI, O’Kane MJ, McNicholl FP et al. Multiple myeloma and multiple plasmacytomas associated with free gamma heavy chain, free kappa light chain and IgGk paraproteins: an unusual triple gammopathy. *Ann Clin Biochem* 2016; 53(6): 706–711. doi: 10.1177/0004563216646594.
- Tichý M, Maisnar V, Stuchlík J et al. Nemoc z těžkých řetězců  $\mu$ . *Klin Biochem Metab* 2007; 15(36): 78–81.
- Zushi Y, Sasaki M, Saitoh T et al. Gamma-heavy chain monoclonal gammopathy with undetermined significance (MGUS). *J Clin Exp Hematop* 2019; 59(3): 119–123. doi: 10.3960/jslrt.19008.
- Thoren KL, Eveillard M, Chan P et al. Identification of gamma heavy chain disease using MALDI-TOF mass spectrometry. *Clin Biochem* 2020; 77: 57–61. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2019.12.010.

- 1 Účinnost u celé řady méně častých mutací<sup>1</sup>
- 2 Možnost snížení dávky při zachování účinnosti<sup>2-7</sup>
- 3 Účinnost u mozkových metastáz<sup>8</sup>
- 4 Pozitivní vliv na příznaky nádorového onemocnění a kvalitu života<sup>9,10</sup>
- 5 Vyšší účinnost oproti **ERLOTINIBU** u skvamózního karcinomu<sup>7\*</sup>
- 6 Bez omezení následných možností léčby<sup>11-13</sup>
- 7 Delší PFS oproti chemoterapii v 1. linii léčby<sup>4,14</sup>
- 8 Delší OS u del19 oproti chemoterapii<sup>4,12,14-16</sup>
- 9 Ireverzibilní blokáda receptorů rodiny ErbB prokázána ve 2 globálních srovnávacích studiích<sup>4,6,11,12,14,17-20</sup>
- 10 Vyšší účinnost oproti gefitinibu<sup>6\*\*</sup>

# 10 DŮVODŮ PRO GIOTRIF®

TKI PRVNÍ VOLBY

Od 1. 8. 2020 je Giotrif® hrazen i v **indikaci** lokálně pokročilý nebo metastazující **skvamózní NSCLC** po progresi při léčbě chemoterapií na bázi platiny nebo po této terapii<sup>18</sup>

## DŮVOD 5

# GIOTRIF® významně prodloužil OS ve srovnání s TKI 1. generace erlotinibem

u pacientů s neselektovaným skvamózním NSCLC po chemoterapii<sup>7</sup>

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

#### Reference:

1. Yang JC et al. *Lancet Oncol.* 2015;16:830-838. 2. Yang JCH et al. *Ann Oncol.* 2016;27(11):2103-2110. 3. Hirsch V et al. Poster č. 369 prezentovaný na výroční konferenci American Society of Clinical Oncology (ASCO); Chicago, IL, USA; 3. - 7. 6. 2016. 4. Sequist LV et al. *J Clin Oncol.* 2013;31(27):3327-3334. 5. Wu YL et al. *Lancet Oncol.* 2014;15(2):213-222. 6. Park K et al. *Lancet Oncol.* 2016;17(5):577-589. 7. Soria JC et al. *Lancet Oncol.* 2015;16(8):897-907. 8. Schuler M et al. *J Thorac Oncol.* 2016;11(3):380-390. 9. Yang JC et al. *Clin Oncol.* 2013;31(27):3342-3350. 10. Wu et al. Poster prezentovaný na kongresu ESMO; Madrid, Španělsko; 26. - 30. 9. 2014. 11. Paz-Ares L et al. *Annals of Oncology.* 2017; doi:10.1093/annonc/mdw611. 12. Yang JC et al. *Lancet Oncol.* 2015;16(2):141-151. 13. Wu SG et al. *Oncotarget.* 2016; 7(11):12404-12413. 14. Wu YL et al. *Lancet Oncol.* 2014;15(2):213-222. 15. Fukuoka M et al. *J Clin Oncol.* 2011;29:2866-2874. 16. Khosin S et al. *Oncologist.* 2014;19(7):774-779. 17. Solca F et al. *J Pharmacol Exp Ther.* 2012;343(2):342-350. 18. Souhrn údajů o přípravku GIOTRIF® (afatinib), 28. 11. 2019. 19. Souhrn údajů o přípravku IRESSA® (gefitinib), 2019. 20. Souhrn údajů o přípravku TARCEVA® (erlotinib), 2019.

#### Zkrácená informace o přípravku GIOTRIF:

**Název přípravku:** GIOTRIF 20 mg potahované tablety, GIOTRIF 30 mg potahované tablety, GIOTRIF 40 mg potahované tablety, GIOTRIF 50 mg potahované tablety. **Složení:** Jedna potahovaná tableta obsahuje afatinibum 20/30/40/50 mg (ve formě afatinibu dimaleas). **Indikace:** Giotrif je indikován jako monoterapie k léčbě • dospělých pacientů s lokálně pokročilým nebo metastazujícím nemalobuněčným karcinomem plic (NSCLC) s aktivními mutacemi receptoru pro epidermální růstový faktor (EGFR) dosud neléčených EGFR TKI: • dospělých pacientů s lokálně pokročilým nebo metastazujícím NSCLC se skvamózní histologií progredujícím při léčbě chemoterapií na bázi platiny nebo po této terapii. **Dávkování a způsob podání:** Léčba musí být zahájena a dozorována lékařem se zkušeností s protinádorovou léčbou. Před zahájením léčby je třeba určit mutační stav EGFR. Doporučená dávka je 40 mg jednou denně. Přípravek je nutno užívat bez jídla. Jídlo nesmí být konzumováno nejméně 3 hodiny před užitím přípravku a nejméně 1 hodinu po něm. V léčbě je nutno pokračovat až do případné progresie onemocnění nebo do vzniku nesenášenlivosti pacientem. Maximální denní dávka je 50 mg. U pacientů se středně těžkou nebo těžkou poruchou funkce ledvin je expozice afatinibu zvýšena. Sledujte pacienty s těžkou poruchou funkce ledvin a v případě netolerance upravte dávku. **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na afatinib nebo na kteroukoli pomocnou látku. **Zvláštní upozornění:** Během léčby přípravkem Giotrif by hlášen průjem, včetně závažného průjmu. Při průjmu jsou důležitá proaktivní opatření, která zahrnují adekvátní hydrataci s podáváním antidiarotik, zejména v prvních 6 týdnech léčby a je nutno je zahájit již při prvních známkách průjmu. Antidiarotika (například loperamid) je nutno podávat, a pokud je to nezbytné, jejich dávku je třeba zvyšovat až k nejvyšší schválené doporučené dávce. Antidiarotika musí mít pacient pohotově k dispozici tak, aby bylo možno léčbu zahájit při prvních známkách průjmu. Antidiarotika (například loperamid) je nutno podávat, a pokud je to nezbytné, jejich dávku je třeba zvyšovat až k nejvyšší schválené doporučené dávce. Léčba přípravkem musí být přerušena nebo vysazena, pokud se u pacienta vyvíjí závažné buňžní, puchýřnaté nebo exfoliativní postižení. U pacientů, kteří jsou vystaveni slunečnímu záření, je vhodný ochranný oděv a použití krémů s ochranným faktorem proti slunečnímu záření. Vyšší expozice vůči přípravku Giotrif byla pozorována u žen, u pacientů s nižší tělesnou hmotností a u pacientů s existující poruchou funkce ledvin. U pacientů užívajících Giotrif k léčbě NSCLC se objevily zprávy o intersticiální plicní nemoci (ILD), poruše funkce jater, keratitidě. K vyloučení ILD je třeba pečlivě zhodnotit všechny pacienty s akutním rozvojem a/nebo nevysvětlitelným zhoršením plicních příznaků (dušnost, kašel horečka). U pacientů s kardiálními rizikovými faktory a u pacientů se stavy, které mohou ejetiční frakci levé komory ovlivnit, je nutno zvážit monitoraci stavu srdce, a to včetně zhodnocení LVEF při počátečním vyšetření a během léčby. Současná léčba silnými indukory P-gp může snížit expozici vůči afatinibu. Přípravek obsahuje laktosu. **Gastrointestinální perforace:** Během léčby přípravkem GIOTRIF byly v rámci všech randomizovaných kontrolovaných klinických hodnocení u 0,2 % pacientů hlášeny gastrointestinální perforace, včetně fatálních případů. Ve většině případů souvisely gastrointestinální perforace s jinými známými rizikovými faktory včetně souběžné medikace, např. kortikosteroidy, NSAID nebo antiangiogenními látkami, základní gastrointestinální ulcerace v anamnéze, základní divertikulární nemoci, věku nebo metastáz ve střevě v místě perforace. U pacientů, u nichž dojde během podávání přípravku GIOTRIF ke gastrointestinální perforaci, musí být léčba trvale ukončena. **Interakce:** In vitro studie ukázaly, že afatinib je substrátem P-gp a BCRP. Proto se doporučuje podávat dávku silných inhibitorů P-gp (včetně ritonaviru, cyklosporinu A, itakonazolu, itrakonazolu, erythromycinu, verapamilu, chinidinu, takrolimu, nefinaviru, sachinaviru, amiodaronu a dalších) střídavě, nejlépe 6 hodin nebo 12 hodin od podání přípravku Giotrif. Silné indukory P-gp (včetně rifampicinu, karbamazepinu, fenytoinu, fenobarbitalu nebo těžceky tečkové a dalších) mohou snížit expozici přípravku Giotrif. **Nežádoucí účinky:** Nežádoucí reakce jsou obecně spojeny s inhibičním mechanismem účinku afatinibu na receptor pro epidermální růstový faktor (EGFR). Nejčastějšími nežádoucími reakcemi byly průjem a nežádoucí příhody ve vztahu ke kůži (vyrážka, akneiformní dermatitida, pruritus, suchá kůže), dále stomatitida, paronychie, pokles chuti k jídlu a epistaxe. Mezi časté nežádoucí reakce patřily cystitida, dehydratace, hypokalemie, dysgeuzie, konjunktivitida, suché oči, rinorea, dyspepsie, cheilitida, zvýšení alanin- a spartátaminotransferázy, porucha renální funkce/renální selhání, syndrom palmoplantární erythrodysestázie, svalové spazmy, pyrexie a pokles tělesné hmotnosti. Nežádoucí účinky typu intersticiální plicního onemocnění (ILD) byla hlášena u 0,7% pacientů léčených afatinibem. U pacientů užívajících Giotrif 40 mg byly pozorovány převážně přechodné abnormality jaterních testů (včetně zvýšení ALT a AST), která nevedla k vysazení léčby. **Zvláštní opatření pro uchování:** Uchovávat v původním obalu, chránit před vlhkostí a světlem. **Datum poslední revize textu:** 28. 11. 2019. **Držitel rozhodnutí o registraci:** Boehringer Ingelheim International GmbH, Ingelheim am Rhein, Německo. **Registrační č.:** Giotrif 20 mg EU/1/13/879/003; Giotrif 30 mg EU/1/13/879/006; Giotrif 40 mg EU/1/13/879/009; Giotrif 50 mg EU/1/13/879/012. **Výdej pouze na lékařský předpis. Přípravek je hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění. Před podáním se pečlivě seznamte s úplnou informací o přípravku. \*Všimněte si prosím změn v SPC.**

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

# Hematologická toxicita u IMRT/VMAT v kurativní léčbě análního karcinomu

## Haematotoxicity in IMRT/VMAT curatively treated anal cancer

Lohynská R.<sup>1,4</sup>, Nýdlová A.<sup>2</sup>, Drbohlavová T.<sup>2</sup>, Mazaná E.<sup>1</sup>, Jirkovská M.<sup>2</sup>, Veselský T.<sup>3</sup>, Malinová B.<sup>2</sup>, Stankušová H.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Onkologická klinika 1. LF UK a Thomayerova nemocnice, Praha

<sup>2</sup> Onkologická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha

<sup>3</sup> Oddělení lékařské fyziky, FN Motol, Praha

<sup>4</sup> Ústav radiační onkologie, 1. LF UK a Nemocnice Na Bulovce

### Souhrn

**Úvod:** Kurativní chemoradioterapie dlaždicobuněčného análního karcinomu dosáhne u většiny pacientů dlouhodobé kompletní remise a do popředí vstupuje minimalizace toxicity léčby. Cílem retrospektivní analýzy bylo ověřit přijatelnou dávku na kostní dřeň pro plánování radioterapie, která nevede ke zvýšené hematologické toxicitě. **Soubor pacientů a metodika:** V letech 2013–2019 bylo na Onkologické klinice FN Motol kurativně léčeno technikou radioterapie s modulovanou intenzitou (intensity modulated radiotherapy – IMRT)/objemově modulovanou radioterapií kyvem (volumetric modulated arc therapy – VMAT) 40 pacientů se spinocelulárním análním karcinodem. Ženy tvoří 90 % souboru, průměrný věk v době diagnózy je 65 let (47–81 let). Chemoterapie s mitomycinem C a 5-fluorouracilem byla podána u 68 % pacientů. Kostní dřeň byla konturována v plánovacím systému Varian Eclipse, verze 15.6. **Výsledky:** Akutní hematotoxicita (grade III, IV, V dle Obecných terminologických kritérií nežádoucích účinků (Common Terminology Criteria for Adverse Events – CTCAE)) byla asociována s aplikací konkomitantní chemoradioterapie ( $p = 0,002$ ) a s aplikovanou průměrnou dávkou na kostní dřeň  $\geq 27$  Gy ( $p = 0,011$ ). Pozdní hematologická toxicita byla mírná (maximálně grade I), asymptomatická a v souboru nebyla patrná závislost pozdní hematotoxicity na žádném rizikovém faktoru (věk, pohlaví, WHO performance status, dávka na kostní dřeň, chemoterapie, BMI, kouření, stadium). Celkové přežití v 5 letech od léčby u klinického stadia (KS) I 100 %, u KS II 83 %, u KS III 61 % a u KS IV 0 %. Lokální kontrola v 5 letech je u KS I 100 %, u KS II 92 %, u KS III 87 % a u KS IV 0 %. U 5 % radikálně léčených pacientů došlo k rozvoji lokální recidivy. U 8 % radikálně léčených pacientů došlo ke vzniku vzdálených metastáz. Lokální recidiva či metastázy se vyskytly během prvních 2 let od léčby. **Závěr:** Radikální chemoradioterapie v léčbě spinocelulárního karcinomu má vysokou účinnost. IMRT/VMAT umožnil aplikovat dostatečně účinnou dávku na nádor a elektivní oblasti a zároveň redukoval nejen akutní kožní, gastrointestinální a genitourinární toxicitu, ale i akutní toxicitu hematologickou při dodržení celkové aplikované dávky na kostní dřeň  $D_{mean} < 27$  Gy.

### Klíčová slova

IMRT – VMAT – kostní dřeň – anální karcinom – hematologická toxicita

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. Radka Lohynská, Ph.D.  
Onkologická klinika  
1. LF UK a Thomayerovy nemocnice  
Vídeňská 800  
140 59 Praha 4  
e-mail: radka.lohynska@ftn.cz

Obdrženo/Submitted: 13. 5. 2020  
Přijato/Accepted: 15. 6. 2020

doi: 10.14735/amko2020286

## Summary

**Introduction:** Curative chemoradiotherapy of squamous cell carcinoma achieves long-term complete remissions in most patients and minimizing treatment toxicity becomes crucial issue. The aim of the retrospective analysis was to determine an acceptable dose to the bone marrow for radiotherapy planning not leading to increased haematological toxicity. **Patients and methods:** In the period 2013–2019, 40 patients with squamous cell carcinoma were curatively treated at the Department of Oncology of the University Hospital Motol using intensity modulated radiotherapy (IMRT)/volumetric modulated arc radiotherapy (VMAT) technique. Women make up 90% of the group, the average age at the time of diagnosis was 65 years (47–81). Chemotherapy mitomycin C and 5-fluorouracil was given to 68% of patients. The bone marrow was contoured in the Varian Eclipse planning system, version 15.6. **Results:** Acute hematotoxicity (G3, 4, 5 according to Common Terminology Criteria for Adverse Events – CTCAE) was significantly associated with the concomitant chemoradiotherapy ( $P = 0.002$ ) and the average dose to the bone marrow  $\geq 27$  Gy ( $P = 0.011$ ). Late haematological toxicity was mild (maximum grade 1), asymptomatic, and no dependence of late haematotoxicity on any risk factor (age, gender, WHO performance status, bone marrow dose, CHT, BMI, smoking, stage) was proved. The overall survival at 5 years was 100% in stage I, 83% in stage II, 61% in stage III and 0% in stage IV. Local control at 5 years is 100% in stage I, 92% in stage II, 87% in stage III and 0% in stage IV. Local recurrence developed in 5% of radically treated patients. Distant metastases occurred in 8% of radically treated patients. Local recurrences or metastases occurred only during the first 2 years after the treatment. **Conclusion:** Radical chemoradiotherapy in the treatment of squamous cell anal carcinoma is highly effective. IMRT/VMAT enabled to apply a sufficiently effective dose to the tumor and elective areas and reduced not only acute skin, GI and GU toxicity, but also acute haematological toxicity in cases with the dose  $D_{\text{mean}}$  to bone marrow lower than 27 Gy.

## Key words

IMRT – VMAT – bone marrow – anal cancer – hematologic toxicity

## Úvod

Kurativní chemoradioterapie má v léčbě nemetastatického dlaždicobuněčného análního karcinomu zásadní význam [1–8]. Většina pacientů (klinické stadium (KS) I–III) v současnosti po léčbě dosáhne kompletní remise a do popředí vstupuje zejména požadavek na minimalizaci toxicity léčby. S implementací moderních zobrazovacích metod (pozitronová emisní tomografie/výpočetní tomografie) do diagnostického a léčebného algoritmu je možné precizně stanovit rozsah onemocnění a cílit aplikaci dostatečně vysokých dávek [9–16] pomocí moderních technik fotonové radioterapie (radioterapie s modulovanou intenzitou – intensity modulated radiotherapy (IMRT) a objemově modulovanou radioterapií kyvem – volumetric modulated arc therapy (VMAT)) s významnou redukcí akutní a pozdní toxicity (obr. 1, 2). Přínos IMRT v redukcii toxicity kožní a gastrointestinální, bez zhoršení lokální kontroly prokázala studie RTOG 0529 [18,19] oproti 3D konformní technice [20]. Menší výskyt akutní toxicity zároveň přináší nižší riziko přerušení v průběhu radioterapie, což dále zvyšuje úspěšnost léčby. Při radioterapii pánve může dojít v závislosti na velikosti ozářeného objemu a aplikované dávce k projevům akutní a pozdní hematologické toxicity. Kostní dřevě se dělí na červenou (retikulární vazivo s krvetvornou tkání), žlutou (postupně

vzniká přeměnou z dřevě červené a obsahuje tukové buňky) a šedou (vzniká po vymizení tukových buněk z dřevě a je typická pro pozdní věk) [21]. S narůstajícím věkem klesá kapacita hematopoézy. Kostní dřevě pánve zodpovídá přibližně za 40 % hematopoézy (kosti pánevní ve 25 %, sacrum 9 % a proximální femury 5 %), bederní páteř 16 %, hrudník s proximálními humery 37 % a lebka a krční páteř ze 7 % [22]. Denně kostní dřevě produkuje  $10^{11}$ – $10^{12}$  krevních buněk [23]. Poškození funkce hematopoézy lze hodnotit dle periferního krevního obrazu s diferenciálním rozpočtem leukocytů na základě obecných terminologických kritérií nežádoucích účinků (Common Terminology Criteria for Adverse Events – CTCAE), pomocí průtokové cytometrie či pomocí zobrazovacích metod, které zviditelní obsah tuku či aktivitu dřevěných buněk: CT, magnetická rezonance (MR), jednofotonová emisní výpočetní tomografie (single photon emission computed tomography – SPECT) či PET. Doporučovaná průměrná dávka na celou kostní dřevě pro optimalizaci IMRT plánů při radioterapii pánve je 27 Gy,  $V10 < 85$  %,  $V20 < 66$  % a při užití PET je doporučen optimální limitní parametr 28,5 Gy (30 Gy akceptovatelných),  $V10 < 90$  %,  $V20 < 75$  % na aktivní kostní dřevě (SUV > průměr) [23,24]. Ozáření méně než 40 % z celé kostní dřevě nevede k významným klinickým projevům,

kteří by vyžadovaly léčebnou intervenci [25]. Při radioterapii šetřící kostní dřevě (tzv. bone marrow-sparing radiotherapy) lze při IMRT u chemoradioterapie karcinomu hrdla děložního dosáhnout snížení leukopenie  $\geq G3$  z 27 % na 8 % [26].

## Soubor pacientů a metodika

V letech 2013–2019 bylo na Onkologické klinice FN Motol kurativně léčeno technikou IMRT/VMAT 40 pacientů se spinocelulárním análním karcinomem (všichni byli p16 pozitivní a nebylo prováděno rutinní HIV testování). Stav pacientů byl hodnocen k 15. červenci 2019. Pacienti zařazení do hodnocení podepsali vstupně informovaný souhlas. Ženy tvoří 90 % souboru, průměrný věk v době diagnózy je 65 let (47–81). Charakteristika souboru pacientů je uvedena v tab. 1.

Staging byl proveden pomocí fyzikálního vyšetření, endoskopických metod (anoskopie, rektoskopie, koloskopie) a u většiny pacientů pomocí PET s podáním fluorodeoxyglukózy – FDG-PET/CT. Všichni pacienti byli reklasifikováni dle 8. vydání TNM klasifikace (Union for International Cancer Control – UICC 2017).

U 68 % pacientů (většinou do 70 let, bez komorbidit) byla podána chemoterapie s mitomycinem C (10mg/m<sup>2</sup> i.v. den 1 a 29) a 5-fluorouracilem (1 000 mg/m<sup>2</sup> c.i.v. den 1–5). Plánovací

**Tab. 1. Charakteristika souboru pacientů. Medián (rozsah) je uveden u kontinuálních proměnných a počty (procenta) pro kategorické proměnné. Statistický rozdíl mezi skupinami byl kalkulován pomocí Pearson Chi-square testu pro kategorické proměnné a pomocí Studentova T-testu pro kontinuální proměnné.**

Proměnná	Podskupina	Počet (%) / průměr (rozsah)	Akutní hematotoxicita G0–G1	Akutní hematotoxicita G2–5	p-hodnota
věk v době dg (roky)		64,9 (47–81)	64,7	65,2	0,889
vstupní WHO performance status	0	22 (55 %)	14 (56 %)	4 (44 %)	0,425
	1	13 (13 %)	8 (32 %)	5 (56 %)	
	≥ 2	3 (12 %)	3 (12 %)	0 (0 %)	
pohlaví	muži	4 (10 %)	2 (7 %)	2 (15 %)	0,431
	ženy	36 (90 %)	25 (93 %)	11 (85 %)	
BMI	≤ 25 kg/m <sup>2</sup>	24 (60 %)	14 (52 %)	10 (77 %)	0,13
	> 25 kg/m <sup>2</sup>	16 (40 %)	13 (48 %)	3 (23 %)	
nikotinismus	nekuřák	22 (67 %)	13 (62 %)	9 (75 %)	0,443
	kuřák	11 (33 %)	8 (38 %)	3 (25 %)	
histologický grading	G1/G2	19 (59 %)	15 (65 %)	4 (44 %)	0,439
	G3	13 (41 %)	8 (35 %)	5 (56 %)	
histologický typ	skvamózní	30 (75 %)	20 (74 %)	10 (77 %)	0,781
	bazaloidní	9 (23 %)	6 (22 %)	3 (23 %)	
	verukózní	1 (2 %)	1 (4 %)	0 (0 %)	
klinické stadium	I/II	24 (60 %)	19 (70 %)	5 (38 %)	0,054
	III/IV	16 (40 %)	8 (30 %)	8 (62 %)	
chemoterapie	ne	13 (32 %)	13 (48 %)	0 (0 %)	0,002
	ano	27 (68 %)	14 (52 %)	13 (100 %)	
počet cyklů CHT	1	7 (26 %)	3 (21 %)	5 (31 %)	0,58
	2	20 (74 %)	11 (79 %)	9 (69 %)	
průměrná dávka na kostní dřeň (Gy)	D <sub>mean</sub>	28,4 (10,0–36,4)	27,6 (10,0–36,4)	30,1 (27,3–33,3)	0,219
dávka D <sub>mean</sub> na kostní dřeň	< 27 Gy	10 (25 %)	10 (43 %)	0 (0 %)	0,011
	≥ 27 Gy	30 (75 %)	17 (57 %)	13 (100 %)	
průměrná dávka (Gy) na PTV		51,2 (44–66)	50,2 (44–66)	52,3 (45–64)	0,561
délka ozařovací série (dny)		39,4 (30–53)	39 (30–52)	41 (30–53)	0,386

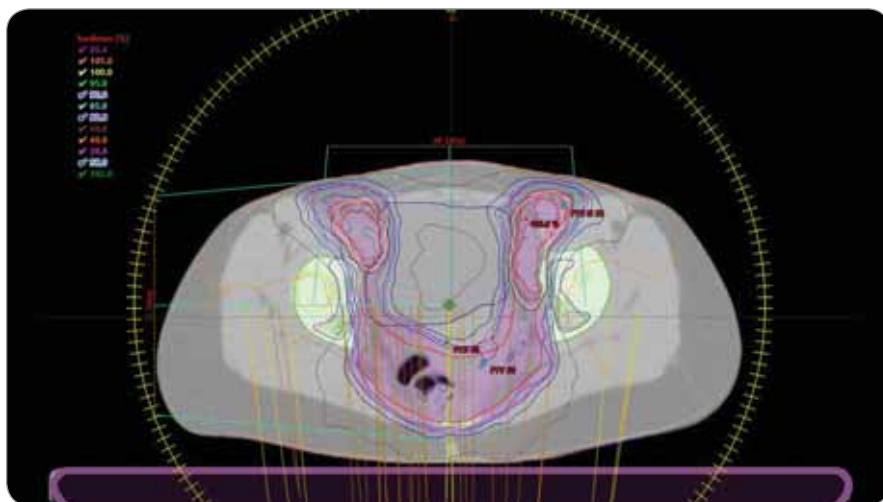
BMI – body mass index, CHT – chemoterapie, PTV – plánovací cílový objem, WHO – Světová zdravotnická organizace

CT bylo provedeno v supinační poloze. Definice objemu nádoru (gross tumor volume – GTV) byla provedena na základě klinického a endoskopického nálezu a dále byla usnadněna díky fúzi s diagnostickým PET/CT. Průměrná aplikovaná dávka ze zevní radioterapie byla 51,2 Gy (45–64 Gy). Dávky na uzlinové oblasti u cN0 onemocnění byly odstup-

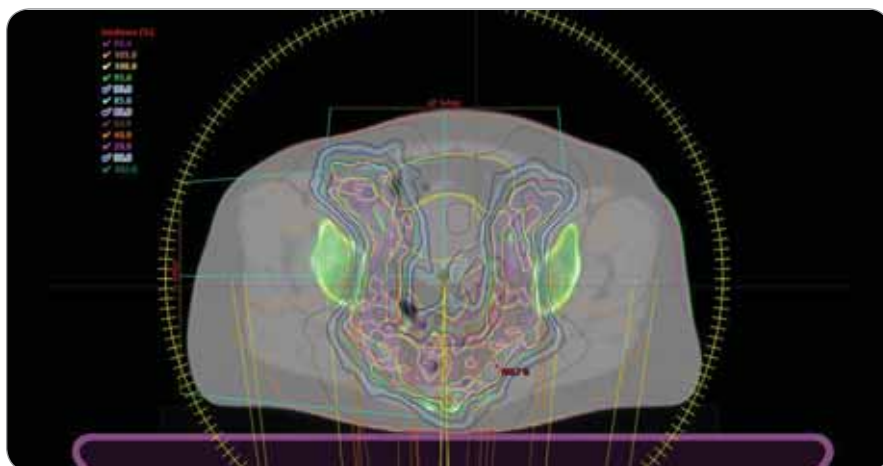
ňovány v rozmezí 30,6–45 Gy [27] v souladu s protokolem RTOG 9811 studie [1]. Určení uzlinového klinického cílového objemu (clinical target volume – CTV) bylo stanoveno dle australsijských doporučení AGITG [28]. U cN1 onemocnění byla na oblast postižených uzlin dle PET/CT s 5mm lemem aplikována dávka 50–60 Gy dle velikosti, lokalizace uzlin

a blízkosti rizikových orgánů a na zbývající PET negativní uzlinové oblasti 45 Gy. Plánovací cílový objem (planned target volume – PTV) byl vytvořen přidáním 7 mm k CTV. Byla preferována technika simultánního integrovaného boostu a denní verifikace IGRT. U 55 % pacientů byl aplikován boost formou intersticiální brachyterapie při postižení méně než





Obr. 1. Příklad VMAT plánu s šetřením kostní dřevě.  
VMAT – objemově modulovaná radioterapie kyvem



Obr. 2. Příklad VMAT plánu s šetřením kostní dřevě.  
VMAT – objemově modulovaná radioterapie kyvem

poloviny cirkumference análního kanálu u nádorů cT1–cT2 (2× 5 Gy v rozmezí 8 dní s odstupem 2 týdny od ukončení zevní radioterapie).

Při plánování zevní radioterapie byly užity následující dávkově limitní parametry pro optimalizaci: 98 % PTV obdrží  $\geq 95$  % předepsané dávky; „bowel bag“ byl konturován jako peritoneální kavita s parametry V45 Gy < 195 cm<sup>3</sup> a V50 Gy < 50 cm<sup>3</sup>, močový měchýř s parametrem V50 Gy < 50 % [29] a hlavice femurů V50 < 5 %. Přijatelná dávka na zevní genitál byla stanovena  $D_{\text{mean}} < 30$  Gy u žen a  $D_{\text{mean}} < 20$  Gy u mužů [30].

Akutní hematologická toxicita byla hodnocena jako nejhorší nález v krevním obraze během chemoradioterapie (CHRT) / radioterapie (RT) do 6 týdnů

po ukončení CHRT/RT (CTCAE verze 5.0). Kostní dřevě byla konturována zpětně u všech pacientů v plánovacím systému Varian Eclipse (verze 15.6) jako zevní okraj kompakty skeletu pánve distálně od L4/5 pod sedací hrboly vč. proximálních femurů (1 cm pod dolní okraj PTV). Při léčbě nebyla použita žádná optimalizace na kostní dřevě.

Pacienti po ukončení radioterapie byli sledováni týdně do odeznění akutní poradiační reakce a dále ve 3 a 6 měsících od ukončení radioterapie, kdy byla definitivně zhodnocena léčebná odpověď. Pozdní hematologická toxicita (CTCAE verze 5.0) byla hodnocena nejdříve 3 měsíce po ukončení RT. Při kompletní remisi bylo dále sledování prováděno v intervalu 3 měsíců první 2 roky a dále

do 5 let od léčby po 6 měsících a později jednou ročně.

### Statistická analýza

Byla analyzována závislost akutní a pozdní hematotoxicity na dávce a dalších faktorech, statistický rozdíl mezi skupinami byl kalkulován pomocí Pearson Chi-square testu pro kategorické proměnné (pohlaví, celkový stav dle WHO, CHT, nikotinismus, stadium, histologické parametry) a pomocí Studentova T-testu pro kontinuální proměnné (věk, BMI, dávka). Cílem hodnocení byla lokální kontrola (local control – LC), přežití bez nemoci (disease free survival – DFS), celkové přežití (overall survival – OS) a interval bez kolostomie (colostomy free interval – CFI) a vztah k různým proměnným (graf 1–3). Lokální kontrola byla definována jako doba od radioterapie do posledního kontrolního vyšetření (u pacientů v remisi) nebo do doby diagnózy lokální recidivy. Přežití bez nemoci bylo definováno jako čas od radioterapie do posledního kontrolního vyšetření u pacientů v remisi nebo do doby diagnózy lokální recidivy či vzdáleného relapsu nebo do smrti. OS bylo definováno jako doba od zahájení RT do poslední kontroly nebo do úmrtí z jakékoli příčiny.

Data byla analyzována statistickým softwarem SPSS verze 19.0, p-hodnoty menší než 0,05 byly považovány za statisticky signifikantní. Univariační analýza přežití byla provedena pomocí Kaplan-Meierovy metody a k hodnocení rozdílů mezi skupinami byl použit log-rank test. Byla provedena univariační a multivariační Coxova regresní analýza rizikových faktorů se stanovením HR a konfidenčních 95% intervalů (tab. 2).

### Výsledky

Medián sledování pacientů je 23 měsíců (od zahájení radioterapie do poslední kontroly nebo úmrtí pacienta). OS v 1, 2 a 5 letech bylo 92, 84 a 74 %, průměrné očekávané přežití 55 měsíců (medián nedosažen).

Lokální kontrola v 1, 2 a 5 letech byla 95, 92 a 92 %, průměrná LC 63 měsíců (medián nedosažen). U celkem 3 (7,5 %) pacientů došlo k rozvoji lokální recidivy a u 5 (12,5 %) došlo ke vzniku vzdálených

metastáz. Lokální recidiva či metastázy se vyskytly v intervalu do 2 let od zahájení léčby.

Přežití bez nemoci bylo v 1, 2 a 5 letech 89, 86, 86 %, průměrná doba DFS byla 60 měsíců, medián DFS nedosažen.

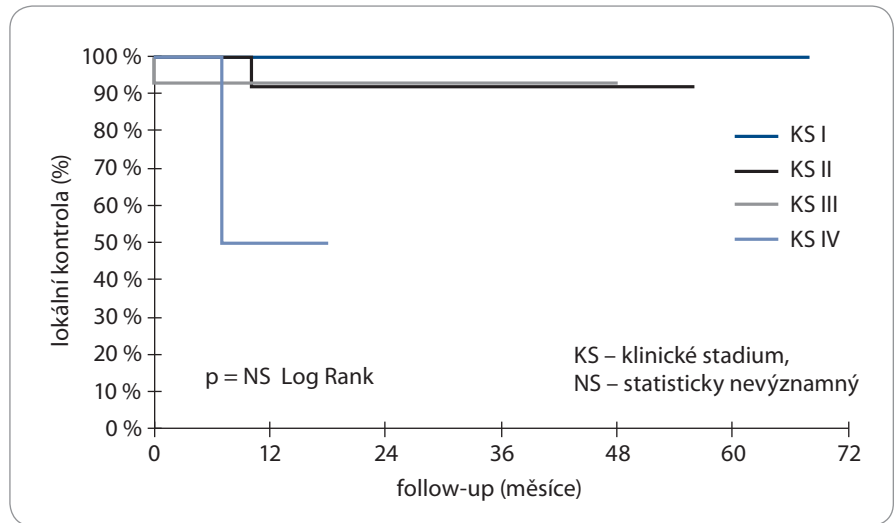
Interval bez kolostomie (CFI) byl v 1 roce 98 %, ve 2 letech 91 % a v 5 letech 91 %, průměrná doba byla 63 měsíců (doba od radioterapie do poslední kontroly bez stomie nebo založení stomie), medián CFI nedosažen. Stomie byla jednou založena vstupně, jednou pro lokální recidivu a jednou pro pozdní účinky radioterapie.

Akutní hematotoxicita (leukopenie, trombocytopenie, anémie  $\geq$  G3) se vyskytla celkem u 17 pacientů (43 %). Nejsilnější vliv na výskyt akutní hematologické toxicity má očekávaně konkomitantní chemoradioterapie s fluorouracilem a mitomycinem ( $p < 0,001$ ). Konkomitantní chemoradioterapie byla podána v 68 % (z toho v 73 % byly podány oba cykly chemoterapie dle plánu, ve 12 % byla podána dvakrát redukováná chemoterapie bez mitomycinu ve druhém cyklu a v 15 % byl podán pouze 1 cyklus chemoterapie). Akutní hematotoxicita ( $\geq$  G3) byla zaznamenána u 48 % pacientů s chemoradioterapií a u žádného pacienta se samostatnou radioterapií (graf 4). Stupeň pozdní hematologické toxicity byl mírný (maximálně G1) a nebyl na aplikaci konkomitantní chemoradioterapie závislý (35 % v obou skupinách).

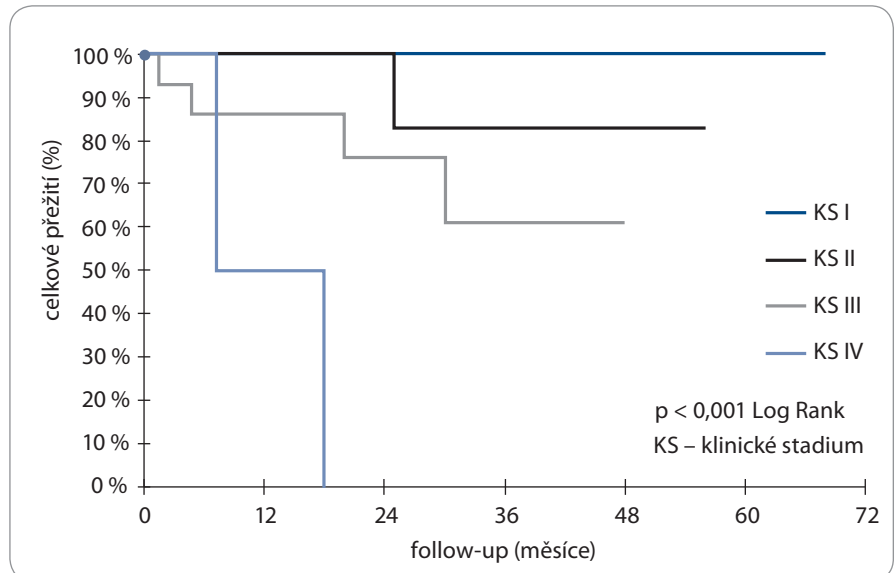
Průměrná dávka aplikovaná na kostní dřeň byla 28,4 Gy. Statisticky významně nižší výskyt akutní hematologické toxicity byl při průměrné dávce do 27 Gy u 0 % pacientů vs. 43 % při dávce  $\geq$  27 Gy ( $p = 0,011$ ) (graf 5). Pozdní hematologická toxicita v našem souboru je mírná (maximálně G1) a vyskytla se u 35 % pacientů v průběhu follow up. V souboru není patrná závislost pozdní hematotoxicity na žádném rizikovém faktoru (věk, pohlaví, dávka na kostní dřeň, CHT, BMI, kouření, stadium). Celkové přežití či lokální kontrola onemocnění nejsou výskytem akutní či pozdní hematologické toxicity ovlivněny.

## Diskuze

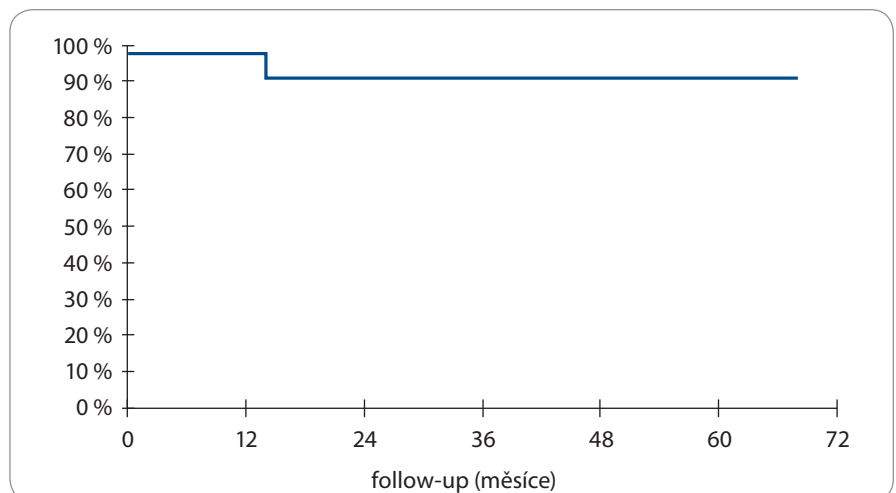
Doporučení dávkově limitních parametrů na kostní dřeň jsou založena buď na prů-



Graf 1. Lokální kontrola u spinocelulárního karcinomu anu dle klinických stadií.



Graf 2. Celkové přežití u spinocelulárního karcinomu anu dle klinických stadií.



Graf 3. Interval bez kolostomie u spinocelulárního karcinomu anu pro všechna stadia.

**Tab. 2. Univariační a multivariační Coxova regresní analýza rizikových faktorů. Pouze faktory signifikantní s hodnotou  $p < 0,25$  v univariační analýze byly užity v multivariační analýze.**

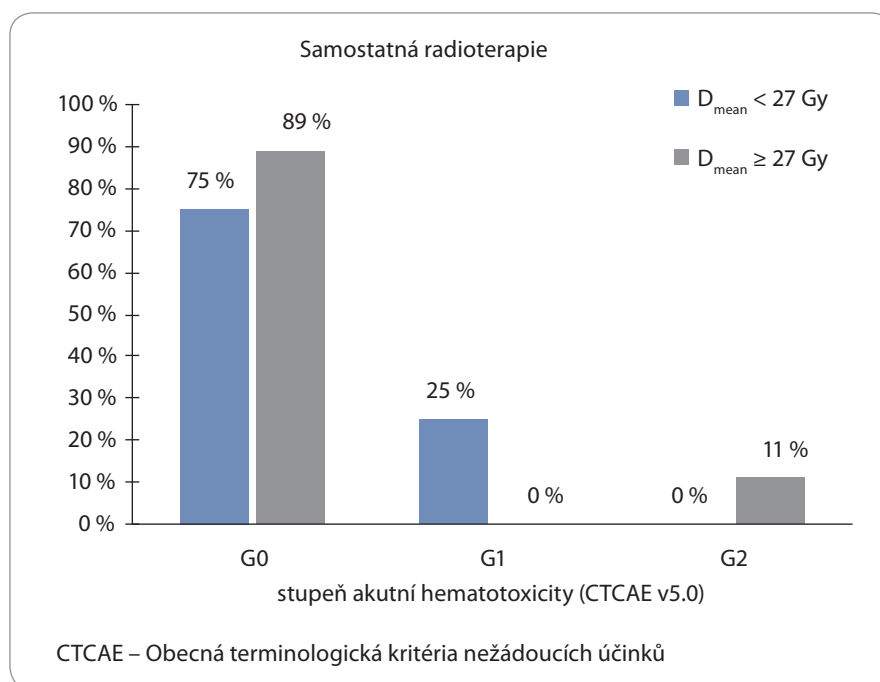
Proměnná	OS univariační analýza	OS multivariační analýza	LC univariační analýza	LC multivariační analýza	DFS univariační analýza	DFS multivariační analýza
	HR (95% CI) p-hodnota	HR (95% CI) p-hodnota	HR (95% CI) p-hodnota	HR (95% CI) p-hodnota	HR (95% CI) p-hodnota	HR (95% CI) p-hodnota
věk v době dg (roky)	1,018 (0,933–1,111); p = 0,682	ND	1,032 (0,906–1,176); p = 0,636	ND	0,953 (0,869–1,046); p = 0,312	ND
WHO PS status 0 vs 1	p = 0,109 8,161 (0,953–69,898); p = 0,055	NS	p = 0,639 206,348 (0,002–>1000); p = 0,473	ND	p = 0,246 5,519 (0,573–53,118); p = 0,139	NS
0 vs ≥ 2	15,877 (0,879–286,797); p = 0,061		0,996 (0,000–>1000); p = 1,000		8,743 (0,538–142,043); p = 0,127	
pohlaví (muži vs. ženy)	25,517 (0,002–335539,798); p = 0,503	ND	23,960 (0,000–>1000); p = 0,696	ND	23,964 (0,000–>1000); p = 0,614	ND
BMI	0,964 (0,803–1,157); p = 0,691	ND	0,833 (0,592–1,171); p = 0,293	ND	0,959 (0,789–1,166); p = 0,678	ND
nikotinismus	2,421 (0,398–14,714); p = 0,337	ND	197,374 (0,000–>1000); p = 0,439	ND	4,149 (0,376–45,802); p = 0,246	NS
histologický grading G1/2 vs G3	0,994 (0,920–1,074); p = 0,878	ND	0,021 (0,000–2390,705); p = 0,515	ND	0,394 (0,044–3,532); p = 0,405	ND
histologický typ skvamózní bazaloidní verukózní	p = 0,962 1,262 (0,244–6,521); p = 0,782 0,000 (0,000–>1000); p = 0,990	ND	p = 0,881 1,855 (0,168–20,504); p = 0,614 0,000 (0,000–>1000); p = 0,993	ND	p = 0,724 0,031 (0,000–250,808); p = 0,449 0,031 (0,000–>1000); p = 0,788	ND
klinické stadium I/II vs III/IV	<b>9,457</b> <b>(1,136–78,715);</b> <b>p = 0,038</b>	<b>8,643</b> <b>(1,039–71,919);</b> <b>p = 0,046</b>	3,443 (0,311–38,060); p = 0,313	ND	141,366 (0,055–>1000); p = 0,216	NS
chemoterapie	0,643 (0,116–3,572); p = 0,614	ND	1,045 (0,095–11,530); p = 0,972	ND	1,922 (0,215–17,210); p = 0,559	ND
dávka $D_{\text{mean}}$ na kostní dřev (Gy)	<b>1,434</b> <b>(1,063–1,933);</b> <b>p = 0,018</b>	NS	1,097 (0,834–1,442); p = 0,509	ND	<b>1,824</b> <b>(1,163–2,860);</b> <b>p = 0,009</b>	NS
akutní hematotoxicita G012 vs G345	0,918 (0,178–4,740); p = 0,919	ND	1,090 (0,099–12,035); p = 0,944	ND	0,593 (0,066–5,313); p = 0,641	ND
pozdní hematotoxicita (G0 vs G1)	0,336 (0,039–2,899); p = 0,321	ND	0,906 (0,082–10,030); p = 0,936	ND	0,487 (0,054–4,356); p = 0,520	ND

BMI – body mass index, CI – interval spolehlivosti, DFS – přežití bez nemoci, dg – diagnóza, HR – poměr rizik, LC – lokální kontrola, ND – nedefinováno, NS – statisticky nevýznamné, OS – celkové přežití, PS – performance status, WHO – Světová zdravotnická organizace

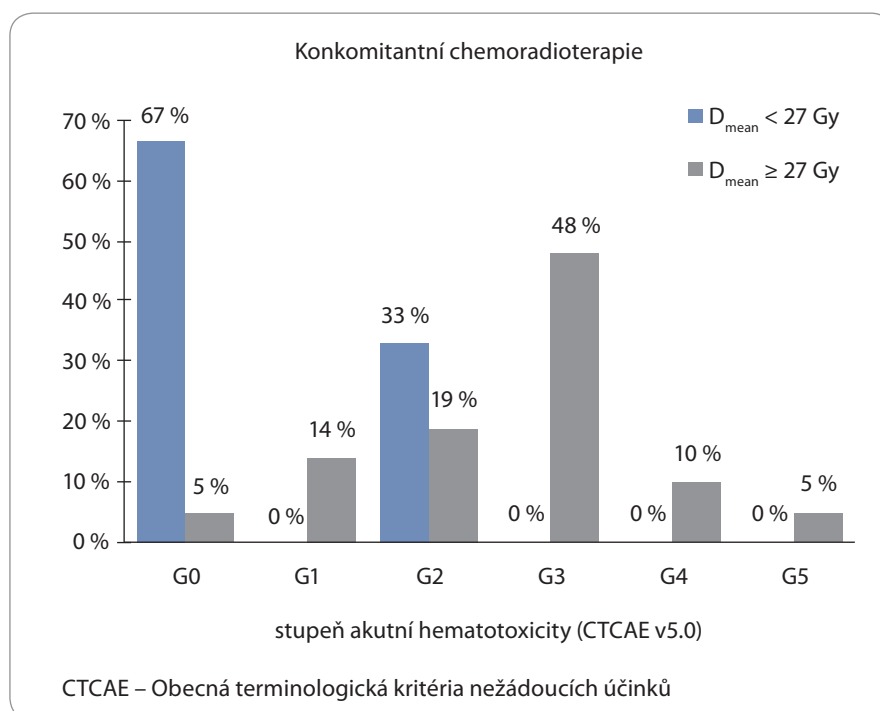
měrné dávce na pánevní skelet v oblasti ozáření, nebo na definici různých podobemů (lumbosakrální oblast, ilická oblast a dolní oblast pánve [31,32], lopaty kostí kyčelních [33]). Zvolit vhodný (rychlý a reprodukovatelný) způsob konturace kostní dřevě bylo jedním z cílů našeho retrospektivního hodnocení. Stanovení přijatelné dávky pro optimalizaci v závislosti na klinickém zhodnocení akutní a pozdní hematologické toxicity bylo cílem druhým. Vyzkoušeli jsme dva způsoby konturace tohoto rizikového orgánu: vnitřní okraj kompakty (čistě kostní dřevě) a zevní okraj kompakty (celá kost). První způsob „free-hand“ konturování byl značně časově náročný (desítky minut) na rozdíl od druhého, obecně přijatého konturování zevního okraje skeletu od L5 po sedací hrboly vč. proximálních femurů, které je velmi rychlé (cca minuty), díky možnosti definovat „region of interest“ v úrovni PTV a následně využít autokonturingu pro kosti. Ve výsledku byl  $D_{\text{mean}}$  na kostní dřevě pro oba způsoby konturace stejný. To je zřejmým důvodem, proč tento způsob konturování kostní dřevě patří v publikacích k nejrozšířenějším [34,35]. Třetí způsob stanovení kontur je pomocí definice aktivní kostní dřevě PET/CT. Mnozí autoři přinášejí FDG-PET/CT jasně prokázali [36,37], jiní naopak dospěli k závěru, že hematopoetické buňky se nacházejí jak v oblasti aktivní na FDG-PET/CT, tak i mimo ni [38]. Přesnější pro definici aktivní kostní dřevě je použití PET s podáním fluorotymidinu – FLT-PET/CT [23]. Ve studii s FLT-PET/CT byl patrný vliv již 4 Gy na aktivitu kostní dřevě (50% pokles vychytávání FLT) a při dávce nad 35 Gy jsou tyto oblasti kostní dřevě suprimovány ještě 1 rok po léčbě [39].

Dle publikovaných dat je při chemoradioterapii (IMRT) s mitomycinem a fluorouracilem u análního karcinomu riziko hematologické toxicity  $\geq G3$  závislé na průměrné dávce, kterou obdržela kostní dřevě, při dávce  $< 22,5$  Gy je riziko 5 %, při dávce  $< 25$  Gy je riziko 10 %, při dávce 27,5 Gy je riziko 20 % a při dávce 31 Gy je riziko 40 % [35].

V našem souboru u pacientů s konkomitantní chemoradioterapií mitomycin C + 5-fluorouracil se akutní hematologická toxicity  $\geq G3$  vyskytla u 48 % pacientů (leukopenie 38 %



**Graf 4. Výskyt hematologické toxicity u samostatné radioterapie dle průměrné dávky radioterapie na kostní dřevě, maximální toxicita stupeň G2, bez závislosti na aplikované dávce na kostní dřevě.**



**Graf 5. Výskyt hematologické toxicity u konkomitantní chemoradioterapie dle průměrné dávky radioterapie na kostní dřevě. Výskyt hematotoxicity  $\geq G3$  pouze ve skupině s aplikovanou dávkou na kostní dřevě  $\geq 27$  Gy.**

a trombocytopenie 19 %). Hematologická toxicity  $\geq G3$  se vyskytla pouze u pacientů s konkomitantní chemoradioterapií.

Ve srovnání režimů mitomycinu s 5-fluorouracilem vs. cisplatinu s 5-fluorouracilem ve studii RTOG 9811 s 3D radioterapií (převážně AP/PA pole) je pa-

trný nižší výskyt hematologické toxicity u chemoterapie s cisplatinou 42 vs. 62 % u mitomycinu [1]. V retrospektivní studii s cisplatinou a 5-fluorouracilem byl výskyt závažné hematologické toxicity přitomen u 31 % [40].

V retrospektivní studii se 2 cykly chemoradioterapií mitomycin C a 5-fluorouracil s VMAT se vyskytla leukopenie u 36 % pacientů a trombocytopenie  $\geq$  G3 u 13 % pacientů [41]. Při IMRT bez šetření kostní dřevě byl výskyt G4 hematologické toxicity u chemoradioterapie s mitomycinem C a 5-fluorouracilem 38 % [42]. V prospektivní studii srovnávající chemoterapii s mitomycinem C a kapecitabinem nebo fluorouracilem byl významně signifikantně nižší výskyt hematologické toxicity  $\geq$  G3 ve skupině s kapecitabinem (4 vs. 27 %;  $p = 0,001$ ) [43]. Jiná retrospektivní studie s mitomycinem C a kapecitabinem v konkomitantní chemoradioterapii (IMRT) srovnávala vliv na hematologickou toxicitu s mitomycinem C a 5-fluorouracilem a prokázala onkologickou non-inferioritu režimu s redukcí hematologické toxicity na více než polovinu u kapecitabinu. Hematotoxicita  $\geq$  G3 byla snížena z 52 % u režimu mitomycin C + 5-fluorouracil na 20 % u režimu mitomycin C + kapecitabin [44]. Je tedy zřejmé, že při užití kapecitabinu bude možné se stejnými dávkově limitními parametry na kostní dřevě pro optimalizaci při plánování dosahovat výrazně nižší akutní hematologické toxicity.

Výsledky klinické proveditelnosti (tzv. feasibility) studie s protonovou radiotherapií u análního spinocelulárního karcinomu přinesly 44% hematologickou toxicitu  $\geq$  G3 [45], což je srovnatelné s publikovanými výsledky IMRT/VMAT technikami fotonové radiotherapie.

## Závěr

Radikální chemoradioterapie s využitím techniky IMRT/VMAT v léčbě spinocelulárního karcinomu anu má vysokou účinnost při příznivém profilu vedlejších účinků nejen kožních, gastrointestinálních i genitourinárních. IMRT/VMAT dále umožňují redukovat i toxicitu hematologickou. Nejjednodušší způsob kontury kostní dřevě jako rizikového orgánu

na plánovacím CT je autokonturing pánevního skeletu v úrovni PTV (zevní kontura kompakty kosti). Redukce hematologické toxicity ( $\geq$  G3) lze dosáhnout reálně optimalizací dávky na celou kostní dřevě pánve za předpokladu dodržení průměrné dávky  $D_{\text{mean}} < 27$  Gy během celé radikální chemoradioterapie. Hematologická toxicita je prokazatelně nižší při implementaci chemoterapeutických režimů s kapecitabinem [43,44]. Ověření redukce hematotoxicity při konturování pomocí atlasů aktivní kostní dřevě dle FDG-PET/CT [46] nebo pomocí FLT-PET/CT [23] bude potřebovat analýzu větších souborů pacientů.

## Literatura

- Ajani JA, Winter KA, Gunderson LL et al. Fluorouracil, mitomycin, and radiotherapy vs fluorouracil, cisplatin, and radiotherapy for carcinoma of the anal canal: a randomized controlled trial. *JAMA* 2008; 299(16): 1914–1921. doi: 10.1001/jama.299.16.1914.
- James RD, Glynne-Jones R, Meadows HM et al. Mitomycin or cisplatin chemoradiation with or without maintenance chemotherapy for treatment of squamous-cell carcinoma of the anus (ACT II): a randomised, phase 3, open-label, 2 x 2 factorial trial. *Lancet Oncol* 2013; 14(6): 516–524. doi: 10.1016/S1470-2045(13)70086-X.
- Peiffert D, Tournier-Rangard L, Gerard J-P et al. Induction chemotherapy and dose intensification of the radiation boost in locally advanced anal canal carcinoma: final analysis of the randomized UNICANCER ACCORD 03 trial. *J Clin Oncol* 2012; 30(16): 1941–1948. doi: 10.1200/JCO.2011.35.4837.
- Bartelink H, Roelofsens F, Eschwege F et al. Concomitant radiotherapy and chemotherapy is superior to radiotherapy alone in the treatment of locally advanced anal cancer: results of a phase III randomized trial of the European Organization for Research and Treatment of Cancer. *J Clin Oncol* 1997; 15(5): 2040–2049. doi: 10.1200/JCO.1997.15.5.2040.
- Flam M, John M, Pajak TF et al. Role of mitomycin in combination with fluorouracil and radiotherapy, and of salvage chemoradiation in the definitive nonsurgical treatment of epidermoid carcinoma of the anal canal: results of a phase III randomized intergroup study. *J Clin Oncol* 1996; 14(9): 2527–2539. doi: 10.1200/JCO.1996.14.9.2527.
- Benson AB, Venook AP, Al-Hawary MM et al. Anal Carcinoma, Version 2.2018, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw* 2018; 16(7): 852–871. doi: 10.6004/jnccn.2018.0060.
- Glynne-Jones R, Tan D, Hughes R et al. Squamous-cell carcinoma of the anus: progress in radiotherapy treatment. *Nat Rev Clin Oncol* 2016; 13(7): 447–459. doi: 10.1038/nrclinonc.2015.218.
- Glynne-Jones R, Nilsson PJ, Aschele C et al. Anal cancer: ESMO-ESSO-ESTRO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Radiation Oncol* 2014; 11(3): 330–339. doi: 10.1016/j.ejso.2014.07.030.
- Lohynska R, Mazana E, Novakova-Jiresova A et al. Improved survival in patients with FDG-PET/CT-based radiotherapy treatment planning for squamous cell anal cancer. *Neoplasma* 2020; [ahead of print]. doi: 10.4149/neo\_2020\_191229N1350.
- Giombor KK, Ernst RD, Brown G. Diagnosis and diagnostic imaging of anal canal cancer. *Surg Oncol Clin N Am* 2017; 26(1): 45–55. doi: 10.1016/j.soc.2016.07.002.

- Krengli M, Milia ME, Turri L et al. FDG-PET/CT imaging for staging and target volume delineation in conformal radiotherapy of anal carcinoma. *Radiat Oncol* 2010; 5: 10. doi: 10.1186/1748-717X-5-10.
- Cotter SE, Grigsby PW, Siegel BA et al. FDG-PET/CT in the evaluation of anal carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2006; 65(3): 720–725. doi: 10.1016/j.ijrobp.2006.01.009.
- Trautmann TG, Zuger JH. Positron emission tomography for pretreatment staging and posttreatment evaluation in cancer of the anal canal. *Mol Imaging Biol* 2005; 7(4): 309–313. doi: 10.1007/s11307-005-0003-6.
- Winton E de, Heriot AG, Ng M et al. The impact of 18-fluorodeoxyglucose positron emission tomography on the staging, management and outcome of anal cancer. *Br J Cancer* 2009; 100(5): 693–700. doi: 10.1038/sj.bjc.6604897.
- Anderson C, Koshy M, Staley C et al. PET-CT fusion in radiation management of patients with anorectal tumors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2007; 69(1): 155–162. doi: 10.1016/j.ijrobp.2007.02.055.
- Nguyen BT, Joon DL, Khoo V et al. Assessing the impact of FDG-PET in the management of anal cancer. *Radiation Oncol* 2008; 87(3): 376–382. doi: 10.1016/j.radonc.2008.04.003.
- Sauter M, Vavricka SR, Keilholz G et al. Surveillance of anal carcinoma after radiochemotherapy: A retrospective analysis of 80 patients. *Strahlentherapie und Onkol* 2017; 193(8): 639–647. doi: 10.1007/s00066-017-1159-0.
- Kachnic LA, Winter K, Myerson RJ et al. RTOG 0529: a phase 2 evaluation of dose-painted intensity modulated radiation therapy in combination with 5-fluorouracil and mitomycin-C for the reduction of acute morbidity in carcinoma of the anal canal. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2013; 86(1): 27–33. doi: 10.1016/j.ijrobp.2012.09.023.
- Vuong T, Koepke N, Ducruet T et al. Conformal therapy improves the therapeutic index of patients with anal canal cancer treated with combined chemotherapy and external beam radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2007; 67(5): 1394–1400. doi: 10.1016/j.ijrobp.2006.11.038.
- Gunderson LL, Winter KA, Ajani JA et al. Long-term update of US GI intergroup RTOG 98-11 phase III trial for anal carcinoma: survival, relapse, and colostomy failure with concurrent chemoradiation involving fluorouracil/mitomycin versus fluorouracil/cisplatin. *J Clin Oncol* 2012; 30(35): 4344–4351. doi: 10.1200/JCO.2012.43.8085.
- Čihák R. Anatomie I. 3. vyd. Praha: Grada Publishing 2011: 76.
- Hayman JA, Callahan JW, Herschtal A et al. Distribution of proliferating bone marrow in adult cancer patients determined using FLT-PET imaging. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2011; 79(3): 847–852. doi: 10.1016/j.ijrobp.2009.11.040.
- Rancati T, Fiorino C. Modelling radiotherapy side effects. Practical applications for planning optimisation. Boca Raton: CRC Press Taylor&Francis Group 2019: 309–335.
- Kunos CA, Andrews SJ, Moore KN et al. Randomized phase II trial of triapine-cisplatin-radiotherapy for locally advanced stage uterine cervix or vaginal cancers. *Front Oncol* 2019; 9: 1067. doi: 10.3389/fonc.2019.01067.
- Yang FE, Vaida F, Ignacio L et al. Analysis of weekly complete blood counts in patients receiving standard fractionated partial body radiation therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1995; 33(3): 607–619.
- Mell LK, Sirák I, Wei L et al. Bone marrow-sparing intensity modulated radiation therapy with concurrent cisplatin for stage I-II cervical cancer: An international multicenter phase II clinical trial (INTERTECC-2). *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2017; 97(3): 536–545. doi: 10.1016/j.ijrobp.2016.11.027.
- Lepinoy A, Lescut N, Puyraveau M et al. Evaluation of a 36 Gy elective node irradiation dose in anal cancer. *Ra-*

- diother *Oncol* 2015; 116(2): 197–201. doi: 10.1016/j.radonc.2015.07.050.
28. Ng M, Leong T, Chander S et al. Australasian Gastrointestinal Trials Group (AGITG) contouring atlas and planning guidelines for intensity-modulated radiotherapy in anal cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2012; 83(5): 1455–1462. doi: 10.1016/j.ijrobp.2011.12.058.
29. Marks LB, Yorke ED, Jackson A et al. Use of normal tissue complication probability models in the clinic. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2010; 76 (3 Suppl): S10–S19. doi: 10.1016/j.ijrobp.2009.07.1754.
30. Brooks C, Hansen VN, Riddell A et al. Proposed genitalia contouring guidelines in anal cancer intensity-modulated radiotherapy. *Br J Radiol* 2015; 88: 20150032. doi: 10.1259/bjr.20150032.
31. David JM, Yue Y, Blas K et al. 18F-FDG PET predicts hematologic toxicity in patients with locally advanced anal cancer treated with chemoradiation. *Adv Radiat Oncol* 2019; 4(4): 613–622. doi: 10.1016/j.adro.2019.06.005.
32. Franco P, Fiandra C, Arcadipane F et al. Incorporating 18FDG-PET-defined pelvic active bone marrow in the automatic treatment planning process of anal cancer patients undergoing chemo-radiation. *BMC Cancer* 2017; 17(1): 710. doi: 10.1186/s12885-017-3708-4.
33. Kachnic, Rose BS, Jee KW et al. Irradiation of FDG-PET-defined active bone marrow subregions and acute hematologic toxicity in anal cancer patients undergoing chemoradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2016; 94(4): 747–754. doi: 10.1016/j.ijrobp.2015.12.006.
34. Kachnic LA, Tsai HK, Coen JJ et al. Dose-painted intensity-modulated radiation therapy for anal cancer: a multi-institutional report of acute toxicity and response to therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2012; 82(1): 153–158. doi: 10.1016/j.ijrobp.2010.09.030.
35. Bazan JG, Luxton G, Mok EC et al. Normal tissue complication probability modeling for acute hematologic toxicity in patients treated with intensity-modulated radiation therapy for squamous cell carcinoma of the anal canal. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2012; 84: 700–706. doi: 10.1016/j.ijrobp.2011.12.072.
36. Mell LK, Sirák I, Wei L et al. Bone marrow-sparing intensity modulated radiation therapy with concurrent cisplatin for stage IB-IVA cervical cancer: An international multicenter phase ii clinical trial (INTERTECC-2). *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2017; 97(3): 536–545. doi: 10.1016/j.ijrobp.2016.11.027.
37. Liang Y, Bydder M, Yashar CM et al. Prospective study of functional bone marrow-sparing intensity modulated radiation therapy with concurrent chemotherapy for pelvic malignancies. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2013; 85(2): 406–414. doi: 10.1016/j.ijrobp.2012.04.044.
38. Rose BS, Jee KW, Niemierko A et al. Irradiation of FDG-PET-defined active bone marrow subregions and acute hematologic toxicity in anal cancer patients undergoing chemoradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2016; 94(4): 747–754. doi: 10.1016/j.ijrobp.2015.12.006.
39. McGuire SM, Bhatia SK, Sun W et al. Using [(18)F] fluorothymidine imaged with positron emission tomography to quantify and reduce hematologic toxicity due to chemoradiation therapy for pelvic cancer patients. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2016; 96(1): 228–239. doi: 10.1016/j.ijrobp.2016.04.009.
40. Doci R, Zucali R, La Monica G, et al. Primary chemoradiation therapy with fluorouracil and cisplatin for cancer of the anus: results in 35 consecutive patients. *J Clin Oncol* 1996; 14(12): 3121–3125. doi: 10.1200/JCO.1996.14.12.3121.
41. Franco P, Arcadipane F, Ragona R et al. Volumetric modulated arc therapy (VMAT) in the combined modality treatment of anal cancer patients. *Br J Radiol* 2016; 89(1060): 20150832. doi: 10.1259/bjr.20150832.
42. Milano MT, Jani AB, Farrey KJ et al. Intensity-modulated radiation therapy (IMRT) in the treatment of anal cancer: toxicity and clinical outcome. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2005; 63(2): 354–361. doi: 10.1016/j.ijrobp.2005.02.030.
43. Jones CM, Adams R, Downing A et al. Toxicity, tolerability, and compliance of concurrent capecitabine or 5-fluorouracil in radical management of anal cancer with single-dose mitomycin-c and intensity modulated radiation therapy: evaluation of a national cohort. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2018; 101(5): 1202–1211. doi: 10.1016/j.ijrobp.2018.04.033.
44. Goodman KA, Julie D, Cercek A et al. Capecitabine with mitomycin reduces acute hematologic toxicity and treatment delays in patients undergoing definitive chemoradiation using intensity modulated radiation therapy for anal cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2017; 98(5): 1087–1095. doi: 10.1016/j.ijrobp.2017.03.022.
45. Wo JY, Plastaras JP, Metz JM et al. Pencil beam scanning proton beam chemoradiation therapy with 5-fluorouracil and mitomycin-c for definitive treatment of carcinoma of the anal canal: a multi-institutional pilot feasibility study. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2019; 105(1): 90–95. doi: 10.1016/j.ijrobp.2019.04.040.
46. Li N, Noticewala SS, Williamson CW et al. Feasibility of atlas-based active bone marrow sparing intensity modulated radiation therapy for cervical cancer. *Radiother Oncol* 2017; 123(2): 325–330. doi: 10.1016/j.radonc.2017.02.017.

# TTERAPIE

AKTUÁLNÍ ODBORNÉ I PROFESNÍ INFORMACE PRO LÉKAŘE

PODROBNÉ ON-LINE ZPRAVODAJSTVÍ Z DOMÁCÍCH  
I ZAHRANIČNÍCH MEDICÍNSKÝCH KONGRESŮ

[WWW.TERAPIE.DIGITAL](http://WWW.TERAPIE.DIGITAL)



REDAKČNÍ  
ZPRACOVÁNÍ  
ROZHOVORŮ A ZPRÁV  
V MÍSTĚ KONÁNÍ  
KONGRESU



VIDEOZÁZNAMY  
Z PŘEDNÁŠEK  
A WORKSHOPŮ



PUBLIKOVÁNÍ  
SOUHRNNÝCH ZPRÁV  
V ODBORNÝCH  
ČASOPISECH

# Efficacy of pectoral nerve block type II versus thoracic paravertebral block for analgesia in breast cancer surgery

Efektivita blokády pektorálneho nervu typu II oproti torakálnej paravertebrálnej blokáde v analgézii po operácii tumoru prsníka

Martsiniv V. V.<sup>1,2</sup>, Loskutov O. A.<sup>1</sup>, Strokan A. M.<sup>1,2</sup>, Pylypenko M. M.<sup>1</sup>, Bondar M. V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Anaesthesia and Intensive Care, P. L. Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv, Ukraine

<sup>2</sup> Department of Anaesthesia and Intensive Care, Feofaniya Clinical Hospital of State Management of Affairs, Kyiv, Ukraine

## Summary

**Background:** Ultrasound-guided pectoral nerve block type II is a recently proposed technique for postoperative analgesia after breast cancer surgery. The thoracic paravertebral block is widely used for this purpose by decades. The presented study compares the efficacy of these two techniques for postoperative analgesia. **Materials and methods:** Sixty adult women were undergoing unilateral radical mastectomy or quadrantectomy with axillary dissection. The patients were randomized to receive either pectoral nerve block with 30 ml ropivacaine 0.375% (Pecs group) or thoracic paravertebral block with 20 ml ropivacaine 0.5% (TPVB group). The evaluated variables included pain intensity by the numerical rating scale at 0, 2, 4, 6, 12, 18 and the 24 hours, 24-hour postoperative opioid (promedol) and nonopioid (ketoprofen) consumption and the time to first rescue analgesia. **Results:** There were no statistically significant differences between both groups in the pain intensity after surgery. Ten (33%) patients from Pecs group and nine (30%) patients from TPVB group did not require any analgesia within the first 24 hours ( $P = 0.793$ ). The mean postoperative ketoprofen consumption was lower in Pecs group: 63.3 ( $\pm 66.87$ ) mg vs. 90.0 ( $\pm 84.49$ ) mg ( $P = 0.283$ ). The number of patients who required promedol was 6 (20%) vs. 8 (27%) in Pecs and TPVB groups, respectively ( $P = 0.542$ ). The time to first analgesic request was longer in Pecs group, 550 (400.0–600.0) min vs. 510 (360.0–600.0) min ( $P = 0.506$ ) in TPVB group. **Conclusions:** In breast cancer surgery, the pectoral nerve block type II with ropivacaine 0.375% can provide postoperative analgesia that is comparable to the single-level thoracic paravertebral block.

## Key words

thoracic paravertebral block – pectoral nerve block – breast surgery

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.



**Volodymyr Volodymyrovych Martsiniv**

Department of Anaesthesia and Intensive Care

P. L. Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education  
3 Bratislavská str.

02156 Kyiv  
Ukraine

Submitted/Obdržané: 18. 5. 2020

Accepted/Prijaté: 15. 6. 2020

doi: 10.14735/amko2020296



## Súhrn

**Výhodiská:** Ultrazvukom riadená blokáda pektorálneho nervu typu II je v súčasnosti používaná technika pooperačnej analgézie po operácii tumoru prsníka. Po desaťročia sa na tento účel využívala torakálna paravertebrálna blokáda. Táto práca ponúka porovnanie týchto dvoch spomenutých techník v manažmente pooperačnej analgézie. **Materiál a metódy:** Šesťdesiat dospelých žien podstúpilo unilaterálnu radikálnu mastektómiu alebo kvadrantektómiu s axilárnou disekciou. Pacientkam (randomizované) bola vykonaná buď blokáda pektorálneho nervu s aplikáciou 30 ml ropivakaínu 0,375% (skupina Pecs) alebo torakálna paravertebrálna blokáda s aplikáciou ropivakaínu 20 ml 0,5% (skupina TPVB). Posudzované premenné boli intenzita bolesti po operácii, podľa numerickej hodnotiacej stupnice, po 0, 2, 4, 6, 12, 18 a 24 hodinách, 24-hodinová pooperačná spotreba opioidných analgetík (promedol) a neopioidov (ketoprofén) a časový interval po podaní prvého potrebného analgetika. **Výsledky:** Neboli zistené žiadne štatisticky významné rozdiely v intenzite bolesti u pacientok po operácii. Desať pacientok (33%) zo skupiny Pecs a deväť pacientok (33%) zo skupiny TPVB nepožadovalo aplikáciu žiadneho analgetika počas prvých 24 hodín ( $p = 0,793$ ). Priemerná spotreba ketoprofénu po operácii bola nižšia v skupine Pecs, a to 63,3 ( $\pm 66,87$ ) mg oproti 90,0 ( $\pm 84,49$ ) mg ( $p = 0,283$ ). Počet pacientok, ktoré požadovali promedol bol 6 (20 %) v skupine Pecs a 8 (27 %) v skupine TPVB. Časový interval do podania prvého analgetika bol dlhší v skupine Pecs, tj. 550 (400,0–600,0) min, oproti skupine TPVB, tj. 510 (360,0–600,0) min ( $p = 0,506$ ). **Záver:** Blokáda pektorálneho nervu typu II po operácii tumoru prsníka s aplikáciou ropivakaínu 0,375% môže poskytnúť porovnateľnú pooperačnú analgéziu ako jedностupňová torakálna paravertebrálna blokáda.

## Kľúčové slová

torakálna paravertebrálna blokáda – blokáda pektorálneho nervu – chirurgia prsníka

## Background

Breast cancer is the most frequently diagnosed malignancy among women in the regions with different economic development with an estimated 1.67 mil. new cancer cases diagnosed in 2012 [1]. In Ukraine, these cancers are also the first most common malignancies among women. In the last decades, its incidence has increased [2]. The main surgical method of the treatment of operable breast cancer is organ-sparing surgery with lymph node dissection. Despite the variety of the methods of analgesia, up to 40% of women suffer from acute pain after this surgery [3]. There is a high risk of chronic pain development after this surgery [4]. Therefore, the research and development of safe analgesia techniques for these interventions remain a topic of interest.

Thoracic epidural analgesia, paravertebral and intercostal nerve blocks have been effectively used during several decades for analgesia in breast surgery. The thoracic paravertebral block (TPVB) provides good perioperative analgesia [5], and it can be used even as monoanaesthesia when the block is performing at multiple vertebral levels [6]. The main disadvantage of this method is the risk of serious complications, such as pneumothorax and administration of local anaesthetic in the subarachnoid space. The widespread use of the ultrasound visualization for the peripheral nerve blockade has given an impetus to

the development of new, minimally invasive myofascial blocks, such as pectoral nerve block type II (Pecs block).

Several randomized controlled trials compared postoperative analgesia after Pecs block with TPVB for breast cancer surgery. Some studies show that Pecs block reduces the need for opioid analgesics in the postoperative period compared with TPVB [7–9]. On the other hand, some studies have shown that TPVB has a more powerful analgesic effect than Pecs block [10,11]. Versyck et al performed a meta-analysis of five studies which shows that the analgesic effect of these two methods is comparable [12]. A similar conclusion was made by Tripathy et al when comparing these two techniques for opioid-free anaesthesia for breast cancer surgery [13]. Such different results were obtained because the researchers used different kinds and volumes of local anaesthetic and different block technique. In most trials, 0.25% bupivacaine [11,14,17] or 0.25% levobupivacaine [7,12] were used as local anaesthetics. Tripathy et al mixed 0.25% bupivacaine with 2% lignocaine and with adrenaline and 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  dexmedetomidine [13]. In the study by Kulkari et al, ultrasound-guided Pecs block provided better analgesia in the postoperative period than TPVB in patients undergoing modified radical mastectomy [8]. Both blocks were performed with 25 ml ropivacaine 0.5%. There were trials and case reports where Pecs block

was effective for postoperative analgesia with a lower concentration of ropivacaine [15,16]. This study aimed to compare the efficacy of pectoral nerve block type II with 30 ml ropivacaine 0.375% and thoracic one level paravertebral block with 20 ml ropivacaine 0.5% for analgesia after breast cancer surgery.

## Materials and methods

The study was conducted from January 2018 to May 2019 in the Feofaniya Clinical Hospital. The work plan was approved by the institutional ethics committee, reference No. 8, dated October 23, 2017. Female patients in the age group of 18–80 years with ASA grade I–II breast cancers, who were undergoing elective mastectomy or quadrantectomy with axillary lymph node dissection, were included in this study. Exclusion criteria: allergy to local anaesthetics, the body mass index of more than 35  $\text{kg}/\text{m}^2$ , pregnancy, chronic pain in the arm and/or chest, required use of painkillers and/or other medications to treat chronic pain, previous operations on this mammary gland and/or received radiotherapy, use of anti-coagulants or bleeding disorders and skin inflammation at the local anaesthetic injection site.

The patients were randomized by sealed envelope method into two groups: pectoral nerve block (Pecs group) and paravertebral block (TPVB group). The perioperative procedures in

both groups were similar and consistent with the Feofaniya Hospital's local protocols for this type of surgery. After admission to the operating room, venous access and standard monitoring including pulse oximetry, non-invasive blood pressure measurement, ECG and capnography were established for the patient. After establishing a peripheral intravenous line, diazepam 5 mg and non-steroidal anti-inflammatory drug (ketoprofen 100 mg) were administered for premedication. Then the appropriate block was performed in aseptic settings and under ultrasound guidance.

The pectoral nerve block was performed with the technique described by Blanco et al [17]. The ultrasound machine "General electric Logiq E" (GE Healthcare, Little Chalfont, United Kingdom) with a linear probe (8–15 MHz) was used to visualize the anatomical structures. The ultrasound probe was placed in the subclavian area perpendicular to the middle of the clavicle, where we visualized the pectoral muscles (major and minor). Then we moved the probe toward the armpit and at the level of the 4<sup>th</sup> rib until achieving the optimal ultrasound image. After that, in the aseptic settings and after skin infiltration with anaesthesia with lidocaine 1%, we injected 20 ml ropivacaine 0.375% between the pectoralis minor and serratus anterior muscles, using an in-plane technique and the needle Stimuplex D 50 mm (B. BraunMelsungen AG, Germany). Finally, after pulling up the needle, 10 ml ropivacaine 0.375% was injected into the space between the pectoralis major and minor muscles.

The paravertebral block was performed with the patient in the sitting position, at the level of thoracic vertebrae T3 and T4 under ultrasound guidance. The linear probe of the ultrasound machine General electric Logiq E (GE Healthcare, Little Chalfont, United Kingdom) was placed parallel to the spinous processes, 2.5–3 cm from the midline in the direction of the affected side. Then, under all aseptic precautions and after skin infiltration with lidocaine 1%, using an in-plane technique and the needle Stimuplex D 50 mm (B. BraunMelsungen AG, Germany), 20 ml ropivacaine 0.5%

**Tab. 1. Demographic and operative data.**

	<b>Pecs group</b>	<b>TPVB group</b>	<b>P-value</b>
<b>N</b>	30	30	
age	57.8 (± 11.6)	54.9 (± 11.31)	0.3368
weight	75.5 (± 13.24)	73.1 (± 12.29)	0.4696
mastectomy/quadrantectomy	14/16	13/17	0.7952
ASA I/II	11/19	9/21	0.5839
duration of operation, min	105.9 (± 36.4)	114.8 (± 29.33)	0.3013

The continuous data are presented as means (± squared deviations). The categorical variables are presented as numbers.

ASA – American Society of Anaesthesiologists, Pecs – pectoral nerve block, TPVB – thoracic paravertebral block

was slowly injected into the paravertebral space.

During and after performing the block, hemodynamic parameters (blood pressure, heart rate), respiration (capillary blood saturation, respiratory rate) and the patient's subjective sensations were monitored to control the intravascular administration of the local anaesthetic or its system resorptive effects. The time for performing the blocks, including all aseptic precautions, was recorded. After the block's procedure, the loss of tactile sensitivity in the dermatomes from T1 to T8 and according to the area of local anaesthetic distribution was assessed by pin-pricking with a sterile needle every 5 min while the patient was conscious. General anaesthesia was induced following 15–20 min with an injection of fentanyl 1–2 mg/kg and propofol 2 mg/kg. The airway patency was maintained by a laryngeal mask. The total intravenous anaesthesia was supported by a continuous infusion of propofol. Additional fentanyl 50 µg i.v. boluses were administered when we observed patient's motor reactions or when the heart rate or systolic blood pressure has increased by more than 20% from the baseline. After awakening, the patients were transported into the ward. Ketoprofen 100 mg i.v. was administered for pain relief when pain intensity was greater than 3 points by the Numerical rating scale (NRS) or after the patient's request. If the pain intensity remained above 3 points after ketopro-

fen administration, or if the patient was subjectively unsatisfied from this analgesia, then an opioid analgesic (20 mg promedol 2%) was administered intramuscularly for pain relief.

Postoperative pain was evaluated using NRS (0–10 points; 0 = no pain and 10 = worst imaginable pain) at rest at 0, 1, 2, 6, 12, 18 and 24 hours after the surgery (if the patient slept at the scheduled time, the assessment was not conducted). There was also noted a need for ketoprofen and promedol and the time to first administration of analgesics. Postoperative nausea and vomiting were evaluated using a four-point numerical scale (1 = no nausea, 2 = mild nausea, 3 = single vomiting, 4 = multiple vomiting). All possible block-related complications were recorded, too.

The obtained data were entered into a Microsoft Excel 2007 spreadsheet (Microsoft Corporation, USA). Program "STATISTICA 10.0" (StatSoftInc., USA) was used for statistical analysis. The Shapiro-Wilk test was used to check the normality of quantitative data distribution. In the study, non-normally distributed quantitative data are presented as medians and interquartile intervals. The Mann-Whitney U-test was used to determine the significance of the differences between groups (P-value). Normally distributed quantitative data are presented as the means and the squared deviation from the mean and the intergroup differences were analyzed using the independent-sample Student's t-test. The

**Tab. 2. Postoperative pain scores.**

	Pecs group	TPVB group	P-value
NRS 0	1 (0–1)	0 (0–1)	0.2249
NRS 1	1 (1–2)	1 (1–1)	0.1874
NRS 2	1.5 (1–3)	1 (1–2)	0.4021
NRS 6	1.5 (1–3)	2 (1–3)	0.6367
NRS 12	2 (1–3)	2 (1–3.5)	0.8615
NRS 18	1.5 (1–3)	2 (1–2)	0.4933
NRS 24	2 (1–2.5)	2 (1–2)	0.9618

The data are expressed as medians (interquartile range).

NRS – numerical rating scale, Pecs – pectoral nerve block, TPVB – thoracic paravertebral block

categorical data are presented as numbers and percentages, and the significance of the differences between groups was calculated using the Pearson's chi-square test. The P-values < 0.05 were considered statistically significant.

## Results

Sixty patients were enrolled in the study and randomized into two equal groups with no statistically significant differences in age, weight and duration of surgery. The quadrantectomy/mastectomy ratios were 14/16 in Pecs group and 13/17 in TPVB group (Tab. 1). The Pecs and TPVB blocks covered 4 (3.0–5.0) and 3 (2.0–4.0) dermatomes (P = 0.0017), respectively.

The difference in pain intensity in the postoperative period, assessed with NRS, was not statistically significant between the two groups (Tab. 2). The number of patients, who did not require any analgesia after surgery, was 10 in Pecs group and 9 in TPVB group (P = 0.793). The need for analgesia with ketoprofen was lower in Pecs group than in TPVB group, without statistical significance: 63.3 ( $\pm$  66.87) and 90.0 ( $\pm$  84.49) mg (P = 0.284). The number of patients who required promedol was lower in Pecs group: 6 (20%) vs. 8 (27%) (P = 0.542). The time to first analgesic administration was longer in Pecs group compared with TPVB group but the difference was not statistically significant: 550 (400.0–

600.0) and 510 (360.0–600.0) min (P = 0.5060), respectively. The rates and severity (max. score of 3 points) of nausea were higher in TPVB group than in Pecs group: 5 vs. 2 patients, respectively (P = 0.229) (Tab. 3). Two patients (6.7%) in TPVB group had perioperative complications. In the early postoperative period, one patient from TPVB group had signs of local anaesthetic system toxicity effects including convulsions and lowering of consciousness, which passed quickly after administration of 10 mg diazepam. Other patients had a significant blood pressure decrease after general anaesthesia induction and required norepinephrine infusion during surgery and in the early postoperative period. There were no complications in Pecs group.

## Discussion

This prospective randomized study showed that pectoral nerve block type II with 30 ml ropivacaine 0.375% has a similar analgesic effect as a thoracic paravertebral block with 20 ml ropivacaine 0.5% for breast cancer surgery. The pain intensity at rest, assessed using NRS, was comparable in both groups during the first 24 hours after surgery (Tab 2). Heterogeneous data about pain intensity were obtained in previous studies. Syal et al. obtained results with significantly higher scores of the pain intensity in the pectoral nerve block group, but it should be noted that in this study, they injected

**Tab. 3. Postoperative analgesic consumption, duration of the block procedure, dermatomal spread, rate of nausea.**

	Pecs group	TPVB group	P-value
duration of the block procedure, min	14.0 (12.0–16.0)	12.0 (10.0–15.0)	0.1355
number of involved dermatomes	4.0 (3.0–5.0)	3.0 (2.0–4.0)	0.0017
promedol (number of patients)	6 (20%)	8 (27%)	0.5416
ketoprofen, mg	63.3 ( $\pm$ 66.87)	90.0 ( $\pm$ 84.49)	0.2838
without analgesia (number of patients)	10/30 (33%)	9/30 (30%)	0.7932
time to first analgesia, min	550 (400.0–600.0)	510 (360.0–600.0)	0.5060
nausea, score 1/2/3/4 (number of patients)	28/2/0/0	25/3/2/0	0.2291

The continuous data are expressed as medians (interquartile range) or means ( $\pm$  squared deviation). The categorical variables are presented as numbers (%).

Pecs – pectoral nerve block, TPVB – thoracic paravertebral block

20 ml of local anaesthetic only instead of 30 ml for the block [10]. Kulhari et al reported the same pain intensity in both groups [8]. Wahba et al observed in their study lower NRS scores during the first 12 hours after the surgery in Pecs group, but during the period of 12–24 hours, the results were opposite [7]. We can note that in our study the pain intensity was lower than in similar ones, which may be related to the women's ethnic and cultural characteristics in our region. In general, breast cancer surgery is not associated with severe postoperative pain syndrome. Gerbershagen et al have compared in their study the pain intensity during the first day after 179 types of surgical intervention. Breast cancer surgeries, such as mastectomy and quadrantectomy with axillary lymph node dissection, were performed at 146 and 160 places [18].

In our study, 10 women in Pecs group (33%) and 9 women in TPVB group (30%) did not require any analgesia during the first 24 hours. Comparing the groups, the need for opioid and non-opioid analgesics in the postoperative period was lower in Pecs group, although without a statistically significant difference. In the most currently available studies, the postoperative need for opioids (patient-controlled morphine analgesia) was higher in TPVB group, with statistical significance in three studies [7,10,12] and without statistical significance in another one [19]. In the study of Syal et al, which compared fentanyl analgesia in the postoperative period, there was a greater need for opioids in Pecs group, but without statistical significance [10]. Although this study has the same results as most privies, we didn't achieve a statistically significant difference in postoperative analgesics requirement in the two groups. It could be because postoperative pain intensity was generally low, and the patients require less analgesia.

The time to first rescue analgesia was longer in Pecs group and the same results were observed in other previous studies [7,8,14,19]. In previous studies, the time after surgery to the first rescue analgesia varied due to the different plans of postoperative analgesia according to the study design. In our study,

we evaluated the time to first administration of either opioid or non-opioid analgesics.

The dermatomal spread after the Pecs block was significantly larger than after the paravertebral block, but it did not influence perioperative analgesia. The body's areas spread of Pecs block and TPVB are slightly different. After the administration into the paravertebral space at Th3–Th4 level, a local anaesthetic spreads more in the caudal and less in the cranial directions [20]. It blocks the intercostal nerves, their anterior and lateral skin branches, respectively. In this case, a local anaesthetic does not block the brachial plexus and supraclavicular nerves. Kulhari et al reported that single-shot administration of 25 ml ropivacaine 0.5% caused a sensory block for a median of three segments [10], and Cheema et al reported that 15 ml bupivacaine 0.5% blocked five segments [21]. In our study, the median spread of anaesthesia was also three segments for TPVB.

After performing the Pecs block and application of a local anaesthetic injection between the pectoralis major and minor muscles and between the pectoralis minor and serratus anterior muscles, we can expect a block of 4–6 lateral cutaneous branches of the intercostal nerves and four nerves from the brachial plexus (n. thoracodorsalis, n. thoracicuslongus, nn. pectoralis lateralis and medialis). An additional important factor is that a local anaesthetic moves into the axillary fossa, provides analgesia of the axillary lymph node dissection area and blocks nn. intercostobrachialis (T1–T2). This block does not anaesthetize the regions of supraclavicular nerves and anterior skin branches of intercostal nerves. Blanco et al described that the Pecs block anaesthetized four segments, which sometimes varied up to six segments [17]. Kulhari et al reported that after the injection of 15 ml of anaesthetic, the sensor block reached four segments [10]. In our study, the median spread of anaesthesia was five segments, which may be due to the local anaesthetic administration as much caudally as possible, over the 4<sup>th</sup> rib; we also used a larger volume of local anaesthetic

(20 ml) than Kulhari et al. In TPVB group, the patients did not have adequate analgesia in the axillary region; thus, they required more opioid analgesics during and after major surgeries, such as mastectomy. On the other hand, the pectoral nerve block provided effective analgesia for axillary lymph node dissection and adequately anaesthetized the lateral part of the mammary gland, but it did not work when the surgeons performed incision more medially and not always worked when the incision involved lower dermatomes.

The rate and intensity of postoperative nausea were higher in TPVB group, but without statistical significance. There were two patients with nausea (assessed with 2 points) in Pecs group, and five patients in TPVB group (two of them had 3-point nausea). It can be due to the fact that the patients in TPVB group got more opioids.

As well as in previous studies [7,8,10,19], no complications were observed after pectoral nerve blocks. Instead, in TPVB group, two patients had block-related complications (6.7%). One patient experienced a system resorptive effect of local anaesthetic, although we did not exceed the recommended safe doses for ropivacaine. The convulsions occurred after patient awakening during transportation from the operating room and were successfully treated by administration of 10 mg diazepam. Then this patient was under observation until the morning next day and she had not any health-related problems. Another patient had hypotension, which occurred after 15 min since the block performing, at the beginning of the general anaesthesia induction and required correction with small doses of norepinephrine during the surgery and the first two hours after the intervention. Tahiri et al reported in their meta-analysis that hypotension and bradycardia are the most common complications of TPVB in breast surgery, and the overall rate of complications, including pneumothorax and epidural local anaesthetic spreading, reaches up to 12% [22]. Thus, the safety profile of TPVB is better than the safety profile of Pecs block.

The present study has several limitations. First, the TPVB was performed at one Th 3–4 level only, as in most previous researches comparing the efficacy of these two techniques [7,8,14,19], although there is evidence that the analgesic effect is better when the TPVB is performed at several levels [23]. Second, two types of breast cancer surgery were included in the study – mastectomy and quadrantectomy, both with axillary lymph node dissection. We didn't record quadrantectomy location in Pecs group. As shown by Kim et al, postoperative opioid consumption after the Pecs block was significantly greater with tumors in the inner area of the breast than in the outer area [16]. The Pecs block produces anaesthesia of lateral cutaneous branch of intercostal nerves, medial quadrants of the breast are not anaesthetized. Third, postoperative analgesia was given “on-demand”, because we do not use patient control analgesia in wards setting. The patient control analgesia is better for a more precise estimation of opioids requires.

### Conclusions

The pectoral nerve block type II with ropivacaine 0.375% (Pecs block) provides efficacy which is comparable to the single-level thoracic paravertebral block (TPVB) analgesia during and after breast cancer surgery. These results allow considering this block as a good alternative to TPVB. Further larger studies are required to confirm these findings by reaching statistically significant evidence and to investigate the Pecs II effects on chronic pain development during a long-term period.

### References

1. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R et al. Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer* 2015; 136(5): 359–386. doi: 10.1002/ijc.29210.
2. Бюлетень Національного канцер-реєстру в Україні №20. Київ, 2019. [online]. Available from: [http://www.ncru.inf.ua/publications/BULL\\_20/PDF\\_E/42-43-mol.pdf](http://www.ncru.inf.ua/publications/BULL_20/PDF_E/42-43-mol.pdf).
3. Poleshuck EL, Katz J, Andrus CH et al. Risk factors for chronic pain following breast cancer surgery: a prospective study. *J Pain* 2006; 7: 626–634.
4. Rawal N. Current issues in postoperative pain management. *Eur J Anaesthesiol* 2016; 33: 160–171. doi: 10.1097/EJA.0000000000000366.
5. Wu J, Buggy D, Fleischmann E et al. Thoracic paravertebral regional anesthesia improves analgesia after breast cancer surgery: a randomized controlled multicentre clinical trial. *Can J Anaesth* 2015; 62(3): 241–251. doi: 10.1007/s12630-014-0285-8.
6. Das S, Bhattacharya P, Mandal MC et al. Multiple-injection thoracic paravertebral block as an alternative to general anaesthesia for elective breast surgeries: A randomised controlled trial. *Indian J Anaesth* 2012; 56(1): 27–33. doi: 10.4103/0019-5049.93340.
7. Wahba SS, Kamal SM. Thoracic paravertebral block versus pectoral nerve block for analgesia after breast surgery. [online]. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1110184913001141>.
8. Kulhari S, Bharti N, Bala I et al. Efficacy of pectoral nerve block versus thoracic paravertebral block for postoperative analgesia after radical mastectomy: a randomized controlled trial. *Br J Anaesth* 2016; 117: 382–386. doi: 10.1093/bja/aew223.
9. Siddeshwara A, Singariya G, Kamal M et al. Comparison of efficacy of ultrasound-guided pectoral nerve block versus thoracic paravertebral block using levobupivacaine and dexamethasone for postoperative analgesia after modified radical mastectomy: a randomized controlled trial. *Saudi J Anaesth* 2019; 13(4): 325–331. doi: 10.4103/sja.SJA\_25\_19.
10. Syal K, Chandel A. Comparison of the post-operative analgesic effect of paravertebral block, pectoral nerve block and local infiltration in patients undergoing modified radical mastectomy: a randomised double-blind trial. *Indian J Anaesth* 2017; 61(8): 643–648. doi: 10.4103/ijja.IJA\_81\_17.
11. Hetta DF, Rezk KM. Pectoralis-serratusinterfascial plane block vs thoracic paravertebral block for unilateral radical mastectomy with axillary evacuation. *J Clin Anesth* 2016; 34: 91–97. doi: 10.1016/j.jclinane.2016.04.003.
12. Versyck B, van Geffen GJ, Chin KJ. Analgesic efficacy of the Pecs II block: a systematic review and meta-analysis. *Anaesthesia* 2019; 74(5): 663–673. doi: 10.1111/anae.14607.
13. Tripathy S, Mandal I, Rao PB et al. Opioid-free anaesthesia for breast cancer surgery: a comparison of ultrasound guided paravertebral and pectoral nerve blocks. A randomized controlled trial. *J Anaesthesiol Clin Pharmacol* 2019; 35(4): 475–480. doi: 10.4103/Joacp.JOACP\_364\_18.
14. Annamalai G, Durairaj AK, Kailasam KR. Pectoral nerve block versus thoracic paravertebral block – comparison of analgesic efficacy for postoperative pain relief in modified radical mastectomy surgeries. [online]. Available from: [https://www.jemds.com/data\\_pdf/1\\_ashok%20kumar-jy%2027.pdf](https://www.jemds.com/data_pdf/1_ashok%20kumar-jy%2027.pdf).
15. Neethu M, Pandey RK, Sharma A et al. Pectoral nerve blocks to improve analgesia after breast cancer surgery: A prospective, randomized and controlled trial. *J Clin Anesth* 2018; 45: 12–17. doi: 10.1016/j.jclinane.2017.11.027.
16. Kim DH, Kim S, Kim CS et al. Efficacy of pectoral nerve block type II for breast-conserving surgery and sentinel lymph node biopsy: a prospective randomized controlled study. *Pain Res Manag* 2018; 2018: 4315931. doi: 10.1155/2018/4315931.
17. Blanco R, Fajardo M, Parras MT. Ultrasound description of Pecs II (modified Pecs I): a novel approach to breast surgery. *Rev Esp Anestesiol Reanim* 2012; 59: 470–475. doi: 10.1016/j.redar.2012.07.003.
18. Gerbershagen HJ, Aduckathil S, van Wijck AJ et al. Pain intensity on the first day after surgery: a prospective cohort study comparing 179 surgical procedures. *Anesthesiology* 2013; 118(4): 934–944. doi: 10.1097/ALN.0b013e31828866b3.
19. El-Sheikh SM, Fouad A, Bashandy GN et al. Ultrasound guided modified pectoral nerves block versus thoracic paravertebral block for perioperative analgesia in major breast surgery. *Medical Journal of Cairo University* 2016; 84: 189–195.
20. Marhofer D, Marhofer P, Kettner SC et al. Magnetic resonance imaging analysis of the spread of local anesthetic solution after ultrasound-guided lateral thoracic paravertebral blockade. *Anesthesiology* 2013; 118(5): 1106–1112. doi: 10.1097/ALN.0b013e318289465f.
21. Cheema SPS, Ilsley D, Richardson J et al. A thermographic study of paravertebral analgesia. *Anaesthesia* 1995; 50: 118–121. doi: 10.1111/j.1365-2044.1995.tb15092.x.
22. Tahiri Y, Tran DQ, Bouteaud J et al. General anaesthesia versus thoracic paravertebral block for breast surgery: a meta-analysis. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2011; 64(10): 1261–1269. doi: 10.1016/j.bjps.2011.03.025.
23. Kasimahanti R, Arora S, Bhatia N et al. Ultrasound-guided single- vs double-level thoracic paravertebral block for postoperative analgesia in total mastectomy with axillary clearance. *J Clin Anesth* 2016; 33: 414–421. doi: 10.1016/j.jclinane.2016.01.027.

# Atypický průběh typického karcinoidu plic

## Atypical course of typical lung carcinoid

Jakubíková L.

Klinika nemocí plicních a tuberkulózy, FN Brno

### Souhrn

**Východiska:** Karcinoidy byly v minulosti klasifikovány podle svého embryonálního původu, dnes jsou řazeny a klasifikovány jako neuroendokrinní nádory, které zahrnují níže maligní typické karcinoidy, středně maligní atypické karcinoidy a skupinu neuroendokrinních karcinomů, kam patří vysoce maligní velkobuněčné neuroendokrinní a malobuněčné karcinomy. Typický karcinoid je dříve užívaný termín pro současné označení neuroendokrinního nádoru stupně I, dobře diferencovaného, patřícího do skupiny vzácných nádorů s dobrou prognózou, s metastázami v méně než 15 %, s pětiletým přežitím ve více než 90 %, vzácně produkujícího serotonin. Ani u tohoto biologicky příznivého nádoru s poměrně nízkým stupněm metastazování nelze podcenit další dispenzarizaci. **Případ:** V následujícím sdělení je shrnuta klasifikace neuroendokrinních nádorů, jejich diagnostika a léčba, a v druhé části je pak uveden konkrétní případ pacienta se vznikem vícečetných metastáz původně typického plicního karcinoidu (stanovení histologie v době operace v roce 2012, v době používání této starší verze klasifikace pro neuroendokrinní tumory) s popisem jeho další léčby. **Závěr:** U dobře diferencovaných neuroendokrinních nádorů je nezanedbatelné riziko metastazování i přes jejich radikální odstranění, proto je nutná a zcela namísto jejich dispenzarizace.

### Klíčová slova

neuroendokrinní plicní nádory – oktreotid – everolimus

### Summary

Carcinoids have been classified according to their embryonic origin in the past and are now categorized and classified as neuroendocrine tumors, including low malignant typical carcinoids, moderate malignant atypical carcinoids, and highly malignant large cell neuroendocrine and small cell carcinomas. A typical carcinoid is a previously used term for the current designation of a grade I neuroendocrine tumor, well differentiated, belonging to a group of rare tumors with a good prognosis with metastasis of less than 15% with a five-year survival of more than 90%, rarely producing serotonin. Even this biologically favorable tumor with a relatively low degree of metastasis cannot be underestimated. **Case:** The following section summarizes the classification of neuroendocrine tumors, their diagnosis and treatment, and the second section presents a specific case of a patient with multiple metastases of an original lung carcinoid (histology at the time of surgery 2012, at the time of using this older version of neuroendocrine tumors) describing its further treatment. **Conclusion:** In well differentiated neuroendocrine tumors, there is a significant risk of metastasis despite their radical surgery; their dispensarization is therefore necessary.

### Key words

neuroendocrine neoplasm – octreotide – everolimus

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. Lenka Jakubíková

Klinika nemocí plicních

a tuberkulózy

FN Brno

Jihlavská 20

625 00 Brno

e-mail: babilen@seznam.cz

Obdrženo/Submitted: 26. 11. 2019

Přijato/Accepted: 11. 1. 2020

doi: 10.14735/amko2020302

## Úvod

Neuroendokrinní plicní nádory (neuroendocrine neoplasm – NEN) představují heterogenní skupinu vzácných nádorů, které se nacházejí v plicích. Podílí se asi 25 % na neuroendokrinních nádorech všech lokalizací. Embryonální původ mají z předního střeva. Incidence plicních NEN se pohybuje okolo 1,35 případů na 100 000 obyvatel. Jsou na druhém místě ve výskytu hned po neuroendokrinních nádorech v lokalizaci gastrointestinálního traktu (GIT). Neuroendokrinní nádory se mohou vyskytovat kdekoli v plicní tkáni. Pohlaví je zastoupeno rovnoměrně, ale ve věku nad 50 let jsou dvakrát častěji zastoupeny ženy. Jsou popisovány dva vrcholy věkového výskytu – mezi 15. a 25. rokem a mezi 65. a 75. rokem. Průměrný věk je 47 let. Atypické karcinoidy (středně diferencované neuroendokrinní nádory) se vyskytují u nemocných signifikantně starších. NEN stupně I a II (tedy typický a atypický karcinoid) jsou nejčastěji lokalizovány v hlavních a lobárních bronších, přibližně třetina je lokalizována na periferii (častěji u atypického karcinoidu). Podle toho, zda jsou schopny vyvolávat klinicky manifestní endokrinní projevy, je dělíme na funkčně aktivní a neaktivní [1].

## Klasifikace neuroendokrinních nádorů

Neuroendokrinní nádory plic jsou v 90 % funkčně (hormonálně) neaktivní, na rozdíl od GIT lokalizace. Jsou rozděleny na čtyři skupiny, od dobře a středně diferencovaných neuroendokrinních nádorů (typický karcinoid, atypický karcinoid) až po velmi agresivní nízké diferencované karcinomy (velkobuněčný neuroendokrinní karcinom – large-cell neuroendocrine carcinoma – LCNEC) a malobuněčný karcinom (small-cell carcinoma – SCLC). Jednotlivé typy NEN se mezi sebou liší lokalizací, biologickým chováním, klinickým obrazem, způsobem diagnostiky a léčebnými přístupy. Typický karcinoid a malobuněčný plicní karcinom jsou dva krajní póly ve škále NEN plic. Tvoří zcela odlišné, jasně vymezené a nezaměnitelné jednotky s velmi dobrou prognózou a pětiletým přežíváním více než 90 % na jedné straně u typického kar-

cinoidu a s velmi špatnou prognózou a mizivým procentem pětiletého přežití kolem 2 % na straně druhé u malobuněčného karcinomu. Mezi ostatními skupinami již tak ostré hranice nejsou, zejména co se týká biologického chování, odpovědi na protinádorovou léčbu a prognózy. Existuje „šedá zóna“ v přesné diagnostice a predikci biologického chování asi nejvíce mezi atypickým karcinomem a velkobuněčným neuroendokrinním nádorem, mezi velkobuněčným neuroendokrinním nádorem a malobuněčným karcinomem a v některých případech i mezi typickým a atypickým karcinoidem. Složitost dané problematiky je patrná i v tom, že ač je typický karcinoid nádorem s nízkým maligním potenciálem a velmi příznivou prognózou, v době diagnózy jsou až v 9 % přítomny metastázy v regionálních uzlinách a ve 4 % jsou dokonce přítomny vzdálené metastázy nebo dochází k jejich pozdějšímu vzniku. U atypického karcinoidu je uváděno postižení regionálních uzlin až v 36 % případů a vzdálené metastázy bývají přítomny až u 26 % nemocných. U velkobuněčného neuroendokrinního a malobuněčného karcinomu je postižení regionálních lymfatických uzlin uváděno v 60–80 % a vzdálené metastázy minimálně ve 40 % případů [1–3].

## Diagnostika neuroendokrinních nádorů

Diagnostika se opírá o patomorfologickou charakteristiku, imunohistochemické vyšetření a průkaz neuroendokrinní diferenciace. Mikroskopicky prokazujeme přítomnost neurosekrečních granul. Imunohistochemicky prokázaná pozitivita TTF-1 (thyroid transcription factor 1) potvrzuje primární původ v plicích. Chromogranin, synaptofyzin, CD56 a neurospecifická enoláza patří ke specifickým neuroendokrinním markerům, které lze vyšetřovat ve tkáních a kromě CD56 i v séru. V současnosti je třídění plicních NEN definováno na podkladě histologické klasifikace založené na mikroskopickém obrazu, počtu mitóz, přítomnosti a typu nekróz. Vyšetřením plicního resekátu je tedy nádor klasifikován a zařazen do jedné ze skupin s poměrně uspokojivou přesností [3,4]. Typický karcinoid dle

současné platné WHO klasifikace patří mezi neuroendokrinní nádory (neuroendokrinní tumor – NET) stupně I. Tyto nádory jsou dobře diferencovány, v mikroskopickém obraze mají organoidní vzhled a vytváří trabekulární rozetovité formace, nejsou v nich přítomny nekrózy a počet mitóz /2 mm<sup>2</sup> je < 2. Starší klasifikace atypického karcinoidu dnes patří do skupiny neuroendokrinního nádoru stupně II, jedná se o středně diferencované nádory s fokální přítomností nekróz [5]. V mikroskopickém obraze je popisován méně organoidní vzhled než u stupně I, je přítomna pleiomorfie a atypie jádra, počet mitóz se pohybuje od 3 do 10 /2 mm<sup>2</sup>. Velkobuněčný neuroendokrinní karcinom je dnes řazen do skupiny neuroendokrinních karcinomů (již ne nádor, ale karcinom) stupně III. Tyto karcinomy se vyznačují nízkou diferenciací, v mikroskopickém obraze chybí organoidní uspořádání, je přítomna výrazná pleiomorfie buněk a vysoký poměr jádro/cytoplazma, počet mitóz v NET III je > 10/2 mm<sup>2</sup> jak pro velkobuněčný neuroendokrinní, tak pro malobuněčný karcinom, který je rovněž řazen do stejné skupiny neuroendokrinních karcinomů stupně III, a jediné, co ho odlišuje od velkobuněčného neuroendokrinního karcinomu, je nízký poměr jádro/cytoplazma. Nepřesnost v diagnostice, a tím v odhadu biologického chování a prognózy může nastat, pokud je k vyšetření používán materiál cytologický nebo z malých histologických vzorků z mikroexcízi při bronchoskopickém vyšetření. Proliferační index Ki-67, udávající podíl proliferujících nádorových buněk, je používán jako standard u digestivních NEN k jejich lepší diferenciaci. U NEN plic se proto také doporučuje jeho přidání jako dalšího parametru k lepší predikci biologického chování nádoru a stratifikaci prognostických skupin. Jeden z navržených klasifikačních systémů zahrnujících i proliferační index Ki-67 se dále opírá o počet mitóz a přítomnost nekróz. Pro NET I musí být splněny dva ze tří parametrů: mitózy do 2/2 mm<sup>2</sup>, nepřítomnost nekróz a Ki-67 < 4. Pro NET II následující parametry: počet mitóz 2–47, nekrózy ≤ 10 % a Ki-67 4–25. Pro NET III (velkobuněčný neuroendokrinní a malobuněčný karcinom) je počet mitóz > 47,

nekrózy > 10 % a Ki-67  $\geq$  25. Na rozdíl od karcinomu plic se u neuroendokrinního plicního nádoru kromě morfologických metod ke stanovení rozsahu onemocnění používají i tzv. molekulární nebo funkční metody. Kombinace jednotlivých metod pak zvyšuje specifitu a senzitivitu vyšetření [6]. Histologické vyšetření získáváme pomocí bronchoskopie a zejména operace. Klinický obraz plicního neuroendokrinního nádoru zahrnují recidivující bronchopneumonie, kašel a hemoptýzy. V případě sekrece vasoaktivních peptidů (serotonin, bradykinin, tachykinin, histamin, substance P, prostaglandin, kalikrein atd.) jsou za klinický obraz odpovědné tyto substance, ale v případě plicních karcinoidů je jejich produkce poměrně vzácná. Skiagram hrudníku může zobrazovat perifernější, ostře ohraničené okrouhlé zastínění u NEN I a II, podobně CT. Dvě třetiny, zejména NEN I, rostou intrabronchiálně na úrovni hlavních a lobárních bronchů a přibližně třetina, zejména NEN II, je lokalizována periferněji v plicním parenchymu. Pokročilé karcinomy NEN stupně III jsou většinou lokalizovány centrálně s invazivním růstem a infiltrací do mediastina a jeho struktur [7].

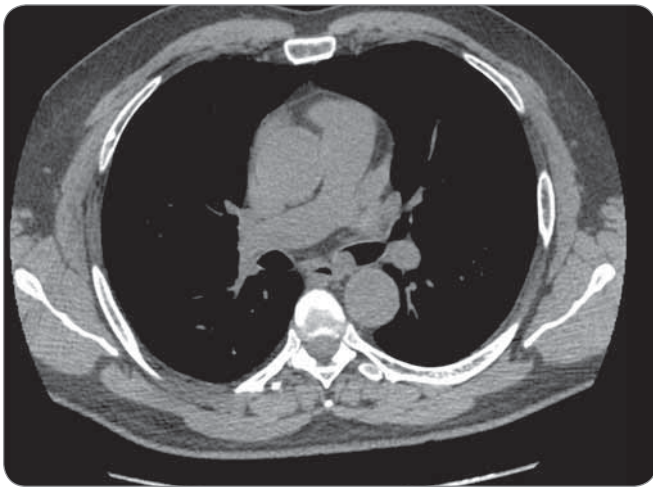
### Terapie neuroendokrinních nádorů

Dobře a středně diferencované NEN exprimují na buněčném povrchu somatostatínové receptory (SSTR), především typu 2 a 5. Toho se standardně využívá k hybridnímu vyšetření s využitím analogů SSTR (nejčastěji oktreotidu) v kombinaci s fotonovou emisní výpočetní tomografií (single-photon emission computed tomography – SPECT) a nízkodávkovanou výpočetní tomografií („low-dose“ CT). Potvrzení positivity SSTR je prediktorem některých léčebných postupů (analogy SSTR nebo peptidová radionuklidová receptorová terapie). V souvislosti s personalizovanou léčbou se diskutuje teranostika v nukleární medicíně, což je spojení diagnostiky a následné léčby NEN pomocí otevřených zářičů. Původně neradioaktivní peptid (analog oktreotidu, oktreotátu) je navázán na chelát a diagnostický nuklid gallium (Ga). Pokud je oktreotid ochotně vychytáván nádorovými buňkami, je

vysoce pravděpodobné, že u tohoto nádoru bude účinná radionuklidová peptidová receptorová terapie. Jako radionuklid je možné použít lutecium nebo yttrium, které působí jako otevřený beta-zářič, a pomocí chelátu jeho navázání na peptid, který má přímou afinitu k somatostatínovému receptoru [8]. Tato terapie by měla být indikována u pokročilých inoperabilních NEN stupně I a II s vysokou expresí SSTR, nízkou proliferativní aktivitou (Ki-67 < 20 %) anebo nevladatelnými symptomy z hormonální hypersekrece. V naší zemi není v současnosti tato metoda k dispozici, ale ve výjimečných případech lze tuto léčbu podstoupit na etablovaných pracovištích v zahraničí (Německo, Nizozemsko) po schválení úhrady pojišťovnou nebo s úhradou samotného pacienta. Jedná se ale o paliativní metodu, která zmírní symptomy nemoci, prodlouží přežívání, ale nevede k dlouhodobému vyléčení [9,10]. U dobře a středně diferencovaných neuroendokrinních nádorů je indikováno chirurgické řešení v případě operability. Je nutno zdůraznit, že i u dobře diferencovaných nádorů je indikován stejný rozsah plicní resekce s hilovou a mediastinální lymfadenektomií jako u nemalobuněčných plicních karcinomů. Lokalizace typického karcinoidu bývá často ve velkých dýchacích cestách a vynutí si někdy komplikovanější chirurgické zákroky, vč. resekce bronchů, bronchoplastik apod. [11]. U dobře a středně diferencovaných NEN plic je u přísně intraluminálně rostoucích nádorů indikována endobronchiální léčba a další sledování vč. pravidelných bronchoskopií. V některých případech se nezdáří radikální resekce nádoru, ale pokud mechanicky nebo funkčně způsobuje symptomy, je nutná i jeho částečná resekce s ponecháním rezidua nádoru. Totéž platí o jaterních metastázách NEN, kdy jejich resekce nebo termoablace může výrazně zmírnit symptomy onemocnění a prodloužit přežívání [12]. Adjuvantní léčba u radikálně odstraněných nádorů stupně I a II není rutinně doporučována, navrhuje se pouze sledování. U nízké diferencovaných NEN III (SCLC a LCNEC) je ale situace opačná, u tohoto typu není chirurgická léčba rutinně prováděna, jen pokud je nádor výjimečně

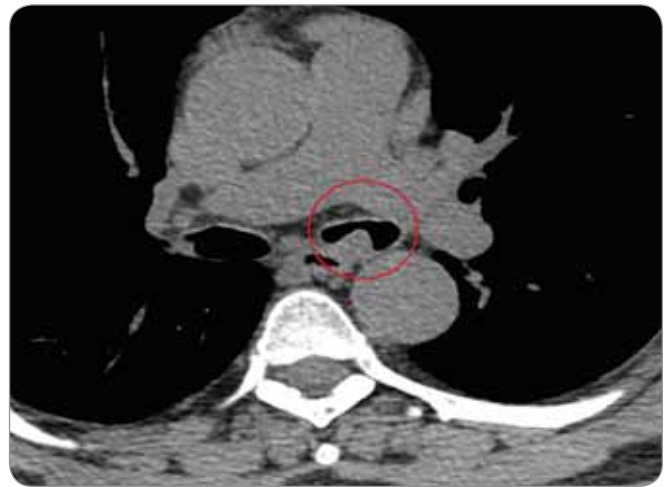
zachycen v nízkém klinickém stadiu a jedná se často o operace diagnostické a diagnosticko-kurativní. U tohoto typu NEN III ale vždy musí následovat adjuvantní chemoterapie a ozařování i přes nízké operační stadium. V pokročilém stadiu jsou tyto nádory NEN III léčeny systémovou chemoterapií a ozařováním. Zatímco u LCNEC je doporučena kombinace platinového derivátu s cytostatikem třetí generace jako u NSCLC, u SCLC je dosahováno zatím nejlepšího léčebného efektu kombinací platinového derivátu s etoposidem [13]. Léčba somatostatínovými analogy má symptomatický efekt tím, že blokáda SSTR zmírňuje symptomy vyvolané sekrecí hormonů a především serotoninu. U somatostatínových analogů byl prokázán i jejich protinádorový efekt, takže by měla být tato léčba zvažována u pokročilých progredujících NEN plic stupně I a II s pozitivním oktreoscánem a karcinoidním syndromem. Pokročilé neuroendokrinní nádory stupně I a II pro svou chemorezistenci a radiorezistenci nejsou primárně vhodné k systémové chemoterapii nebo ke klasické radioterapii. V posledních letech bylo dosaženo úspěchu v léčbě v případě pokročilosti těchto nádorů využitím cílené biologické léčby [14]. Jedná se o *m-TOR* (mammalian target of rapamycin) inhibitor – everolimus, který byl zkoušen v klinické studii fáze III – RADIANT-4. V této randomizované, placebem kontrolované studii bylo prokázáno statisticky významné prodloužení doby do progresu u nemocných s pokročilým nefunkčním gastroenteropankreatickým a plicním NEN stupně I a II. Primárním cílem studie byla doba do progresu (time to progression – TTP). Medián TTP byl podle nezávislého radiologického hodnocení 11,01 měsíce (95% CI; 9,2–13,3) u pacientů, kteří dostávali everolimus, ve srovnání s 3,9 měsíce (95% CI, 3,6–7,4) u pacientů, kteří dostávali placebo (HR 0,48, 95%CI; 0,35–0,67). Everolimus zlepšil medián TTP o 5,6 měsíce a byl spojen s 50% snížením rizika progresu nebo úmrtí onemocnění. Podle hodnocení zkoušejícího byl medián TTP 13,8 měsíce (95% CI; 9,3–22,2) u pacientů, kteří dostávali everolimus, ve srovnání s 3,5 měsíce (95% CI, 1,9–5,6) u pacientů, kteří dostávali pla-





**Obr. 1. Transverzální CT hrudníku.**

V místě levého bronchu je patrná patologická ostře ohraničená hmota.



**Obr. 2. Detail patologie na CT – karcinoid vyrůstající v levém hlavním bronchu.**

cebo (HR 0,23, 95% CI; 0,13–0,41). U více pacientů, kteří dostávali everolimus (57,9 %), došlo ke zmenšení nádoru ve srovnání s těmi, kteří dostávali placebo (13,0 %). V České republice je tento lék registrován, ale úhrada pro pokročilé nefunkční neuroendokrinní nádory plic stupně I a II nebyla dosud stanovena, je nutno žádat pojišťovnu.

### **Případ pacienta s typickým karcinoidem (NET stupně I)**

Na našem pracovišti začal být v červenci roku 2010 vyšetřován pro dechové potíže 59letý muž, kuřák, dosud anamnesticky sledovaný jen pro poruchou glukózové tolerance. Pacient byl odeslán k plicnímu vyšetření pro rok se zhoršující námahovou dušnost, dráždivý kašel a intermitentní hemoptýzy. Na zadopředním i levém bočním skiagramu hrudníku nebyla zjištěna patologie, pro udávanou hemoptýzu byla indikována bronchoskopie, při které byl zjištěn pružný, mírně undulující červený nádorový útvar v hlavním bronchu vlevo, na mediální stěně, 3 cm pod hlavní karinou. Následovalo CT vyšetření hrudníku (obr. 1, 2), kde byl vlevo v průběhu hlavního bronchu patrný široký přisedlý polyp 12 mm vysoký, redukující průsvit levého hlavního bronchu na 10–20 %. Při CT vyšetření byla provedena i 3D rekonstrukce virtuální bronchoskopie (obr. 3, 4), pomocí které můžeme sledovat postupně řezy zobrazení v jednotlivých etážích bronchiálního větvení, tak jak mohou být pa-

trny i při klasické bronchoskopii. Histologická klasifikace odebraného materiálu z bronchoskopie provedené v červenci 2010 byla vyhodnocena jako typický karcinoid. Byl doplněn oktreotidový scan, při kterém bylo provedeno plánární vyšetření a SPECT krku, hrudníku, břicha a pánve za 3 a 24 a 48 hod po aplikaci. Druhý den vyšetření bylo patrně menší nevyrazné ložisko v levém hlavním bronchu za jeho odstupem, ostatní sledované oblasti byly bez abnormální distribuce radiofarmaka. Vzhledem k endobronchiálnímu nálezu a symptomům bylo nejprve provedeno laserové ošetření nádoru. Velká část nádoru byla snesena mechanicky + laser (byla použita špice rigidního instrumentária, kleště, laser minim. 6x, energie 40 W). V říjnu 2010 následovala u pacienta operace cestou thorakotomie, během operace byl příčně naříznut levý hlavní bronchus v místě očekávaného tumoru, peoperačně ale nebyly zjištěny známky nádoru, proto bylo pomocí bronchoskopu označeno místo vymezující rozsah resekce. Následně bylo resekováno 25 mm části levého hlavního bronchu, po mobilizaci okrajů byla provedena anastomóza a současně provedena mediastinální lymfadenektomie. Makroskopicky byl získán resekat bronchu délky 27 mm a průměru 15 mm. V centru resekatu byl zastížen ovoidní tumor, opouzdřený, velikosti 10 × 8 × 11 mm. Tumor infiltroval stěnu bronchu, z části promíchnoval do lumen. Mikroskopicky byl po-

tvrzen typický karcinoid, všechny odebrané lymfatické uzliny (celkem 15) byly bez postižení nádorem, patologem byl histopatologický nález hodnocen jako pT1pN0, ale dle původní lokality karcinoidu 3 cm distálně od bifurkační kariny v levém hlavním bronchu byla správná klasifikace pT2 i přes malý rozměr nádoru vzhledem k jeho centrální lokalitě. Pacient byl nadále sledován. V lednu 2013 byla zjištěna elevace chromograninu A na hodnotu 196 µg/l (norma ≤ 50 µg/l), po dobu předchozího sledování byla tato hodnota vždy v normálním rozmezí. Následně byl proveden oktreotidový scan, CT vyšetření hrudníku a horní části břicha a bronchoskopie, nebyla zjištěna patologie, pacient byl nadále sledován. Vyšetření byla opakována s odstupem 3 měsíců pro trvale zvýšenou hodnotu nádorového markeru (chromogranin A 233 µg/l). Při dalším CT vyšetření hrudníku vč. břicha se v retroperitoneu zobrazila expanzivní léze parakaválně v úrovni vtoku renálních žil velikosti 55 × 35 × 62 mm, centrálně bylo přítomno nízké sycení, celý útvar komprimoval vena cava inferior (obr. 5). Oktreotidový scan koreloval s CT nálezem, jinde aktivita zjištěna nebyla. V říjnu 2013 byla provedena exstirpace tohoto patologického infiltrátu z retroperitonea, makroskopicky se jednalo o expanzi 50 × 50 × 62 mm, histologicky se jednalo dle aktuální klasifikace o neuroendokrinní tumor stupně II (v klinickém korelátu byla patologem připuštěna

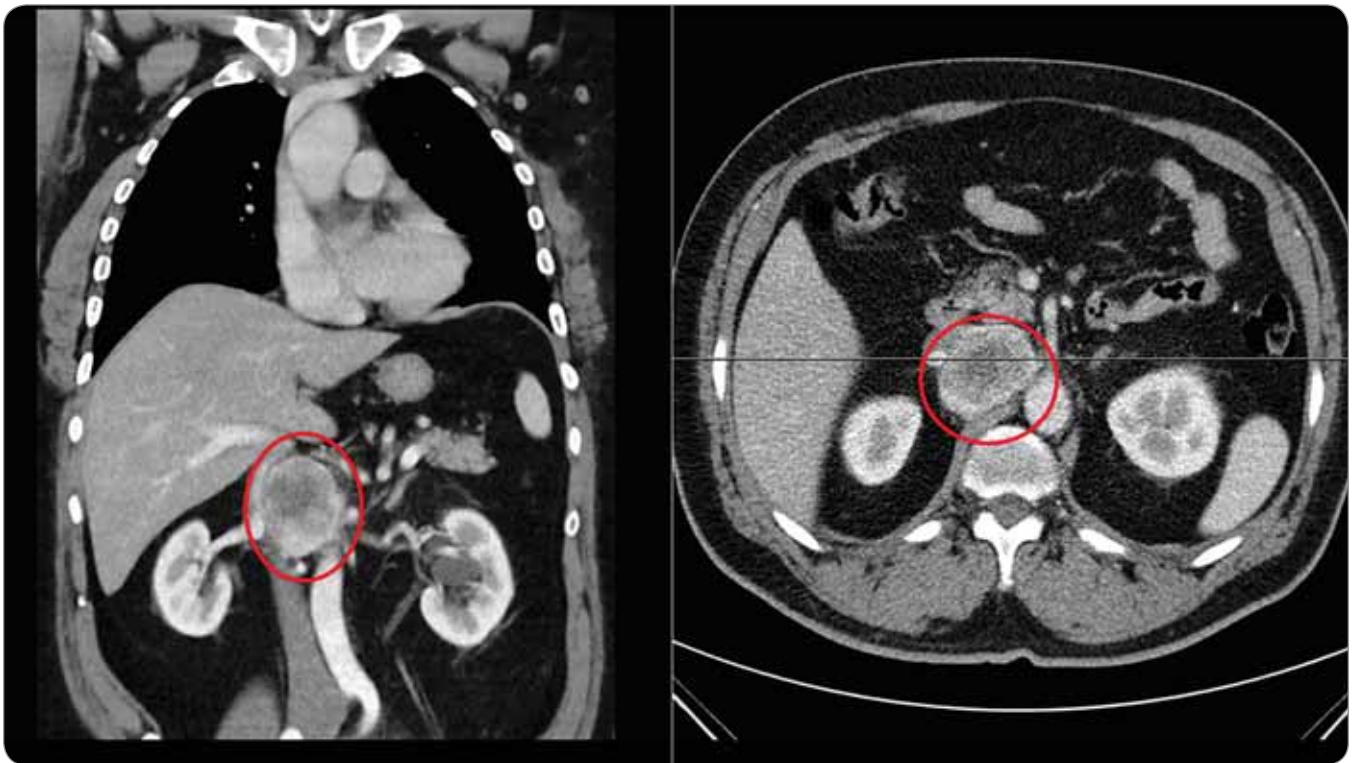
možná metastáza původního typického karcinoidu). Na CT před operací byly popisovány četnější uzliny podél cév retriperitonea a v mezenteriu obvyklého CT obrazu do velikosti 12 × 6 mm, jejich negativita byla potvrzena histologicky. Pacient byl nadále sledován bez systémové léčby. Hladina chromograninu se po odstranění ložiska z dutiny břišní zcela normalizovala. Pacient byl bez potíží až do listopadu 2018, kdy u něj začaly bolesti břicha pod mečíkem a došlo opět k významnému nárůstu hladiny chromograninu na 841,9 µg/l (v té době bylo nové referenční rozmezí s normou 0–85 µg/l). Při CT vyšetření hrudníku a břicha byla zjištěna progresivní zvětšení lymfatických uzlin – v okolí kovových klipů byly patrné zvětšené kulovité uzliny s nekrotickým středem, obklopující pravou ledvinou žílu, místy splývající, v rozsahu cca 41 × 43 mm, v tomto terénu byla patrná jedna nápadně se sytící kulovitá léze 13 mm, zde byl nálezný radiologicky hodnocen jako možná recidiva neuroendokrinního tumoru. Nově byla popsána i ložiska obou nadledvin a suspektní cirkulární rozšíření stěny bulbu duodena, byly patrné drobné hypodenzity jater do 5 mm a byla zjištěna osteolytická léze pravého pediklu třetího hrudního obratle, suspektně i levého pediklu dvanáctého hrudního a prvního bederního obratle. Při planárním oktreotidovém scanu vč. SPECT krku, hrudníku, břicha a pánve za 4 a 24 hod po aplikaci byla diagnostikována vícečetná ložiska patologicky zvýšené aktivity ve skeletu – v pravostranných výbězcích třetího krčního obratle, v těle sedmého hrudního obratle, v pravostranném pediklu třetího bederního obratle, ve ventrální části lopaty kosti kyčelní vlevo, v diafýze pravého femuru, dále byla zjištěna patologicky zvýšená aktivita v uzlině velikosti 22 × 11 mm uložené mezi aortou a vena cava inferior v úrovni těla druhého bederního obratle. Nálezy byly hodnoceny jako metastatické postižení skeletu, lymfatických uzlin retroperitonea i možné jaterní metastázy (dle CT velikostně pod rozlišovací schopnost scintigrafického vyšetření) při generalizaci neuroendokrinního nádoru, s výraznou elevací chromograninu. U nemocného byla zahájena terapie somatostatino-



Obr. 3. 3D-rekonstrukce CT virtuální bronchoskopie.



Obr. 4. Pohled na hlavní bifurkační karinu a do obou hlavních bronchů. Vlevo je patrná obturace patologickou tkání.



**Obr. 5. CT břicha.**

Expanzivní léze parakaválně v úrovni vtoku renálních žil vel. 5 × 50 × 62 mm, komprimující vena cava inferior.

vými analogy (SSA) – sandostatinem – a současně pravidelná aplikace denosumabu pro metastatické postižení skeletu a v březnu 2019 byla provedena paliativní zevní radioterapie na oblast postižení krční a hrudní páteře. V současné době je pacient nadále na aktivní léčbě SSA a denosumabem. Při této léčbě dochází k poklesu hladiny chromograninu na 260, nález v dutině břišní se výrazněji nemění, neprogreduje. Pacient je nadále v dobrém klinickém stavu.

### Diskuze k případu

Nemocný byl v době diagnózy v odpovídající věkové kategorii nad 50 let s nejčastější incidencí neuroendokrinních nádorů, měl poměrně typickou anamnézu kašle a opakovaných hemoptýz bez jednoznačného RTG korelátu, příčinu potíží rychle objektivizovalo bronchoskopické vyšetření. U plicních neuroendokrinních nádorů má bronchoskopické vyšetření zcela nezastupitelnou roli vzhledem k časté lokalizaci NEN na úrovni lobárních a hlavních bronchů, což byl i případ našeho pacienta. U dobře diferencovaného NEN rostoucího jen endobronchiálně může být jako definitivní

léčebná možnost využita bronchoskopická intervence se snesením tumoru a dalším sledováním [12]. U našeho pacienta mohl být endobronchiální nález ještě opakovaně ošetřován laserem, ale toto řešení se nejevilo jako zcela dostatečné a hrozilo riziko tepelného poškození bronchiální stěny a vznik pneumomediastina. Byla indikována radikální resekce pro nejednoznačný nález rozsahu postižení stěny hlavního bronchu, ačkoli dle CT byla mimobronchiální invaze vyloučena. Během operace při naříznutí hlavní stěny bronchu operátorem nebylo jednoznačně makroskopicky možné určit postiženou oblast bronchu, proto byl na operační sál povolán broncholog a ten byl schopen sterilním bronchoskopem přesně označit postiženou část lumen hlavního bronchu. Následovala resekce části hlavního bronchu a anastomóza obou okrajů hlavního bronchu – bronchoplastika. Další sledování nemocného bylo pomocí bronchoskopických kontrol, odběrů chromograninu a zobrazovacích metod po dobu téměř 3 let bez pozoruhodností. Kvůli laboratornímu zvýšení chromograninu bylo pátráno po možné recidivě a ta byla

po opakovaném vyšetření zjištěna mimo hrudník v oblasti retroperitonea v blízkosti vena cava inferior. Byla provedena resekce tumoru histologicky odpovídající NET stupně II, původně tumor resekovaný z hrudníku koreloval s typickým karcinoidem, tedy NET stupně I dle aktuální klasifikace. Je možné usuzovat, že došlo k určité transformaci tohoto typu NET u pacienta a zvýšení maligního potenciálu metastázy původního neuroendokrinního nádoru stupně I na stupeň II. V obou případech byl k dispozici dostatek tkáně k histologickému vyšetření. Pacient přežívá 9. rokem od doby diagnózy, s první recidivou po 3 letech a další již inoperabilní recidivou po dalších 5 letech od zjištění první metastázy. Onkologickou systémovou léčbu podstupuje až od ledna 2019 s dosud trvajícím dobrým efektem. V případě progresu je plánováno požádání o zvýšenou úhradu na everolimus.

### Závěr

Neuroendokrinní nádory představují značně heterogenní skupinu s různou prognózou, výrazně se horší se stupněm diferenciací. Typický karcinoid je

sice nádorem s nízkým maligním potenciálem a poměrně příznivou prognózou, ale až v 9 % jsou v době diagnózy přítomny metastázy v regionálních uzlinách, ve 4 % jsou dokonce přítomny vzdálené metastázy nebo dochází k jejich pozdějšímu vzniku. To snižuje přežívání nemocných s typickým karcinoidem z 90 na 27 % [15–17]. U dobře diferencovaných neuroendokrinních nádorů je nezanedbatelné riziko metastazování i přes jejich radikální odstranění, proto je nutná a zcela namístě jejich dispenzarizace.

### Literatura

- Sedláčková E, Bajčiová V et al. Neuroendokrinní nádory, 1. vydání. Praha: Maxdorf 2016: 180–199.
- Pelosi G, Sinzogni A, Harari S. Classification of pulmonary neuroendocrine tumors: new insights. [online]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5653522/>.
- Travis W, Brambilla E, Burke A et al. WHO classification of tumours of the lung, pleura, thymus and heart. 4th Ed. Lyon: IARC Press 2015.
- Travis WD, Brambilla E, Nicholson AG et al. The 2015 World Health Organization classification of lung tumors: Impact of genetic, clinical and radiologic advances since the 2004 classification. *J Thorac Oncol* 2015; 10(9): 1243–1260. doi: 10.1097/JTO.0000000000000630.
- Caplin ME, Baudin E, Ferolla P et al. Pulmonary neuroendocrine (carcinoid) tumors: European Neuroendocrine Tumor Society expert consensus and recommendations for best practice for typical and atypical pulmonary carcinoids. *Ann Oncol* 2015; 26(8): 1604–1620. doi: 10.1093/annonc/mdv041.
- Hendifar AE, Marchevsky AM, Tuli R. Neuroendocrine tumor of the lung: Current challenges and advances in the diagnosis and management of well-differential disease. *J Thorac Oncol* 2017; 12(3): 425–436. doi: 10.1016/j.jtho.2016.11.2222.
- Tomášková M, Jakubíková L, Kadlec B. Neuroendokrinní plicní nádory. [online]. Dostupné z: <https://onkologickarevue.cz/cs/neuroendokrinni-plicni-nadory>.
- Tomášková M, Venclíček O, Skříčková J. Karcinoid plic. In: *Základy moderní pneumoonkologie*. 2. rozš. vyd. Praha: Maxdorf 2017: 393–403.
- Sedláčková E, Bajčiová V et al. Neuroendokrinní nádory. 1. vyd. Praha: Maxdorf 2016: 156–163.
- Papamichail DG, Exadaktylou PE, Chatzipavlidou VD. Neuroendocrine tumors: Peptide receptors radionuclide therapy (PRRT). *Hell J Nucl Med* 2016; 19(7): 75–82.
- Horažďovský P, Hytych V, Hromádka P. Chirurgická léčba neuroendokrinních nádorů plic. In: *Neuroendokrinní nádory plic a mediastina*. Praha: Maxdorf 2014: 93–115.
- Venclíček O, Tomášková M, Skříčková J. Karcinoid plic. In: *Základy moderní pneumoonkologie*. Praha: Maxdorf 2012: 336–345a.
- Kadlec B, Skříčková J. Léčba malobuněčného karcinomu plic. In: *Základy moderní pneumoonkologie*. Praha: Maxdorf 2012: 203–211.
- Fazio N, Buzzoni R, Dekke Fave G et al. Everolimus for the treatment of advanced, non-functional neuroendocrine tumours of the lung or gastrointestinal tract (RADIAN-4) lung subgroups analysis. *Cancer Sci* 2018; 109(1): 174–181. doi: 10.1111/cas.13427.
- den Bakker MA, Thunnissen FB. Neuroendocrine tumours-challenges in the diagnosis and classification of pulmonary neuroendocrine tumours. *J Clin Pathol* 2013; 66(10): 862–869. doi: 10.1136/jclinpath-2012-201310.
- Travis WD. Advances in neuroendocrine lung tumors. *Ann Oncol* 2010; 21 (Suppl 7): vii65–vii71. doi: 10.1093/annonc/mdq380.
- Kunz PL. Carcinoid and neuroendocrine tumors: building on success. *J Clin Oncol* 2015; 33(16): 1855–1863. doi: 10.1200/JCO.2014.60.2532.

# Akademická studie XR-TEMinDREC – kombinace konkomitantní neoadjuvantní chemoradioterapie následované lokální excizí operačním rektoskopem a akcelerovanou dispenzarizací u pacientů s mírně pokročilými stadii nízce sedícího adenokarcinomu konečníku a její průběh v MOÚ

Academic Study XR-TEMinDREC – Combination of the Concomitant Neoadjuvant Chemoradiotherapy Followed by Local Excision Using Rectoscope and Accelerated Dispensarisation and Further Treatment of the Patients with Slightly Advanced Stages of Distant Localized Rectal Adenocarcinoma in MOÚ

Ondrák M.<sup>1,2</sup>, Fiala L.<sup>1</sup>, Pospíšil P.<sup>3</sup>, Kocáková I.<sup>4</sup>, Pacal M.<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Klinika operační onkologie MOÚ Brno

<sup>2</sup> Klinika operační onkologie LF MU Brno

<sup>3</sup> Klinika radiační onkologie LF MU a MOÚ Brno

<sup>4</sup> Klinika komplexní onkologické péče LF MU a MOÚ Brno

<sup>5</sup> Oddělení radiologie, MOÚ Brno

## Souhrn

**Východiska:** Miniinvazivní přístupy jsou v chirurgii dlouhodobým trendem. Dlouhodobým cílem je maximální možné zachování kvality života po léčbě zhoubného nádoru konečníku. Adekvátní radikalita operačního výkonu je dlouhodobá nutnost. U nízce uloženého zhoubného nádoru konečníku je někdy velmi těžké naplnit všechny výše jmenované požadavky. Aplikací multioborového přístupu v léčbě mírně pokročilých stadií nízce sedícího zhoubného nádoru konečníku je možné vybrané skupině pacientů splňující přísná indikační kritéria nabídnout léčebný postup, jehož výsledkem je zachování přirozené pasáže. Naše výsledky dokumentujeme vzhledem k malému počtu pacientů na několika zajímavých kazuistických případech. **Případy:** Dispenzarizujeme pacienta s ideálním průběhem léčby, downstagingem po neoadjuvantní léčbě, nekomplikovanou operací a pooperačním průběhem a dlouhodobou remisí; dále pacienta s pooperační dehiscencí sutury rekta sekundárně zhojenou a s následnou dlouhodobou remisí onemocnění. Pacientka, u které došlo v pooperačním období k vytvoření rektovaginální píštěle mimo operovanou oblast byla následně operována, provedli jsme abdominoperineální amputaci rekta a v definitivním histologickém nálezu byla prokázána radikalita lokální excize a vyloučena lymfangioinvasze, přesto však detekována pozitivní perirektální uzlina. Limity v diagnostice zobrazovacími metodami dokazuje poslední kazuistika. Jaterní ložiska, která byla v rámci stagingu popsána jako benigní, byla ve skutečnosti jaterními metastázami časného karcinomu rekta. **Závěr:** Kombinace neoadjuvantní chemoradioterapie a lokální excize pomocí operačního rektoskopu u T2 N0 karcinomu rekta se dle dostupných celosvětových dat jeví jako bezpečná alternativa k resekcímu výkonu s totální mezorektální excizí. Je ale třeba dalších studií s větším počtem zařazených pacientů, optimálně randomizovaných a prospektivních, které by tato tvrzení podpořily.

## Klíčová slova

karcinom rekta – TEM – neoadjuvantní léčba – stomie

Podpořeno MZ ČR – RVO (MOÚ, 00209805).

Supported by MH CR – DRO (MOÚ, 00209805).

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

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

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

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



MUDr. Martin Ondrák, Ph.D.  
Klinika operační onkologie  
MOÚ Brno  
Žlutý kopec  
656 53 Brno  
e-mail: ondrak@mou.cz

Obdrženo/Submitted: 11. 1. 2020

Přijato/Accepted: 9. 2. 2020

doi: 10.14735/amko2020309

## Summary

**Background:** Miniinvasive approaches are a long-term trend in surgery. Maximum possible quality of life after treatment of rectal cancer is a long-term goal. Adequate radicality of surgery is a long-term necessity. It is sometimes very difficult to fulfill all the above-mentioned requirements in low-level rectal cancer. By applying a multidisciplinary approach in the treatment of mildly advanced stages of low-seated malignant rectal tumor, a treatment procedure resulting in continence preserving can be offered to a selected group of patients meeting the strict indication criteria. We document our results with respect to a small number of patients in several interesting case reports. **Cases:** We are following up one patient after ideal treatment course achieving downstaging after neoadjuvant treatment, with uncomplicated operation and after operation period and with a long-term complete remission. One patient achieved dehiscence of the rectum suture. After secondary healing we observed a long-term remission. In one patient a rectovaginal fistula developed outside the operation site. We were forced to abdominoperineal amputation. The pathological investigation of the specimen proved radicality of the local excision and lack of lymphovascular invasion; nevertheless, a positive perirectal lymph node was found. The last case report shows the limits of imaging diagnostics. The liver lesions described as benign were in fact liver metastases of the early rectal cancer. **Conclusion:** According to the worldwide data available, the combination of neoadjuvant chemoradiotherapy and local excision by means of an operative rectoscope is a safe alternative to a resection surgery with total mesorectal excision in T2N0 rectal cancer. However, there is a need of other studies with more patients included, optimally randomized and prospective ones, which will support these claims.

## Key words

rectal cancer – TEM – neoadjuvant treatment – stoma

## Úvod

Miniinvasivita a multioborový přístup jsou standardní trendy onkochirurgické léčby pacientů. V léčbě maligních nádorů rekta jsou uplatňovány již dlouhá léta. S časem a nabývanými novými poznatky se však mění indikace k jednotlivým léčebným modalitám vzhledem k různým stadiím onemocnění, preferencím pacienta a individualizaci léčby. Obecně lze pozorovat trend redukce podávání neoadjuvantní léčby v časnějších stadiích zhoubného onemocnění. Vyplývá to z dat, která neprokázala delší přežití bez nemoci ani celkové přežití [1,2].

Naproti tomu můžeme zaznamenat využití neoadjuvantních léčebných modalit u pacientů, u kterých vzhledem ke stadiu onemocnění dříve indikovány nebyly. Cílem je umožnit minimálně invazivní výkon v rozsahu, který má na kvalitu života pacienta pokud možno co nejmenší dopady [3].

Typickým příkladem jsou níže sedící zhoubné nádory konečnicku stadia cT2 N0 M0 nebo cT1 N1 M0 neinfiltující anální svěrače. Podle současných doporučení je u těchto pacientů indikováno radikální operační řešení s totální mezorektální excizí. Vzhledem k lokalizaci nádoru v aborální části konečnicku to však v důsledku znamená abdominoperineální amputaci s konstrukcí trvalého tlustostřevního vývodu.

Několik pracovišť začalo v rámci klinických studií na půdorysu multioborové

spolupráce uplatňovat léčebnou strategii, která by měla pacientům s lokálně nepokročilým, ale níže sedícím karcinomem umožnit vyhnout se abdominoperineální amputaci rekta. Publikované výsledky zatím potvrzují, že u selektované skupiny nepokročilých karcinomů rekta nemá radikální operační výkon z hlediska lokální recidivy ani dlouhodobého přežívání lepší výsledky než kombinovaná metoda předoperační chemoradioterapie následovaná minimálně invazivním lokálním zákrokem pomocí operačního rektoskopu. Akcelerovaná follow-up umožňuje navíc časný záchyt případné lokální recidivy a včasné indikování salvage radikalizujícího chirurgického výkonu [4–6].

Masarykův onkologický ústav nabízí komplexní péči o pacienty s kolorektálním karcinomem vč. všech dostupných modalit chirurgické léčby zahrnující laparotomické, laparoskopické, robotické i transanální operační přístupy. Proto jsme se rozhodli v rámci akademické studie nabídnout vybraným pacientům splňujícím přísná indikační kritéria i tuto variantu léčby zhoubného nádoru rekta.

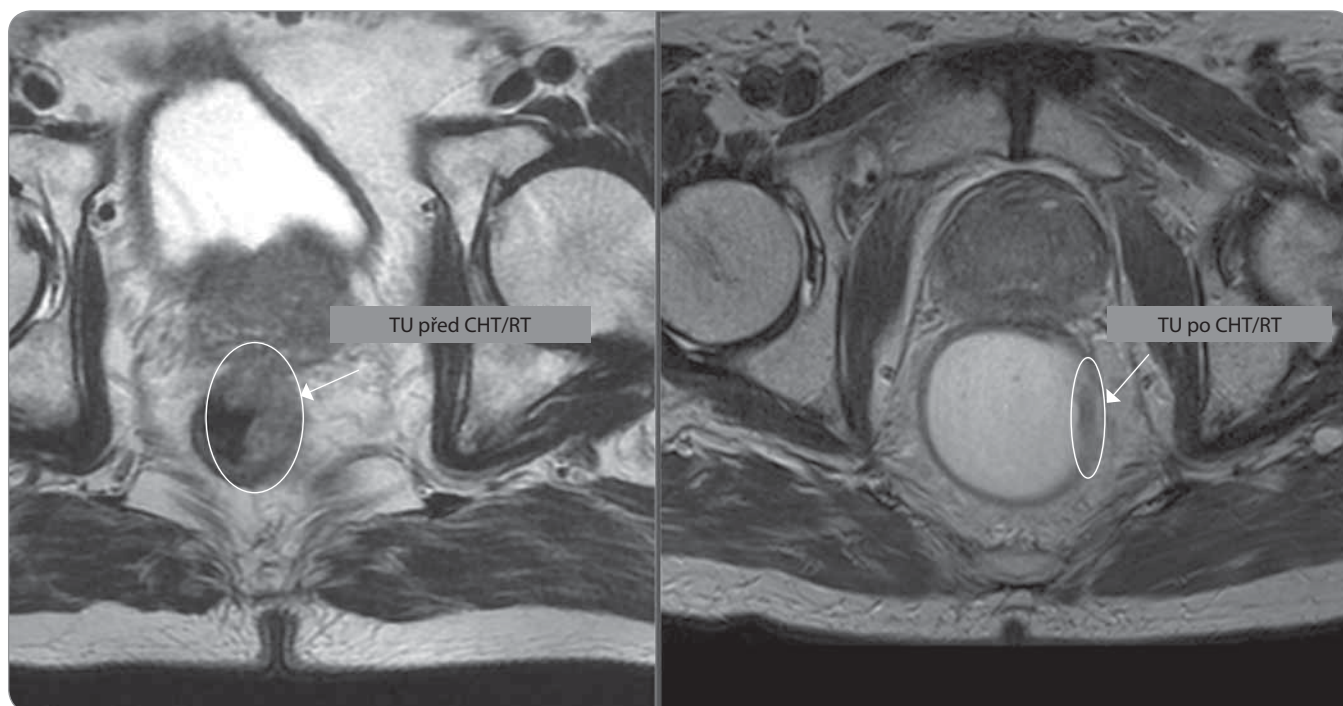
Vstup do studie nabízíme pacientům se zhoubným nádorem rekta, u kterých by radikální operační výkon s totální mezorektální excizí znamenal abdominoperineální amputaci rekta s konstrukcí trvalého tlustostřevního vývodu. Dále musejí splňovat kritérium iničiálního stadia cT2-3N0-1M0 a zároveň ycT2-3N0 M0

po absolvování neoadjuvantní léčby stadia. Rozhodující pro indikaci k vstupu do studie je samozřejmě informovaný souhlas pacienta s léčbou a následnou akcelerovanou dispenzarizací.

Iničiální vyšetření před indikací vstupu do studie zahrnuje kolonoskopické vyšetření, rektoskopické vyšetření, histologickou verifikaci zhoubného nádoru, transanální ultrazvuk, magnetickou rezonanci pánve, vyšetření hrudníku a břicha výpočetní tomografií a odběr nádorových markerů. Operující chirurg posoudí, zda je technicky možný lokální zákrok. Následuje neoadjuvantní chemoradioterapie s kapecitabinem (dávka 825 mg/m<sup>2</sup> 2× denně) a ozáření (5 dní v týdnu při denní dávce 1,8 Gy) po dobu 5 týdnů až do dávky 45 Gy, následované boostem 5,4 Gy do celkové dávky 54 Gy.

Za 8–10 týdnů od ukončení radioterapie následuje operace. Před samotným operačním výkonem pacient podstoupí přešetření a potvrzení indikace lokálního endoskopického výkonu. Samotný operační výkon probíhá transanální endoskopickou mikrochirurgickou technikou (TEM) za pomoci operačního rektoskopu. Resekuje se nádor s bezpečnostním lemlem makroskopicky zdravé tkáně v rozsahu celé stěny rekta s následnou suturou stěny v jedné vrstvě.

Po zhodnocení histologického závěru pacienty zařazujeme buď do skupiny akcelerované follow-up, nebo k radikalizujícímu operačnímu výkonu. Sledujeme pacienty, u kterých nebylo histopatolo-



Obr. 1. Detekce nádoru na T2 axiálním řezu před neoadjuvatní CHT/RT (vlevo) a následně po ní (vpravo).  
 CHT – chemoterapie, RT – radioterapie



Obr. 2. Endoskopický obraz nádoru před léčbou (vlevo) a půl roku po operaci (vpravo).

gem popsáno pokročilejší stadium než pT2 s vyloučením lymfangiinvasze, angioinvasze a perineurálního šíření.

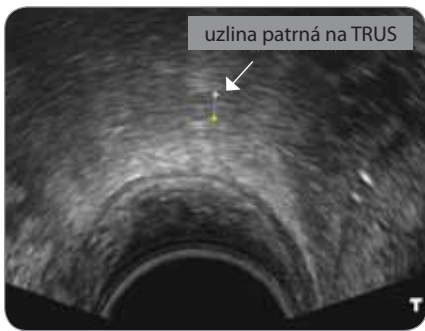
Sledování probíhá v prvních 2 letech každé 3 měsíce, v dalších 3 letech každý půlrok a v následujících 5 letech každý rok. Součástí klinické kontroly je vždy rektoskopie, případně kolonoskopie, odběr nádorových markerů a magnetická rezonance pánve. K vyloučení případné diseminace onemocnění provádíme v prvních 3 letech CT vyšetření hrudníku a břicha každý rok; tato metoda bude v dalších 7 letech sledování nahrazena rentgenovým vyšetřením hrudníku a ultrazvukem břicha.

Prvním pacientům jsme vstup do studie nabídli v druhé polovině roku 2016. Vzhledem k přísným indikačním kritériím jsme touto kombinovanou metodou léčili zatím 6 pacientů. Na statistické vyhodnocení je to soubor velmi malý, nicméně je pestrý z hlediska odlišných průběhů léčby a zajímavý z hlediska publikace jednotlivých kazuistických případů.

#### Kazuistika 1

Prvním pacientem zařazeným do studie byl 52letý muž bez interkurencí, s negativní rodinnou anamnézou stran kolorektálního karcinomu a verifikova-

ným G1 adenokarcinomem rekta těsně za svěrači, stadium cT2 N0 M0. Pacient striktně odmítl konstrukci střevního vývodu. Po nekomplikovaném průběhu neoadjuvantní chemoradioterapie a přešetření pacient absolvoval operační výkon, po týdnu byl propuštěn do domácí péče (obr. 1 a 2). Definitivní histologické zhodnocení potvrdilo stadium ypT1 N0 M0, L0 R0 V0 s výraznou regresí po neoadjuvantní léčbě. V tříměsíčním intervalu pacient podstoupil přešetření vždy se závěrem trvající kompletní remise a nyní je již v režimu půlročního sledování se stále trvající kompletní remisí. Takovýto průběh léčby bychom přáli



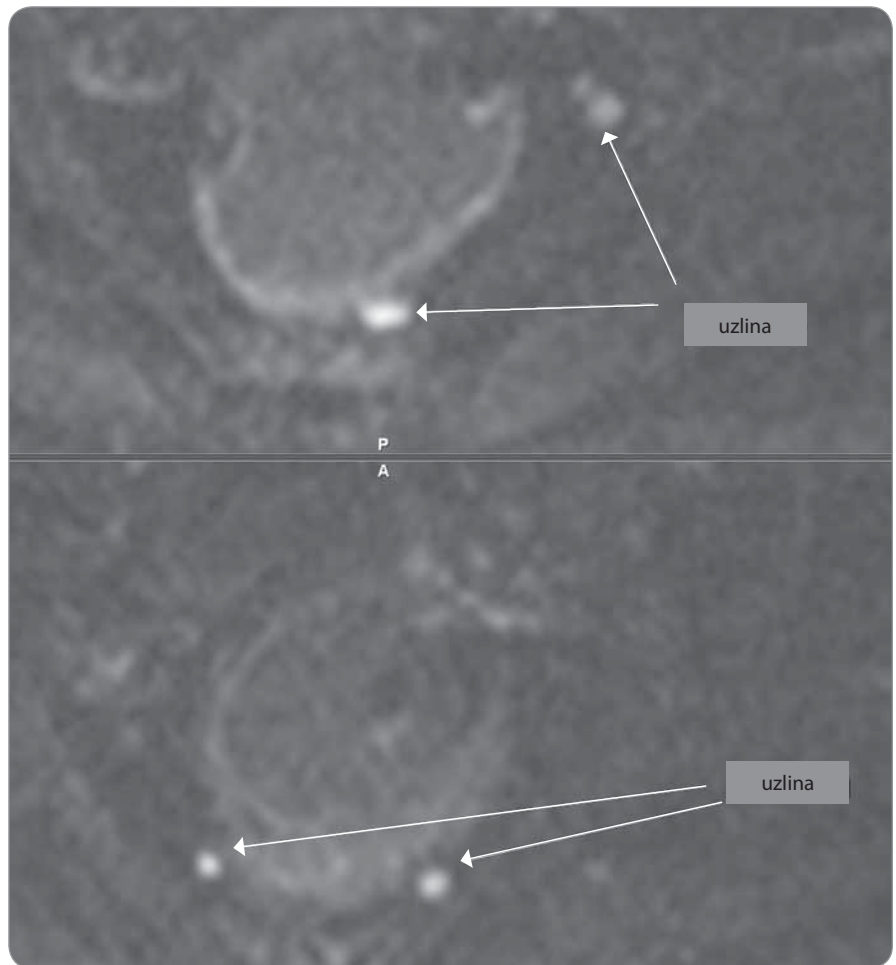
**Obr. 3. Uzlina při TRUS vyšetření. Žádný znak ani velikost nesevčí pro patologickou uzlinu.**

TRUS – transrektální sonografie

všem našim pacientům, bohužel ne vždy je takto optimální, což dokazují následující případy.

### Kazuistika 2

Druhým pacientem byl 67letý muž s hypertenzí a nádorovým onemocněním v rodinné anamnéze. Histologicky středně diferencovaný adenokarcinom rekta stadium cT2 N0 M0. Po prodělané neoadjuvantní chemoradioterapii následovala s odstupem 8 týdnů operace metodou TEM. Již při operaci byla zhoršená kvalita stěny rekta. Sliznice byla po ozáření křehká a lehce edematózní. Operace samotná však proběhla zcela standardně, bez jakýchkoliv komplikací. Ani bezprostřední pooperační průběh nebyl nijak komplikován. Definitivní histologický závěr byl ypT2 N0, L0 V0 R0. Již po měsíci však pacient přichází pro inkontinenci řídké stolice. Při došetření byla identifikována dehiscence sutury, pacient však radikální řešení odmítl a dohodli jsme se na ponechání defektu



**Obr. 4. Detekce uzlin při MR vyšetření na DWI sekvenci. Všechny zachycené uzliny (cca 5–6 v perirektálním prostoru) neměly ani v T1w a T2w ani v DWI znaky patologických uzlin v okolí nádoru (malá velikost do 5 mm, tvar spíše oválný, k okrajům se vzhledem k velikosti nelze exaktně vyjádřit).**

DWI – difuzí vážený obraz, MR – magnetická rezonance, T1w – T1 vážený obraz, T2w – T2 vážený obraz

a pokus o jeho vyhojení granulacemi. Do standardního akcelerovaného follow-up režimu byly zařazeny pravidelné odběry

na histologii a PET/CT vyšetření. Žádnou metodou nebyla prokázána lokální recidiva a defekt se zcela vyhojil hladkou



**Obr. 5. Endoskopický obraz nádoru zadní stěny konečnicku před léčbou (vlevo) a endoskopický obraz rektovaginální píštěle na přední stěně konečnicku po operaci (vpravo).**

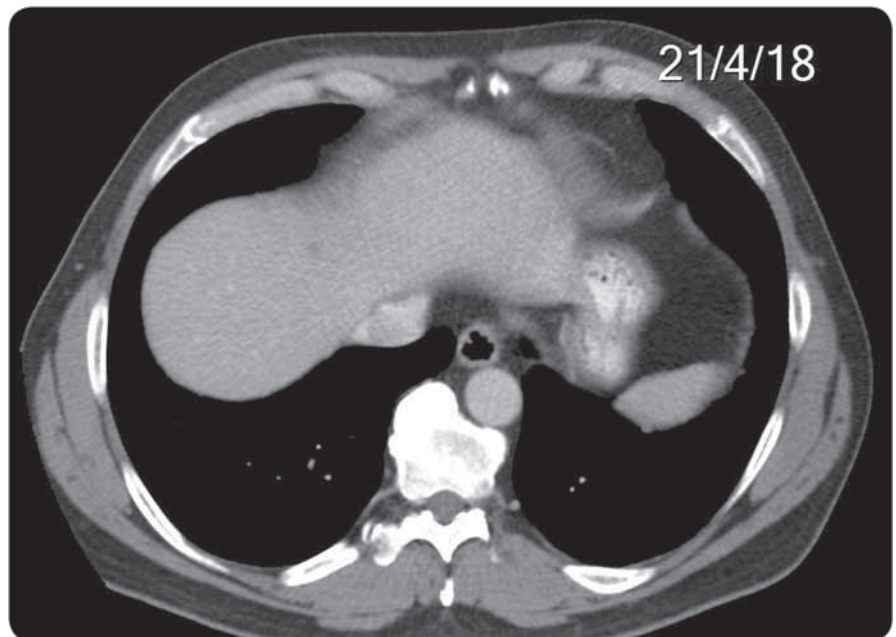


jizvou po osmnácti měsících. Pacient je stále v režimu tříměsíčních kontrol s trvajícím celkovou remisí.

### Kazuistika 3

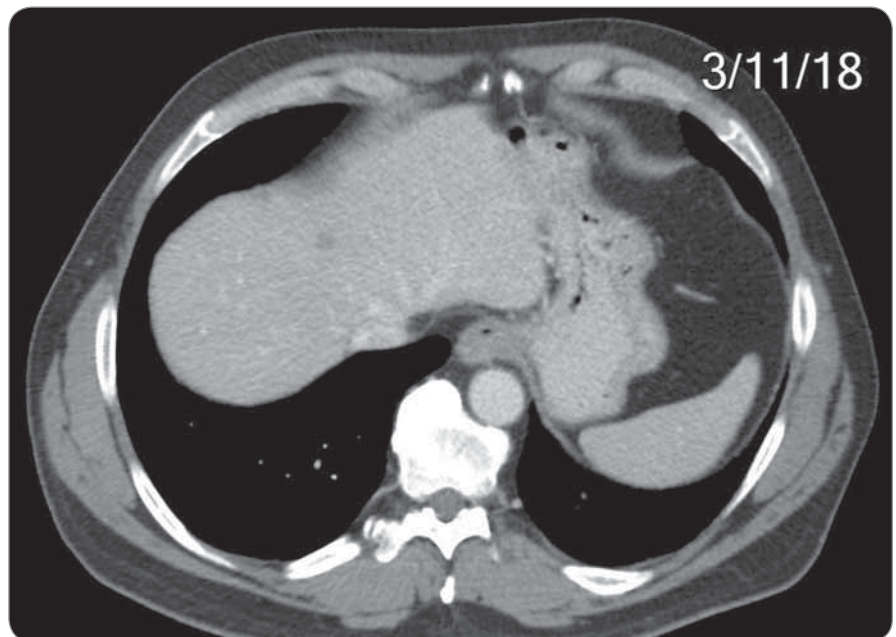
Snad nejzajímavější průběh diagnostiky a léčby jsme zaznamenali u 43leté pacientky s níže sedícím polypoidním tumorem konečníku. Extramurální vyšetření pozitronovou emisní tomografií s magnetickou rezonancí (PET/MRI) a transrektální snografií (TRUS) byla v zásadním rozporu. PET/MRI diagnostikovala onemocnění jako stadium cT3-4 cN0 cM0, zatímco TRUS popsal stadium cT2 cN0; bioptický závěr zněl maximálně *carcinoma in situ*. Dle přešetření v Masarykově onkologickém ústavu jsme dospěli k jednoznačné diagnóze adenokarcinomu rekta grade 2, klinického stadia cT2 N0 M0 (obr. 3–5). Pacientka byla již při první návštěvě v ambulanci přesvědčena, že chce radikální operaci a trvalý vývod. Nicméně jí byla nabídnuta varianta neoadjuvantní chemoradioterapie s následnou lokální excizí nádoru operačním rektoskopem. S tímto postupem nakonec souhlasila, především díky vlivu manžela. Bez komplikací absolvovala neoadjuvantní léčbu. Po přešetření jsme uzavřeli stadium onemocnění jako ycT1-2 N0 M0. Pacientka podstoupila nekomplikovanou transmurální resekci tumoru lokalizovaného na zadní stěně rekta se standardním bezprostředním pooperačním průběhem. Dle definitivní histologie bylo stadium popsáno jako ypT2 N0 M0, L0 V0 R0. Měsíc od operace přichází neplánovaně k ambulantní kontrole, pozoruje odchod větrů a stolice pochvou. Endoskopicky prokázána rektovaginální píštěl, která lokalizačně nesouvisí s jizvou po resekci tumoru zadní stěny rekta. U pacientky jsme indikovali abdominoperineální amputaci rekta dle Milese.

Po absolvování komplikované multioborové léčby s cílem zachovat normální pasáž nakonec stejně pacientka dospěla k výkonu, který si přála již na začátku léčby – tedy k radikálnímu operačnímu výkonu s konstrukcí trvalého vývodu. Byla provedena abdominoperineální amputace rekta, bez komplikací v pooperačním období. Překvapením byl histologický závěr. Ten prokázal radikalitu lokální excize bez nálezu nádorových buněk ve stěně rekta, ale popsal metastázu v jedné z deseti lymfatických uzlin. U pacientky byla indikována adjuvantní chemoterapie, kterou nyní podstupuje. Byla samozřejmě vyřazena ze sledování podle protokolu studie.



Obr. 6. Velikostní vývoj na CT vyšetření u největšího z 3 jaterních ložisek v kopuli jater v rozmezí 25. 4. 2018–4. 1. 2019. Etiologii prokázala až diagnostická laparoskopie s histologií.

CT – výpočetní tomografie



Obr. 7. Velikostní vývoj na CT vyšetření u největšího z 3 jaterních ložisek v kopuli jater v rozmezí 25. 4. 2018–4. 1. 2019. Etiologii prokázala až diagnostická laparoskopie s histologií.

CT – výpočetní tomografie

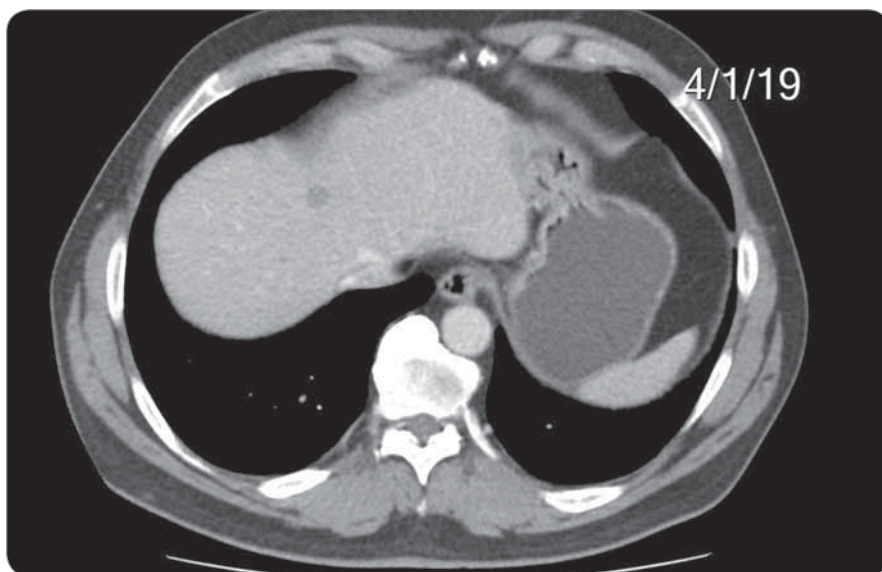
### Kazuistika 4

Posledním pacientem se zajímavým průběhem diagnostiky a léčby byl 57letý muž došetřovaný pro pozitivní test na okultní krvácení. Byl mu diagnostikován níže sedící tumor rekta histologicky ve-



**Obr. 8. Velikostní vývoj na CT vyšetření u největšího z 3 jaterních ložisek v kopuli jater v rozmezí 25. 4. 2018–4. 1. 2019. Etiologii prokázala až diagnostická laparoskopie s histologií.**

CT – výpočetní tomografie



**Obr. 9. Velikostní vývoj na CT vyšetření u největšího z 3 jaterních ložisek v kopuli jater v rozmezí 25. 4. 2018–4. 1. 2019. Etiologii prokázala až diagnostická laparoskopie s histologií.**

CT – výpočetní tomografie

rifikovaný jako středně diferencovaný adenokarcinom. V rámci došetřování případné diseminace bylo vysloveno podezření na plicní metastázy, které byly následně cíleným CT vyšetřením vyloučeny, dále byl u pacienta popsán nejednoznačný nález na játrech, který byl nakonec uzavřen jako cysty jaterní k dalšímu sledování. Před zařazením do studie bylo tedy u pacienta popsáno stadium cT2 N0 M0 (obr. 69). Pacient podstoupil

neoadjuvantní chemoradioterapii s nekomplikovaným průběhem. Po ukončení byl přešetřen a bylo potvrzeno stadium onemocnění ycT2-3a N0 M0. U pacienta jsme indikovali dle studiového protokolu transmurní resekci operačním rektoskopem s eventuální následnou radikalizací při nepříznivém histologickém výsledku z definitivního histologického zhodnocení preparátu. Následovala tedy nekomplikovaná operace

metodou transanální endoskopické mikrochirurgické techniky se standardním pooperačním průběhem. Definitivní histologický závěr zněl ypT2 N0 M0. Výsledek splňoval kritéria studie a pacient byl tedy zařazen do akcelerovaného sledování. Nadále byla sledována jaterní ložiska. Po půl roce kontrolní CT břicha ukázalo stationární jaterní ložiska benigního vzhledu. Pro nárůst hodnoty nádorového markeru CEA proběhlo kontrolní CT již po dalších 2 měsících. Zde již byla ložiska v játrech popsána jako suspektní metastázy ve velikostní progresi. Vzhledem k velikosti nebyla možná radionavigovaná biopsie, a proto pacient podstoupil laparoskopický operační výkon s cílenou biopsií jaterního ložiska. Histologické vyšetření prokázalo metastázu adenokarcinomu rekta. Pacient byl tedy ze studie vyřazen a nyní absoluuje systémovou léčbu diseminovaného onemocnění.

Pro úplnost zmiňujeme i poslední dva pacienty, kteří byli zařazení do studie.

První z nich – 54letý muž – absolvoval předoperační léčbu, přešetření a následně operaci. Po 3 měsících se dostavil k plánované kontrole, která prokázala remisi onemocnění. K dalším kontrolám se pacient již nedostavil. Podle údajů zdravotní pojišťovny zemřel 14. 5. 2017. Příčinu úmrtí se nepodařilo dohledat.

Posledním pacientem je 70letý muž, který podstoupil předoperační léčbu, operační výkon a je v režimu akcelerované follow-up bez komplikací v celkové remisi.

## Diskuze

V léčbě maligních nádorů rekta je již dlouhá léta s úspěchem uplatňován multioborový přístup. Vedle chirurgické léčby je to v rámci neoadjuvantní a adjuvantní léčby radioterapie a chemoterapie.

Standardem v chirurgické léčbě karcinomu konečniku je již mnoho let totální mezorektální excize (TME), jejímž hlavním smyslem je odstranění postižených nebo potenciálně postižených pararektálních mizních uzlin. Díky této operační technice se dnes četnost lokálních rekurencí pohybuje pod 5 % [7]. TME ale znamená nízkou přední resekci (s anastomózou nebo bez) nebo abdomino-

perineální amputaci rekta. Jde o výkony s nezanedbatelnou pooperační morbiditou a reálným rizikem konstrukce dočasné nebo trvalé stomie. Průměrně ¼ pacientů po těchto operačních výkonech udává určitý stupeň urologických a sexuálních dysfunkcí [2,8–11].

U časných stadií karcinomu rekta a nezhoubných rektálních adenomů je nicméně riziko uzlinového postižení nízké, resp. nulové, a provedení TME tak není nutné. Z těchto důvodů se v 80. letech minulého století k chirurgické léčbě lokálně nepokročilých nádorů rekta začala používat technika TEM využívající operační rektoskop a transanální přístup [12]. Četnost lokálních rekurencí (LR) ani 5leté přežití se u vhodně zvolených T1 karcinomů rekta řešených operačním rektoskopem neliší od případů, kdy proběhla TME. Současně navíc transanální endoskopická mikrochirurgie má prokazatelně lepší funkční výsledky a nižší pooperační morbiditu [13,14].

Pro dosažení dobrých krátkodobých, ale zejména dlouhodobých výsledků je zásadní výběr vhodných pacientů. Jednak je třeba počítat s technickými limity metody (vzdálenost léze od anodermální linie, anatomické poměry v pánvi, velikost vlastní patologie), jednak je třeba důsledně posoudit stadium karcinomu. Podstatné je zejména důkladné posouzení hloubky invaze do stěny rekta a stavu pararektálních lymfatických uzlin. S hloubkou invaze (tedy s rostoucím T stadiem) přímo úměrně narůstá i pravděpodobnost uzlinového postižení a současně i riziko lokální recidivy po lokální excizi karcinomu rekta.

U stadia T1 se riziko uzlinového postižení uvádí 0–12 % (některé práce ale uvádějí až 23 %) [13–15]. Obecně ale platí, že riziko uzlinového postižení u T1 karcinomů je nízké, a proto jsou dlouhodobé výsledky po lokální excizi dobré. Resekce operačním rektoskopem je současně spojena s výbornými funkčními výsledky, a proto je u vybraných případů T1 karcinomů obecně přijatou a doporučovanou metodou [1].

Přesto byly publikovány práce, ve kterých se pohybovalo procento lokálních recidiv po resekci T1 karcinomu operačním rektoskopem v rozmezí 20–30 % [16–18]. Důvodem je zřejmě skuteč-

**Tab. 1. Haggitova klasifikace.**

stupeň 0	infiltrace mukózy		
stupeň 1	submukózní invaze	v oblasti hlavičky polypu	nízké riziko uzlinového postižení
stupeň 2		v oblasti krčku polypu	
stupeň 3		v oblasti stopky polypu	
stupeň 4		invaze přes stopku do báze polypu	vysoké riziko

**Tab. 2. Kikuchiho klasifikace.**

	hloubka submukózní invaze	riziko uzlinového postižení
Sm1	méně než 200–300 um od m.m.	2%
Sm2	střední hloubka invaze	8%
Sm3	blízko povrchu m.m.	23%

m.m. – muscularis mucosae

nost, že i v rámci T1 karcinomů existují ty s horší a lepší prognózou, což je dáno kombinací několika faktorů. Mezi ně patří přítomnost perineurálního, lymfatického a krevního šíření nebo nedostatečné resekcí okraje po lokální resekci (< 1 mm). Nejzásadnější se zdá být ale hloubka submukózní invaze předmětného karcinomu, která nejsilněji predikuje míru rizika uzlinového postižení [8,19]. Z tohoto důvodu vzniklo několik klasifikací popisujících hloubku submukózní invaze. V současné době je nejpoužívanější Haggitova klasifikace pro polypoidní léze a Kikuchiho klasifikace pro nepolypoidní léze (tab. 1, 2) [20,21]. Lze tedy říci, že pokud se jedná o T1 karcinom s příznivými histopatologickými a chirurgickými faktory, je jeho odstranění pomocí operačního rektoskopu bezpečnou a doporučovanou metodou, u které procento lokálních recidiv nepřesahuje 5 %. Pokud jsou ale přítomny rizikové faktory (zejména vysoký stupeň submukózní infiltrace), pravděpodobnost lokální rekurence stoupá, dle některých autorů až k 20 % [8].

V případě T2 karcinomu je pravděpodobnost výskytu uzlinových metastáz udávána v rozmezí 12–28 % [14,15]. Proto je i v situaci bez zjevného uzlinového postižení (stadium cT2 N0) stan-

dardním chirurgickým výkonem TME. Je-li i patologická TNM klasifikace po resekci stejná (pT2 N0), není indikována žádná adjuvantní léčba. Ve světovém písemnictví lze nicméně dohledat práce, které referují o pokusech řešit stadium T2 lokální excizí bez TME. Nutno ale podotknout, že se jedná o jednotlivá sdělení malých souborů pacientů a že chybí silnější data postavená na prospektivní randomizované studii.

Byla-li provedena u T2 stadia pouze lokální excize (byť transmukózní pomocí operačního rektoskopu) bez jakékoliv zajišťovací nechirurgické léčby, výskyt lokálních rekurencí osciloval mezi 22 % a 35 %. Vzhledem k těmto výsledkům není použití pouze TEM s kurativním záměrem u stadia T2 přijatelné a lze ho akceptovat pouze jako paliativní metodu [4,8].

Případná adjuvantní (pooperační) chemoradioterapie po lokální excizi T2 karcinomu dle literárních review sice může nepatrně snížit pravděpodobnost lokálního relapsu, ale celkově zůstává toto riziko stále nepřijatelně vysoké v porovnání s TME, a tedy ani tento postup nelze doporučit [22].

Pokud pacient s cT2 N0 karcinomem nejprve podstoupí chemoradioterapii (standardní neoadjuvantní režim používaný u vyšších stadií nebo v případě kar-

cinomů s uzlinovým postižením) a následuje lokální excize, jsou výsledky mnohem příznivější. Je-li dosaženo kompletní patologické remise (ypT0), je riziko LR 0 % a systémový relaps onemocnění do 4 %.

V případě ypT1 se LR pohybuje kolem 2 % a vzdálená diseminace kolem 7 %. Pokud není zjištěna žádná odpověď na neoadjuvantní léčbu (ypT2), je riziko lokální i systémové recurence přibližně stejné, a to 7 %.

Nejhorší je situace u stadia ypT3, kdy riziko lokální recidivy přesahuje 20 % a riziko systémového postižení 12 % [5]. Nejlepší výsledky u pacientů s T2 karcinomem, kteří podstoupili neoadjuvantní léčbu a následně lokální excizi, jsou tedy patrné v souboru, kde bylo dosaženo kompletní patologické remise. Zároveň bylo prokázáno, že kompletní patologická remise je spojena častěji s dlouhým režimem (tzn. 50,4 Gy po dobu 5 týdnů konkomitantně s kapecitabinem nebo 5-fluorouracilem) [6]. Neméně významnou roli hraje pochopitelně i kvalita chirurgické resekce. Horší výsledky z pohledu lokální recidivy byly pozorovány, pokud nebyla resekce „en block“ a pokud definitivní resekční okraje byly < 1 mm.

Nezanedbatelným přínosem tohoto kombinovaného postupu, který by měl být v rozhodovacím procesu rovněž zvažován, je již dříve zmíněná signifikantně nižší pooperační morbidita po TEM resekci ve srovnání s TME, lepší kvalita života s nižším procentem urologických a sexuálních dysfunkcí a možnost operačního výkonu bez rizika konstrukce střevního vývodu. Na druhou stranu je ale třeba vzít v úvahu akutní toxicitu neoadjuvantní léčby. Během chemoradioterapie se asi u 30 % pacientů vyskytnou gastrointestinální nežádoucí účinky stupně 3 a asi 15 % má hematologické nežádoucí účinky stupně 3–4 [23]. Podstatné je zmínit i pozdní, zpravidla trvalý vedlejší efekt radioterapie – genitourinární toxicitu. Jako hlavní důvod erektilních dysfunkcí u karcinomu rektu bývá uváděn chirurgický výkon a radioterapie k tomu určitou měrou přispívá. V literatuře však lze najít i práce, kde pravděpodobnost vzniku erektilních dysfunkcí u ozařovaných pacientů byla výrazně

vyšší proti pacientům bez radioterapie (OR 7,3;  $p < 0,001$ ). V této práci bylo také popsáno, že pacienti, kteří podstoupili radioterapii, měli také signifikantně nižší hladiny testosteronu [24]. Radioterapie pánve může mít za následek přechodnou nebo trvalou azoospermii, u fertilních žen může vést ke sterilitě.

Co se toxicity týká, zatím jsou závěry studií s lokální excizí po neoadjuvantní léčbě rozporuplné. Výsledky některých studií vyzněly příznivě, udávají např. jen minimální negativní dopad na anorektální funkce. Avšak závěr jiné studie je, že anorektální funkce mohou být horší, než se předpokládalo, a že není zásadní rozdíl ve srovnání s nízkou přední resekci [25]. Definitivně na tuto otázku odpoví až randomizované klinické studie.

Souhrnně lze konstatovat, že vhodným pacientem, který z kombinace neoadjuvantní chemoradioterapie a lokální excize pomocí operačního rektoskopu dle dostupných výsledků bude nejvíce profitovat, je pacient s cT2 N0 M0 karcinomem nízkého gradu, přiměřené velikosti (do cca 4 cm), nízce uloženým (kde by v případě provedení TME hrozilo vysoké riziko konstrukce stomie), a pokud došlo po neoadjuvantní terapii ke kompletní nebo alespoň částečné remisi [8].

## Závěr

Kombinace neoadjuvantní chemoradioterapie a lokální excize pomocí operačního rektoskopu u T2 N0 karcinomu rektu se dle dostupných celosvětových dat jeví jako bezpečná alternativa ke standardnímu postupu, kterým je resekční výkon s totální mezorektální excizí. Hlavní výhody lze spatřovat ve výrazně nižší pooperační morbiditě, v možnosti lepších funkčních výsledků po TEM ve srovnání s výkony s TME a dále v nižším riziku konstrukce střevního vývodu (dočasně nebo trvalého). Zároveň je třeba připomenout, že TEM u T2 karcinomu bez neoadjuvantní léčby je spojen s dramaticky horšími onkologickými výsledky a nelze tento postup akceptovat. Je ale třeba dalších studií - optimálně randomizovaných a prospektivních - s větším počtem zařazených pacientů, které by tato tvrzení podpořily. Zatím tedy tuto strategii není možno rutinně doporučovat, s výjimkou klinických studií a s vý-

jimkou starších, křehkých pacientů s vysokým rizikem komplikací při provedení většího operačního výkonu. Studie na toto téma právě probíhá v MOÚ a tento příspěvek je sdělením našich prvních osobních zkušeností.

## Literatura

1. Clinical practice guidelines in oncology: Cancer Network; version 1, 2018. [online]. Available from: <http://www.nccn.org>.
2. Ondrák M, Šefr R, Eber Z. Transanální endoskopická mikrochirurgie a její postavení v chirurgii rekta – review. *Rozhl Chir* 2011; 90(8): 450–456.
3. Lezoche G, Paganini AM, Campagnacci R et al. Treatment of rectal cancer by transanal endoscopic microsurgery: review of the literature. *Minerva Chir* 2013; 68: 1–9.
4. Borschitz T, Heintz A, Junginger T. Transanal endoscopic microsurgical excision of pT2 rectal cancer: results and possible indications. *Dis Colon Rectum* 2007; 50: 292–301. doi: 10.1007/s10350-006-0816-7.
5. Borschitz T, Wachtlin D, Möhler M et al. Neoadjuvant chemoradiation and local excision for T2-3 rectal cancer. *Ann Surg Oncol* 2008; 15: 712–720.
6. Garcia-Aguilar J, Shi Q, Thomas CR et al. A phase II trial of neoadjuvant chemoradiation and local excision for T2N0 rectal cancer: preliminary results of the ACO-SOG Z6041 trial. *Ann Surg Oncol* 2012; 19: 384–391. doi: 10.1245/s10434-007-9732-x.
7. Heald RJ, Ryall RD. Recurrence and survival after total mesorectal excision for rectal cancer. *Lancet* 1986; 1:1479–1482. doi: 10.1016/s0140-6736(86)91510-2.
8. Serra-Aracil X, Mora-Lopez L, Alcantara-Moral M et al. Transanal endoscopic surgery in rectal cancer. *World J Gastroenterol* 2014; 20(33): 11538–11545. doi: 10.3748/wjg.v20.i33.11538.
9. Kneist W, Junginger T. Residual urine volume after total mesorectal excision: an indicator of pelvic autonomic nerve preservation? Results of a case-control study. *Colorectal Dis* 2004; 6: 432–437. doi: 10.1111/j.1463-1318.2004.00711.x.
10. Paun BC, Cassie S, MacLean AR, Dixon E, Buie WD. Postoperative complications following surgery for rectal cancer. *Ann Surg* 2010; 251: 807–818. doi: 10.1097/SLA.0b013e3181dae4ed.
11. Lange MM, van de Velde CJ. Urinary and sexual dysfunction after rectal cancer treatment. *Nat Rev Urol* 2011; 8: 51–57. doi: 10.1038/nrurol.2010.206.
12. Buess G, Theiss R, Hutterer F et al. Transanal endoscopic surgery of the rectum – testing a new method in animal experiments. *Leber Magen Darm*. 1983; 13: 73–77.
13. Varma MG, Rogers SJ, Schrock TR et al. Local excision of rectal carcinoma. *Arch Surg* 1999; 134: 863–867.
14. Palma P, Freudenberg S, Samel S et al. Transanal endoscopic microsurgery: indications and results after 100 cases. *Colorectal Dis* 2004; 6: 350–355. doi: 10.1111/j.1463-1318.2004.00671.x.
15. Mellgren A, Sirivongs P, Rothenberger DA et al. Is local excision adequate therapy for early rectal cancer? *Dis Colon Rectum* 2000; 43: 1064–1074. doi: 10.1007/BF02236551.
16. Madbouly KM, Remzi FH, Erkek BA et al. Recurrence after transanal excision of T1 rectal cancer: should we be concerned? *Dis Colon Rectum* 2005; 48: 711–719. doi: 10.1007/s10350-004-0666-0.
17. Doornebosch PG, Ferenschildt FT, de Wilt JH et al. Treatment of recurrence after transanal endoscopic microsurgery (TEM) for T1 rectal cancer. *Dis Colon Rectum* 2010; 53: 1234–1239. doi: 10.1007/DCR.0b013e3181e73f33.
18. Tovar J, Jimenez-Miramón J, Valle A et al. Endoscopic Resection as Unique Treatment for Early Colorec-

tal Cancer. *Rev Esp Enferm Dig* 2010; 102(7): 435–441. doi: 10.4321/s1130-01082010000700006.

19. Kitajima K, Fujimori T, Fujii S et al. Correlations between lymph node metastasis and depth of submucosal invasion in submucosal invasive colorectal carcinoma: a Japanese collaborative study. *J Gastroenterol* 2004; 39: 534–543. doi: 10.1007/s00535-004-1339-4
20. Kikuchi R, Takano M, Takagi K et al. Management of early invasive colorectal cancer. Risk of recurrence and clinical guidelines. *Dis Colon Rectum* 1995; 38: 1286–1295. doi: 10.1007/BF02049154.
21. Haggitt RC, Glotzbach RE, Soffer EE et al. Prognostic factors in colorectal carcinomas arising in adenomas: implications for lesions removed by endoscopic polypectomy. *Gastroenterology* 1985; 89: 328–336. doi: 10.1016/0016-5085(85)90333-6.
22. Baxter NN, Garcia-Aguilar J. Organ preservation for rectal cancer. *J Clin Oncol* 2007; 25: 1014–1020.
23. Garcia-Aguilar J, Renfro LA, Chow OS et al. Organ preservation for clinical T2N0 distal rectal cancer using neoadjuvant chemoradiotherapy and local excision (ACOSOG Z6041): results of an open-label, single-arm, multi-institutional, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2015; 16(15): 1537–1546. doi:10.1016/S1470-2045(15)00215-6.
24. Bruheim K, Guren MG, Dahl A et al. Sexual function in males after radiotherapy for rectal cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2010; 76(4): 1012–1017. doi: 10.1016/j.ijrobp.2009.03.075
25. Gornicki P, Richter W, Polkowski M et al. Anorectal and sexual functions after preoperative radiotherapy and full-thickness local excision of rectal cancer. *Eur J Surg Oncol* 2014; 40(6): 723–730. doi: 10.1016/j.ejso.2013.11.010.

# 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  
MUDr. Tomáš Kazda, Ph.D.  
doc. MUDr. Lenka Foretová, Ph.D.

#### výkonný redaktor

prof. MUDr. Marek Svoboda, Ph.D.

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

MUDr. Roman Goněc  
doc. RNDr. Sabina Ševčíková, Ph.D.  
prof. MUDr. Jan Žaloudík, CSc.

### Širší redakční rada

prof. MUDr. Zdeněk Adam, CSc., Brno  
doc. MUDr. Igor Andrašina, CSc., Košice  
doc. MUDr. Soňa Balogová, Ph.D., Bratislava  
doc. MUDr. Tomáš Büchler, Ph.D., Praha  
prof. MUDr. David Cibula, CSc., Praha  
MUDr. Karel Cwiertka, Ph.D., Olomouc  
Doc. MUDr. Martin Doležel, Ph.D., Olomouc  
doc. MUDr. Ľuboš Drgoňa, CSc., Bratislava  
prof. MUDr. Ladislav Dušek, Ph.D., Brno  
prof. MUDr. Tomáš Eckschlager, CSc., Praha  
prof. MUDr. David Feltl, Ph.D., Ostrava  
prof. MUDr. Jindřich Finek, Ph.D., MHA, Plzeň  
doc. MUDr. Marián Hajdúch, Ph.D., Olomouc  
prof. MUDr. Roman Hájek, CSc., Ostrava  
MUDr. Jana Halámková, Ph.D., Brno  
prof. MUDr. Martin Klabusay, Ph.D., Jihlava

doc. MUDr. Igor Kiss, Ph.D., MBA  
doc. MUDr. Alexandra Kolenová, Ph.D., Bratislava  
MUDr. Jiří Kubeš, Ph.D., Praha  
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 Mladosičiová, 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. Ľuboš Petruželka, CSc., Praha  
prof. RNDr. Šárka Pospíšilová, Ph.D., Brno  
doc. MUDr. Luděk Pour, Ph.D., Brno

doc. MUDr. Jana Prausová, Ph.D., MBA, Praha  
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. Michal Staník, Ph.D., Brno  
MUDr. Tomáš Šálek, Bratislava  
Prof. MUDr. Pavel Šlampa, CSc., Brno  
prof. MUDr. Jaroslav Štěrba, Ph.D., Brno  
prof. MUDr. Dalibor Valík, Ph.D., Brno  
prof. MUDr. Anna Vašků, CSc., Brno  
doc. MUDr. Mária Wagnerová, CSc., Košice  
prof. MUDr. Stanislav Špánik, CSc., Bratislava

### Čestní členové redakční rady

doc. MUDr. Juraj Kaušitz, CSc., Bratislava  
prof. MUDr. Jan Klášterský, Brusel  
prof. MUDr. Pavel Klener, DrSc., Praha  
prof. RNDr. Jan Kovařík, DrSc., Brno

prof. MUDr. Ivan Koza, DrSc., Bratislava  
doc. MUDr. Jozef Mardiak, CSc., Bratislava  
prof. MUDr. Zdeněk Mechl, CSc., Brno  
MUDr. Jaroslav Němec, CSc, Brno

prof. RNDr. Ondřej Slabý, Ph.D., Brno  
MUDr. Viliam Ujházy, DrSc., Bratislava  
prof. MUDr. Jiří Vorlíček, CSc., dr.h.c., Brno  
prof. MUDr. Rostislav Vyzula, CSc., Brno

© Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně, Praha 2020

## 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](http://www.linkos.cz) nebo [www.klinickaonkologie.cz](http://www.klinickaonkologie.cz).

Nakladatel: Care Comm s.r.o., Klicperova 604/8, 150 00 Praha 5

Odpovědná redaktorka: Ing. Petra Polsen, e-mail: [petra.polsen@carecomm.cz](mailto:petra.polsen@carecomm.cz)

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

Vychází 6x ročně. Předplatné na rok 2020 činí 540 Kč (22 eur).

Informace o podmínkách inzerce poskytuje a objednávky přijímá: Josef Seher, e-mail: [josef.seher@carecomm.cz](mailto:josef.seher@carecomm.cz), tel.: +420 733 675 008.

Rukopisy vkládejte do redakčního systému: <https://redakce.carecomm.cz/ko>; případné dotazy směřujte na e-mail [klinickaonkologie@mou.cz](mailto:klinickaonkologie@mou.cz)

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

Pokyny pro autory naleznete na [www.linkos.cz](http://www.linkos.cz) v sekci časopisu nebo na [www.klinickaonkologie.cz](http://www.klinickaonkologie.cz).

Toto číslo vychází 15. 8. 2020

PERJETA®  
pertuzumab

Herceptin®  
trastuzumab

DUÁLNI BLOKÁDA, PROVĚŘENÁ SYNERGIE.

## DEJTE JÍ ŠANCI!

Léčba pacientek  
s HER2-positivním časným  
karcinomem prsu s vysokým  
rizikem recurence<sup>1</sup>

**Zkrácená informace o přípravku** • Perjeta 420 mg koncentrát pro infuzní roztok. Účinná látka: pertuzumabum. Držitel registračního rozhodnutí: Roche Registration GmbH, Grenzach-Wyhlen, Německo. Registrační číslo: EU/1/13/813/001. **Indikace:** Přípravek Perjeta je indikován k použití v kombinaci s trastuzumabem a chemoterapií: • k neoadjuvantní léčbě dospělých pacientů s HER2-positivním, lokálně pokročilým, inflamatorním nebo časným karcinomem prsu s vysokým rizikem recurence. Přípravek PERJETA je indikován k použití v kombinaci s trastuzumabem a docetaxelem u dospělých pacientů s HER2-positivním metastazujícím nebo lokálně rekurentním neresekovatelným karcinomem prsu, kteří dosud nebyli léčeni anti-HER2 léky nebo chemoterapií pro metastazující onemocnění. **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na léčivou látku nebo na kteroukoli pomocnou látku. **Upozornění:** Aby se zlepšila sledovatelnost biologických léčivých přípravků má se přehledně zaznamenat název podávaného přípravku a číslo šarže. Při použití léčivých přípravků blokujících aktivitu HER2, včetně přípravku PERJETA, byl hlášen pokles ejekční frakce levé srdeční komory. Incidence symptomatické systolické dysfunkce levé komory srdeční byla vyšší u pacientů léčených přípravkem Perjeta v kombinaci s trastuzumabem a chemoterapií ve srovnání s trastuzumabem a chemoterapií. Přípravek PERJETA nebyl hodnocen u pacientů s hodnotou ejekční frakce levé srdeční komory  $\leq 50\%$  před léčbou, s anamnézou městnavého srdečního selhání, s poklesem ejekční frakce levé srdeční komory na  $<50\%$  během předchozí adjuvantní léčby trastuzumabem nebo u pacientů se stavy, které mohou negativně ovlivnit činnost levé srdeční komory, nebo předchozí kumulativní expozice antracyklinu  $>360\text{ mg/m}^2$  doxorubicinu nebo jeho ekvivalentu. **Před použitím přípravku PERJETA s antracykliny má být pečlivě zvaženo a vyhodnoceno kardiální riziko v závislosti na potřebě léčby individuálního pacienta.** Na základě farmakologických účinků anti-HER2 přípravků a antracyklinů lze očekávat zvýšené riziko kardiotoxicity při současném užívání přípravku Perjeta a antracyklinů než při následném užívání. U přípravku Perjeta byla pozorována závažná hypersenzitivita, včetně anafylaxe a příhod končící úmrtím. Při podání pertuzumabu se doporučuje pečlivě sledování pacienta během podávání a po dobu 60 minut po první infuzi a během podávání a podobu 30–60 minut po dalších infuzích. **Klinicky významné interakce:** Nebyly zjištěny žádné známky jakékoli farmakokinetické interakce mezi pertuzumabem a trastuzumabem, docetaxelem nebo dalšími cytostatiky. **Hlavní klinicky významné nežádoucí účinky:** Nejčastějšími nežádoucími účinky ( $\geq 30\%$ ) z těchto společných údajů byly průjem, alopecie, nauzea, únava, neutropenie a zvracení. Nejčastějšími ( $\geq 10\%$ ) nežádoucími účinky stupně 3 až 4 podle kritérií NCI-CTCAE byly neutropenie a febrilní neutropenie. **Dávkování a způsob podání:** Doporučená úvodní dávka pertuzumabu je 840 mg podaná v intravenózní infuzi trvající 60 minut následovaná každé 3 týdny udržovací dávkou 420 mg podávanou po dobu 30 až 60 minut. Při podávání s pertuzumabem je doporučeno dodržovat třítydenní režim pro trastuzumab, který může být podán buď jako: • intravenózní infuze s úvodní dávkou trastuzumabu 8 mg/kg tělesné hmotnosti následovanou udržovací dávkou 6 mg/kg tělesné hmotnosti každé 3 týdny, nebo jako • subkutánní injekce trastuzumabu ve fixní dávce (600 mg) každé tři týdny bez ohledu na tělesnou hmotnost pacienta. Podrobné informace o dávkování přípravku docetaxel najdete v SPC. Přípravek Perjeta a trastuzumab mají být podávány postupně a nesmí se mísit ve stejném infuzním vaku. Přípravek Perjeta a trastuzumab lze podávat v libovolném pořadí. Pokud je pacient léčen docetaxelem, má být podán po pertuzumabu a trastuzumabu. Po každé infuzi přípravku PERJETA a před zahájením další infuze trastuzumabu nebo docetaxelem se doporučuje období 30 až 60 minut sledování. Při neoadjuvantní léčbě má být přípravek Perjeta podáván v třech až šesti cyklech v kombinaci s trastuzumabem a chemoterapií jako součást kompletního léčebného režimu časného karcinomu prsu, při adjuvantní léčbě má být přípravek Perjeta podáván v kombinaci s trastuzumabem po dobu celkem jednoho roku, při metastazujícím karcinomu prsu mají být pacienti léčeni přípravkem PERJETA do progresse nemoci nebo do nepřijatelné toxicity. Další podrobné informace o dávkování a léčbě přípravku Perjeta najdete v SPC. **Dostupná balení přípravku:** PERJETA 420 mg koncentrát pro infuzní roztok. Jedna injekční lahvička se 14 ml koncentrátu obsahuje pertuzumabum 420 mg o koncentraci 30 mg/ml. **Podmínky uchovávání:** Uchovávejte v chladničce (2 °C – 8 °C). Chraňte před mrazem. Uchovávejte injekční lahvičku v krabičce, aby byl přípravek chráněn před světlem. Chemická a fyzikální stabilita po otevření před použitím byla prokázána na dobu 24 hodin při 30 °C. Z mikrobiologického hlediska má být přípravek použit okamžitě. Nemíchejte s jinými léky. Doba a podmínky uchovávání přípravku po otevření před použitím jsou v odpovědnosti uživatele a normálně by doba neměla být delší než 24 hodin při 2 °C až 8 °C, pokud ředění neproběhlo za kontrolovaných a validovaných aseptických podmínek. **Datum poslední revize textu:** 17. 4. 2020. **Výdej léčivého přípravku je vázán na lékařský předpis. Léčivý přípravek je hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění v indikacích HER2-positivního metastazujícího karcinomu prsu a adjuvantní léčby HER2-positivního karcinomu prsu, v indikaci neoadjuvantní léčby HER2-positivního karcinomu prsu uhrada nebyla dosud stanovena.** Další informace naleznete na [www.sukl.cz](http://www.sukl.cz).

**Varování pro těhotné a potenciálně těhotné ženy** • Používání přípravku PERJETA je třeba se vyhnout během těhotenství, pokud by potenciální benefit pro matku nepřevážil potenciální riziko pro plod. Neexistují žádné studie týkající se přípravku PERJETA u těhotných žen a bezpečné užívání přípravku PERJETA během těhotenství a laktace nebylo prokázáno. • Před zahájením užívání přípravku PERJETA ověřte, zda není žena těhotná. Ženy s možností otěhotnění by měly užívat účinnou antikoncepci při léčbě přípravkem PERJETA nebo po dobu 6 měsíců od poslední dávky. • Pacientky, které otěhotněly během léčby přípravkem PERJETA nebo do 6 měsíců od poslední dávky, je nutné pečlivě monitorovat pro oligohydramnion. • Jestliže byl přípravek PERJETA užíván během těhotenství nebo pacientka během léčby nebo 6 měsíců od poslední dávky otěhotněla, je nutné bezprostředně ohlásit expozici na Roche linku +420 602 298 181. • Budou požadovány další informace v souvislosti s expozicí přípravku PERJETA během těhotenství a dále v prvním roce života kojence. To umožní společnosti Roche/Genentech lépe porozumět bezpečnostnímu profilu přípravku PERJETA a poskytovat náležitě informace zdravotnickým orgánům, poskytovatelům zdravotnické péče a pacientům.

**Další informace o přípravku** získáte z platného Souhrnu údajů o přípravku PERJETA nebo na adrese: Roche s.r.o., Futurama Business Park Bld F, Sokolovská 685/136f, 186 00 Praha 8, telefon 220 382 111. Podrobné informace o tomto přípravku jsou uveřejněny na webových stránkách Evropské lékové agentury (EMA) <http://www.ema.europa.eu/>.

**Základní informace o přípravcích HERCEPTIN® 150 mg.** Registrační číslo: EU/1/00/145/001. **HERCEPTIN® 600 mg/5 ml injekční roztok.** Registrační číslo: EU/1/00/145/002. **Účinná látka:** trastuzumab. **Držitel registračního rozhodnutí:** Roche Registration GmbH, Grenzach-Wyhlen, Německo. **Indikace:** Léčba metastazujícího karcinomu prsu u pacientek, jejichž nádor v zvýšené míře exprimuje HER2 (human epidermal receptor 2): a) v monoterapii u pacientek, kteří byli pro své metastazující nádorové onemocnění již léčeni nejméně 2 chemoterapeutickými režimy; b) v kombinaci s paklitaxelem k léčbě pacientek, kteří nedostávali předchozí chemoterapii k léčbě metastatického nádorového onemocnění a pro něž léčba antracyklinem není vhodná; c) v kombinaci s docetaxelem k léčbě pacientek, kteří nedostávali předchozí chemoterapii k léčbě metastatického nádorového onemocnění; d) v kombinaci s inhibítorem aromatázy k léčbě postmenopauzálních pacientek s metastatickým karcinomem prsu s pozitivitou hormonálních receptorů, dosud neléčených trastuzumabem. Léčba pacientek s HER2 pozitivním časným karcinomem prsu: a) po chirurgickém zákroku, chemoterapii (neoadjuvantní nebo adjuvantní) a radioterapii (pokud je to relevantní); b) po adjuvantní chemoterapii s doxorubicinem a cyklofosfamidem v kombinaci s paklitaxelem nebo docetaxelem; c) v kombinaci s adjuvantní chemoterapií obsahující docetaxel a karboplatinu; d) v kombinaci s neoadjuvantní chemoterapií s následným podáním přípravku Herceptin v adjuvantní léčbě při lokálně pokročilém onemocnění nebo nádoru  $> 2\text{ cm}$  v průměru. Herceptin (jen Herceptin 150 mg) v kombinaci s kapecitabinem nebo 5-fluorouracilem a cisplatinou je indikován k léčbě nemocných s HER2-positivním metastazujícím adenokarcinomem žaludku nebo gastro-esofageálního spojení, kteří dosud nebyli léčeni pro metastazující onemocnění. **Kontraindikace:** Pacienti se známou přecitlivělostí na trastuzumab, myši proteiny nebo na některou z pomocných látek. Pacienti, kteří z důvodu komplikací spojených s pokročilým onkologickým onemocněním trpí křidlovou dušností nebo vyžadují podpůrnou kyslíkovou terapii. **Upozornění:** Stanovení HER2 musí být provedeno ve specializované laboratoři při zajištění dostatečné validace testovacích postupů. Užití samotného Herceptinu je spojeno s určitým rizikem kardiotoxicity, současné podávání přípravku v kombinaci s antracykliny toto riziko zvyšuje. U nemocných, kterým byly antracykliny podávány v minulosti, je riziko kardiotoxicity nižší než při současném podávání. Bezpečnost pokračování léčby nebo opětovného zahájení léčby přípravkem u pacientů s projevy kardiotoxicity nebyla prospektivně hodnocena. Nicméně u většiny pacientů, u kterých došlo v pilotních studiích s přípravkem k rozvoji srdečního selhání, se klinický stav zlepšil po podání standardní léčby. U většiny pacientů se srdečními příznaky a prokázaným prospechem z léčby se pokračovalo v léčbě přípravkem Herceptin bez dalších klinických srdečních příhod. **Klinicky významné interakce:** Studie lékových interakcí u lidí nebyly s přípravkem Herceptin prováděny. Riziko vzniku interakcí se současně užívanými přípravky proto nemůže být vyloučeno. Hlavní klinicky významné nežádoucí účinky při léčbě Herceptinem v monoterapii nebo v kombinaci s paklitaxelem byly příznaky hlášené ve spojení s podáním infuzí (obvykle po první infuzi přípravku) následující - hlavně horečka a/nebo třesavka, méně často nauzea, zvracení, bolest, ztuhlost, bolest hlavy, kašel, závratě, vyrážka, astenie, dušnost, zřídka hypotenze, hypertenze, bronchospasmus, tachykardie, dechová tíseň, angioedém; alergické a hypersenzitivní reakce. Některé z těchto reakcí mohou být závažné. Dalšími častějšími nežádoucími účinky byly bolesti břicha, astenie, bolest na hrudi, třesavka, horečka, bolest hlavy, nespecifikovaná bolest; průjem, nauzea, zvracení; artralgie, myalgie, vyrážka, vypádivání vlasů. Byly zaznamenány izolované případy závažných plicních příhod, které v několika případech vedly k úmrtí pacienta. Tyto příhody mohou být součástí reakcí spojených s podáním infuze nebo k jejich výskytu může dojít později po podání přípravku. U nemocných léčených přípravkem Herceptin byly zaznamenány některé projevy srdeční toxicity jako snížení ejekční frakce a příznaky srdečního selhání, např. dušnost, ortopnoe, zvýšený kašel, plicní edém a třetí srdeční ozva. **Dávkování a způsob podání:** Herceptin 150 mg. Třítydenní režim - Doporučená úvodní nasycovací dávka je 8 mg/kg tělesné hmotnosti. Doporučená udržovací dávka je 6 mg/kg tělesné hmotnosti v intervalu 3 týdny, zahajuje se tři týdny po podání počáteční nasycovací dávky. Týdenní režim - Doporučená úvodní nasycovací dávka je 4 mg/kg tělesné hmotnosti. Doporučená udržovací dávka je 2 mg/kg tělesné hmotnosti 1x za týden, zahajuje se jeden týden po podání počáteční nasycovací dávky. Herceptin 600mg/5ml. Doporučená dávka přípravku Herceptin pro subkutánní podání je 600 mg bez ohledu na tělesnou hmotnost pacienta. Nemí nutná úvodní nasycovací dávka. Tato dávka se musí podat podkožně po dobu 2-5 minut každé 3 týdny. **Dostupná balení přípravku:** Herceptin 150 mg, prášek pro koncentrát pro přípravu infuzního roztoku v injekční lahvičce. Herceptin 600 mg/5 ml injekční roztok. Injekční lahvička obsahuje 5 ml roztoku (600 mg trastuzumabu). Jedna krabička obsahuje jednu injekční lahvičku. **Podmínky uchovávání:** Při teplotě 2 °C až 8 °C. **Datum poslední revize textu:** 27. 7. 2019. **Výdej léčivého přípravku je vázán na lékařský předpis. Léčivý přípravek je hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění.** Další informace o přípravku získáte z platného Souhrnu údajů o přípravku Herceptin nebo na adrese: Roche s.r.o., Futurama Business Park Bld F, Sokolovská 685/136f, 186 00 Praha 8, telefon 220 382 111.

**Těhotenství:** Pokud pacientka otěhotní během léčby přípravkem Herceptin nebo během 7 měsíců po podání poslední dávky, nahlaste prosím okamžitě těhotenství na kontakt Roche pro hlášení nežádoucích účinků [czech\\_public.pa\\_susar@roche.com](mailto:czech_public.pa_susar@roche.com) či na 602 298 181. V průběhu těhotenství, při kterém byl podstaven účinek Herceptinu a během prvního roku života kojence, budete požádáni o poskytnutí doplňujících informací. To umožní společnosti Roche lépe porozumět bezpečnostnímu profilu přípravku a poskytnout příslušné informace regulačním autoritám (SUKL), zdravotnickým pracovníkům a dalším pacientům. • Podrobné informace o tomto přípravku jsou uveřejněny na webových stránkách Evropské lékové agentury (EMA) [www.ema.europa.eu](http://www.ema.europa.eu/).

MC-Z-00000685



**pokročilý maligní melanom** – v monoterapii včetně adjuvantní léčby nebo jako součást kombinované léčby<sup>1,2,3,4</sup>



**pokročilý/metastazující NSCLC**  
– po předchozí chemoterapii<sup>4,5,6</sup>



**pokročilý renální karcinom** – v monoterapii nebo jako součást kombinované léčby<sup>4,7,8</sup>



**recidivující/rezistentní Hodgkinův lymfom**  
– po přechodí léčbě (ASCT a brentuximab vedotin)<sup>4,9</sup>



**rekurentní/metastazující SCCHN** – progredující při nebo po léčbě platinovými deriváty<sup>4,10</sup>



**pokročilý/metastazující uroteliální karcinom**  
– po selhání léčby platinovými deriváty<sup>4,11,12</sup>



### ZKRÁCENÁ INFORMACE O PŘÍPRAVKU

**Název přípravku:** OPDIVO 10 mg/ml koncentrát pro infuzní roztok. **Kvalitativní a kvantitativní složení:** Nivolumabum 10 mg v 1 ml koncentrátu. **Indikace:** **Melanom:** v monoterapii/kombinaci s ipilimumabem u pokročilého (neresekovatelného nebo metastatického) melanomu u dospělých. **Adjuvantní léčba melanomu:** monoterapie k adjuvantní léčbě dospělých s melanomem s postižením lymfatických uzlin nebo metastázami po kompletní resekci. **Nemalobuněčný karcinom plic (NSCLC):** monoterapie lokálně pokročilého nebo metastatického NSCLC po předchozí chemoterapii u dospělých. **Renální karcinom (RCC):** monoterapie pokročilého RCC po předchozí terapii u dospělých; 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 progredujícího při nebo po léčbě platinovými deriváty u dospělých. **Uroteliální karcinom (UC):** monoterapie lokálně pokročilého neresekovatelného nebo metastazujícího UC u dospělých po selhání léčby platinovými deriváty. **Dávkování\*:** **Monoterapie:** 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). **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 (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:** 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 (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. 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. **Způsob podání:** Pouze jako i.v. infuze. **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na léčivou látku nebo na kteroukoli pomocnou látku. **Zvláštní upozornění:** Nivolumab je spojen s imunitně podmíněnými nežádoucími účinky. Pacienti mají být průběžně sledováni (min. do 5 měsíců po poslední dávce). Podle závažnosti NU se nivolumab vysadí a podají se kortikosteroidy. Po zlepšení se musí dávka kortikosteroidů snižovat postupně po dobu min. 1 měsíce. V případě závažných, opakujících se nebo jakýchkoli život ohrožujících imunitně podmíněných NU musí být nivolumab trvale vysazen. U pacientů s výchozím ECOG  $\geq 2$ , s aktivními mozgovými metastázami, očním melanomem, autoimunitním onemocněním, symptomatickým intersticiálním plicním onemocněním a u pacientů, kteří již užívali systémová imunosupresiva, je třeba přípravek používat jen s opatrností. **Interakce:** Nivolumab je humánní monoklonální protilátka, a nepředpokládá se, že inhibice nebo indukce enzymů cytochromu P450 (CYP) nebo jiných enzymů metabolizujících léky současně podávanými přípravky bude mít dopad na jeho farmakokinetiku. Vzhledem k potenciální interferenci systémových kortikosteroidů nebo jiných imunosupresiv s farmakodynamikou nivolumabu je třeba se jejich podávání na počátku, před zahájením léčby, vyhnout. Lze je nicméně použít k léčbě imunitně podmíněných nežádoucích účinků. **Těhotenství a kojení:** Nivolumab se nedoporučuje během těhotenství a 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. **Balení:** 4 ml nebo 10 ml koncentrátu v 10ml injekční lahvičce s uzávěrem a tmavě modrým, resp. šedým odtrhovacím víčkem; 24 ml koncentrátu ve 24ml injekční lahvičce s uzávěrem a červeným odtrhovacím víčkem. **Velikost balení:** 1 injekční lahvička. **Držitel rozhodnutí o registraci:** Bristol-Myers Squibb Pharma EIG, Dublin, Irsko. **Registrační číslo:** EU/1/15/1014/001-003. **Datum první registrace:** 19. 6. 2015. **Datum poslední revize textu:** červenec 2020.

Výdej léčivého přípravku je vázán na lékařský předpis. Přípravek je hrazen z veřejného zdravotního pojištění v těchto indikacích: pokročilý maligní melanom v monoterapii i kombinaci s ipilimumabem, pokročilý renální karcinom v monoterapii i kombinaci s ipilimumabem, nemalobuněčný karcinom plic, klasický Hodgkinův lymfom a skvamózní karcinom hlavy a krku. Podrobné informace o tomto přípravku jsou dostupné na adrese zástupce držitele rozhodnutí o registraci v ČR: Bristol-Myers Squibb spol. s r.o., Budějovická 778/3, 140 00 Praha 4, [www.b-ms.cz](http://www.b-ms.cz). Před předepsáním se seznamte s úplnou informací o přípravku.

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

1. Weber JS, et al. *Lancet Oncol* 2015;16:375-84. 2. Robert C, et al. *N Engl J Med* 2015;372:320-30. 3. Weber J, et al. *N Engl J Med* 2017;377:1824-1835. 4. Opdivo® (nivolumab), Souhrn údajů o přípravku, 2020. 5. Brahmer J, et al. *N Engl J Med* 2015 Jul 9;373(2):123-35. 6. Borghaei H, et al. *N Engl J Med* 2015;373(17):1627-39. 7. Motzer RJ, et al. *N Engl J Med* 2015;373:1803-1813. 8. Motzer RJ, et al. *N Engl J Med* 2018; 378:1277-1290. 9. Armand P, et al. *Journal of Clinical Oncology* 2018;36:1428-1439. 10. Ferris RL, et al. *Oral Oncology* 2018 (81):45-51. 11. Sharma P, et al. *Lancet Oncol* 2017; 18:312-22. 12. Bedke J, et al. Oral presentation at German Society for Hematology and Medical Oncology (DGHO) Annual Meeting 2017.